



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

***Tissue inhibitor of metalloproteinases-2 (TIMP-2) e
Insulin-like growth factor-binding protein 7 (IGFBP7):
Biomarcadores precoces de disfunción renal aguda en el
paciente crítico séptico***

Tesis para la obtención de grado de doctora realizada por Mireia Cuartero Sala.

Directores

Dr. Antoni Jordi Betbesé Roig y Dr. Jordi Ordóñez Llanos

Tutora

Dra. Mercedes Gurgui Ferrer

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA

Departamento de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona. 2016

On ne voit bien qu'avec le coeur. L'essentiel est invisible pour les yeux.

Le petit prince.
Antoine de Saint-Exupéry

EL TEMPS

*No més incerta de tan vehement
la sorpresa amb què aculls la llum que esclata
rera el mirall opac i els cortinatges
angoixants i feixucs d'aquest llarg temps de prova.*

*És així com la vida expressa el seu
misteri i en referma la bellesa.
L'entreteixit del temps no mostra cap
fissura, flueix sempre, ineluctable.*

Tot és perfecte i just dins el seu àmbit.

Llibre d'absències.
Miquel Martí i Pol

AGRADECIMIENTOS

En un petit acte d'irreverència, trobareu aquest apartat d'agraïments escrit en idiomes diferents al castellà. Paraules escrites tal i com les sento, i dirigides a cada un de vosaltres.

En primer lloc, voldria agrair a la meva **família** i **amics** l'afecte i suport incondicional rebut a cada pas. Aquest treball és un capítol de la nostra història, i em sento afortunada d'haver-ne compartit amb vosaltres les alegries i maldecaps.

Les següents paraules les dirigeixo als meus mentors, el **Dr. Antoni Betbesé** i el **Dr. Jordi Ordóñez**. Des que fa gairebé deu anys vaig arribar a St. Pau, el Dr. Betbesé ha sigut el meu model d'intensivista a seguir. Toni, exemplifiques l'equilibri, d'altra banda tan difícil, entre una exitosa carrera professional i personal. Gràcies per permetre'm treballar al teu costat. Dear Jordi, voldria destacar la teva generositat i la passió que mantens per ensenyar. Many thanks for so many cups of tea and chats on Skype.

Voldria agrair **als meus companys de l'Hospital de St Pau** el suport i la col·laboració que han permès la realització d'aquest treball. Un equip multidisciplinari d'infermers/es, metges/ses, auxiliars i tècnics de laboratori entre d'altres que s'estén des del Servei de Medicina Intensiva fins al Departament de Bioquímica. Gràcies a la vostra il·lusió i ajuda desinteressada hem superat els entrebancs que han sorgit al llarg del camí i hem dut a terme aquest projecte.

Difícilment podria oblidar les circumstàncies personals i professionals amb les que he hagut de compaginar els estudis de doctorat. Voldria agrair al **Dr. Jordi Mancebo** que m'encoratgés a abandonar la meua zona de confort i a

descobrir novas fronteiras. Along my way I have met utterly inspiring people. I would like to acknowledge **Dr. Margaret Herridge's** and **Dr. Eddy Fan's** insightful guidance and support. I would also like to express my sincere gratitude to all staff members at **UHN & Mount Sinai Hospital** (Toronto) and **St Mary's Hospital** (Imperial College, London) for their kindness and encouragement. Last but not the least, my sincere thanks also goes to my **British and Canadian friends**; without your precious support it wouldn't have been possible to conduct this project.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	5
ÍNDICE DE TABLAS	7
LISTADO DE ABREVIATURAS	9
1. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	11
2. INTRODUCCIÓN	13
2.1. LA DISFUNCIÓN RENAL AGUDA	13
2.1.1. FISIOPATOLOGÍA DE LA DISFUNCIÓN RENAL AGUDA	13
2.1.2. IDENTIFICACIÓN DE LA DISFUNCIÓN RENAL	17
• FÓRMULA COCKCROFT-GAULT	20
• MDRD	21
• CKD-EPI	21
2.1.3. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIONES DE LA DISFUNCIÓN RENAL AGUDA	22
2.1.4. CLASIFICACIÓN FISIOPATOLÓGICA DE LA DISFUNCIÓN RENAL AGUDA	22
2.1.5. CLASIFICACIÓN ETIOLÓGICA DE LA DISFUNCIÓN RENAL AGUDA	24
2.1.6. DIAGNÓSTICO FUNCIONAL DE LA DISFUNCIÓN RENAL AGUDA	27
• CLASIFICACIÓN RIFLE	27

•CLASIFICACIÓN AKIN	28
•CLASIFICACIÓN KDIGO	30
2.2. DISFUNCIÓN RENAL AGUDA EN CONCURRENCIA CON SEPSIS	32
2.2.1. DEFINICIÓN Y FISIOPATOLOGÍA DE LA SEPSIS	32
2.2.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA DISFUNCIÓN RENAL AGUDA EN CONTEXTO DE SEPSIS	37
2.3. BIOMARCADORES DE DISFUNCIÓN RENAL AGUDA	39
2.3.1. CARACTERÍSTICAS DE UN BIOMARCADOR	39
2.3.2. BIOMARCADORES CLÁSICOS DE DISFUNCIÓN RENAL AGUDA	41
• PRODUCTOS NITROGENADOS: CREATININA Y UREA EN PLASMA	42
• ÍNDICES URINARIOS	44
2.3.3. NUEVOS BIOMARCADORES DE DISFUNCIÓN RENAL AGUDA	45
• CISTATINA C	49
• N-ACETIL-B-D-GLUCOSAMINIDASA (NAG)	50
• KIDNEY INJURY MOLECULE-1 (KIM-1)	51
• NEUTROPHIL GELATINASE-ASSOCIATED LIPOCALIN (NGAL)	51
• TISSUE INHIBITOR OF METALLOPROTEINASES-2 (TIMP-2) E INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-BINDING PROTEIN 7 (IGFBP7)	54
3. HIPÓTESIS	59
4. MATERIAL Y MÉTODOS	60
4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO	60
4.2. PROTOCOLO DEL ESTUDIO	61
4.2.1. RECOGIDA DE DATOS DEMOGRÁFICOS Y CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS	61
4.2.2. VARIABLES FISIOLÓGICAS Y ANÁLISIS BIOQUÍMICO	64

4.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	68
5. RESULTADOS	71
5.1. RECLUTAMIENTO DEL ESTUDIO	71
5.2. INCIDENCIA DE DISFUNCIÓN RENAL AGUDA Y SEPSIS	75
5.3. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN	76
5.3.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y ANTECEDENTES PATOLÓGICOS	76
5.3.2. VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS EN UCI	78
5.4. VARIABLES CLÍNICAS DE GRAVEDAD Y EVENTOS ADVERSOS	80
5.5. FUNCIÓN RENAL PREVIA Y DURANTE EL INGRESO, Y SUS BIOMARCADORES	81
5.5.1. CARACTERÍSTICAS PREVIAS AL INGRESO	81
5.5.2. BIOMARCADORES RENALES EN DISFUNCIÓN RENAL AGUDA Y SEPSIS	82
5.6. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD PREDICTIVA DE DISFUNCIÓN RENAL AGUDA MEDIANTE BIOMARCADORES	90
5.6.1. ESTUDIO UNIVARIANTE	90
5.6.2. ESTUDIO MULTIVARIANTE	92
5.6.3. ESTUDIO MEDIANTE CURVA ROC	95
6. DISCUSIÓN	101
6.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	101
6.2. DISFUNCIÓN RENAL AGUDA	103
6.3. BIOMARCADORES DE DISFUNCIÓN RENAL AGUDA: CREATININA PLASMÁTICA Y TIMP-2 E IGFBP7	105
6.3.1. INDEPENDENCIA DE TIMP-2 E IGFBP7 DE LA SEPSIS	106
6.3.2. CAPACIDAD PREDICTIVA DE DISFUNCIÓN RENAL AGUDA DEL ÍNDICE [TIMP-2]-[IGFBP7] Y SUS LÍMITES DE DECISIÓN	107
6.4. PRINCIPALES HALLAZGOS CLÍNICOS DE INTERÉS	108

6.5. LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO	109
7. CONCLUSIONES	111
8. BIBLIOGRAFÍA	112
9. ANEXOS	123
9.1. DICTAMEN FAVORABLE DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA	123
9.2. HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE	125
9.3. CONSENTIMIENTO INFORMADO	126

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Presiones hidrostáticas y coloidales a varios niveles de la vasculatura renal
Figura 2	Autorregulación del FG y relación con la caída de la PAM
Figura 3	Aclaramiento renal y DRA aguda o reagudizada
Figura 4	Relación entre las fases clínicas y celulares de la disfunción renal aguda isquémica, y su impacto temporal en la función renal representada por la tasa de filtrado glomerular
Figura 5	Clasificación RIFLE
Figura 6	Clasificación AKIN
Figura 7	Clasificación KDIGO
Figura 8	Respuesta inflamatoria a la sepsis
Figura 9	Esquema resumen de los mecanismos implicados en el desarrollo de DRA en contexto de sepsis
Figura 10	Esquema resumen del <i>continuum</i> de DRA y las posibles dianas para el uso de biomarcadores
Figura 11	Metabolismo de la creatina y creatinina
Figura 12	Integración de la ciencia ómica en la investigación médica translacional
Figura 13	Principales biomarcadores estructurales de disfunción renal
Figura 14	Esquema de la cinética de NGAL en plasma, KIM-1, cistatina C y creatinina plasmática en un modelo de DRA en cirugía cardíaca
Figura 15	Rol de TIMP-2 e IGFBP7 en la disfunción renal aguda
Figura 16	Hoja de recogida de datos

Figura 17	Dispositivo Nephrocheck® Test
Figura 18	Representación gráfica de las características analíticas de Nephrocheck® Test
Figura 19	Diagrama de flujo de reclutamiento del estudio
Figura 20	Histograma representación del tiempo transcurrido entre la primera y segunda muestra urinaria en el total de pacientes del estudio, así como en los subgrupos de pacientes con y sin disfunción renal aguda (DRA) y con o sin sepsis
Figura 21	Valores del índice [TIMP2]·[IGFBP7] en función de la presencia de disfunción renal aguda (A) y sepsis (B)
Figura 22	Valor más elevado del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] en las 12 horas posteriores al ingreso y concentración plasmática de creatinina al ingreso con el grado más grave de DRA definido por la clasificación AKIN
Figura 23	Valor más elevado del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] en las 12 horas posteriores al ingreso y concentración plasmática de creatinina al ingreso con el grado más grave de DRA definido por la clasificación RIFLE
Figura 24	Curva ROC del índice [TIMP2]·[IGFBP7] para la predicción de DRA (izquierda) y DRA AKIN ≥ 2 (derecha) en las primeras 12 horas de ingreso

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Flujo sanguíneo y consumo de oxígeno por órganos
Tabla 2	Clasificación etiológica de la disfunción renal aguda
Tabla 3	Factores que contribuyen a la aparición de DRA en UCI
Tabla 4	Criterios diagnósticos clásicos de respuesta inflamatoria sistémica, sepsis, sepsis grave y shock séptico
Tabla 5	Índices urinarios para la diferenciación de la DRA prerrenal y renal
Tabla 6	Incidencia de DRA definida por las clasificaciones AKIN y RIFLE
Tabla 7	Variables demográficas y antecedentes patológicos
Tabla 8	Causa de ingreso y características en UCI
Tabla 9	Variables clínicas de gravedad y eventos adversos
Tabla 10	Función renal previa y durante el ingreso, y sus biomarcadores
Tabla 11	Distribución del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] más elevado dependiendo de la presencia de DRA y sepsis en las primeras 12 horas de ingreso en la UCI
Tabla 12	Características de la cohorte en función de los límites de decisión clínicos del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] aportados por el fabricante
Tabla 13	Modelos de regresión logística y odds ratio para la predicción de disfunción renal aguda y AKIN ≥ 2
Tabla 14	Características de la cohorte en función de los distintos límites de decisión clínica del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] descritos por el fabricante o hallados en el estudio

Tabla 15	Valores predictivos positivos y valores predictivos negativos de los límites de decisión aportados por el fabricante y los descritos en la cohorte del estudio para el diagnóstico de disfunción renal aguda, AKIN \geq 2 y requerimiento de técnicas de reemplazo renal
----------	--

LISTADO DE ABREVIATURAS

Se conserva la nomenclatura anglosajona de algunas abreviaturas por ser de uso frecuente en la práctica clínica.

APACHE	<i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation</i>
AUC	Área bajo la curva de la ROC
BM	Biomarcador/es
CKD-EPI	<i>Chronic Kidney Disease – Epidemiology Collaboration</i>
CyC	Cistatina C
DAMP	<i>Damage-Associated Molecular Pattern</i> o patrones moleculares de daño celular
DRA	Disfunción Renal Aguda
DU	Débito Urinario
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> o ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
ERC	Enfermedad Renal Crónica
FG	Filtrado Glomerular
GFR (eGFR)	<i>Glomerular Filtration Rate</i> o tasa de filtrado glomerular
HSCSP	Hospital de la Santa Creu i Sant Pau
H-FABP	<i>Heart fatty acid-binding protein</i> o proteína cardiaca de unión de ácidos grasos
HUB	Hospital Universitari de Bellvitge
IGFBP7	<i>Insulin-Like Growth Factor-Binding protein 7</i> o proteína de unión del factor semejante a la insulina 7
IL	Interleucina

iNOS	<i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i> u óxido nítrico sintasa inducible
KIM-1	<i>Kidney injury molecule-1</i> o molécula-1 de lesión renal
L-FABP	<i>Liver Fatty Acid-Binding Protein</i> o proteína hepática de unión de ácidos grasos
LPS	Lipopolisacárido
MDRD	Ecuación de estimación de FG por la fórmula <i>Modification of Diet in Renal Disease</i>
NAG	N-acetil-β-D-glucosaminidasa
NF-κB	<i>Nuclear factor κB</i> o Factor nuclear κB
NGAL	<i>Neutrophil-Gelatinase Associated Lipocalin</i> o lipocalina asociada a neutrófilos
NO	Óxido Nítrico
PAMPs	<i>Pathogen Associated Molecular Pattern</i> o patrones moleculares asociados al patógeno
PaO ₂ /FiO ₂	Razón entre la presión arterial de oxígeno y la fracción inspirada de oxígeno
PCR	Proteína C Reactiva
RBF	<i>Renal Blood flow</i> o flujo sanguíneo renal
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic Curve</i>
SAPS II	<i>Simplified Acute Physiology Score II</i>
SDRA	Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo
SOFA	<i>Sequential Organ Failure Assessment</i>
TIMP-2	<i>Urinary Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-2</i> o Inhibidor tisular de metaloproteinasa-2 en orina
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor-α</i> o Factor de necrosis tumoral-α
TP	<i>Time point</i> o momento de valoración
TRR	Técnicas de reemplazo renal
UCI	Unidad de cuidados intensivos
UF	Ultrafiltrado
VPN y VPP	Valor predictivo negativo y valor predictivo positivo

1. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La disfunción renal aguda (DRA) y la sepsis tienen una alta prevalencia en las unidades de cuidados intensivos (1). La incidencia de DRA en la sepsis y el shock séptico en UCI es superior al 30% (2)(3) y al 50% (4)(5)(6) respectivamente. La mortalidad asociada puede alcanzar el 50-60% según las series (7)(8). Por todo ello, la DRA es de especial relevancia para el manejo del paciente crítico.

A día de hoy, el *gold standard* para el diagnóstico de la DRA se fundamenta en la determinación de los valores plasmáticos de creatinina (sCr) y el débito urinario tal y como se ha descrito en las clasificaciones RIFLE (8), AKIN (9) y KDIGO (10). Sin embargo, en el caso de la creatinina, biomarcador de función renal y no de lesión renal, existen muchos factores que modifican su concentración en plasma con independencia de la presencia de DRA. Además el aumento de sus concentraciones exige de la pérdida de más del 50% de la función renal. En el caso de la diuresis, factores como el estado de hidratación, el uso de diuréticos pueden influir en su valor real.

La falta de precocidad de la creatinina y el hecho que sea un biomarcador de función, más que de lesión renal, han hecho que se hayan investigado diversos biomarcadores precoces de lesión renal. Los últimos biomarcadores descritos que parecen cumplir estos criterios son el *Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-2* (TIMP-2) y el *Insulin-like Growth Factor-Binding Protein 7* (IGFBP7). Ambos biomarcadores son inductores del arresto celular en fase G₁, y están implicados en procesos de apoptosis y angiogénesis (11). Estos biomarcadores pueden analizarse mediante inmunoensayo. Si bien en algunos estudios iniciados se sugiere su uso en los pacientes críticos para detectar daño renal, su perfil clínico no está completamente descrito. Otros biomarcadores recientes y prometedores

de DRA como el NGAL aportan resultados cuanto menos dudosos en la población de pacientes sépticos (12). Igualmente aún no se ha analizado el rendimiento en cuanto a su capacidad diagnóstica de DRA de TIMP-2 e IGFBP7 en esta subpoblación de pacientes críticos.

Los objetivos de la presente tesis doctoral son:

- 1) Demostrar que TIMP-2 e IGFBP7 predicen la aparición de DRA en el paciente crítico.
- 2) Evaluar si dicha capacidad predictiva se ve modificada en el subgrupo de pacientes sépticos.
- 3) Evaluar si una segunda determinación durante las primeras 12 horas de ingreso en UCI mejora su capacidad predictiva.
- 4) Evaluar su relación con la mortalidad, los días de estancia o la necesidad de TRR.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. LA DISFUNCIÓN RENAL AGUDA

2.1.1. FISIOPATOLOGÍA DE LA DISFUNCIÓN RENAL AGUDA

La función renal agrupa el efecto en el organismo de ambos riñones. Su disfunción global o parcial es parte esencial de muchas enfermedades. En un primer paso para entender las repercusiones de la DRA citaremos las principales funciones renales:

- Homeóstasis del medio interno. Este apartado incluye el balance de volumen de fluidos, su composición, tonicidad y distribución en todos los compartimentos del organismo. En este sentido, los riñones tienen un rol relevante en el control de la presión arterial sistémica.
- Excreción de residuos hidrosolubles. Si bien los pulmones, la piel e intestinos participan en la excreción de solutos y agua, en su mayor parte esta función recae en el sistema renal.
- Función endocrina. Mediante la producción de hormonas como: la eritropoyetina, que controla la producción de hematíes en la médula ósea; la renina, que participan en el control de la presión arterial sistémica; y el calcitriol, regulando la concentración plasmática de calcio; y la vitamina D, indispensable para la mineralización normal de los huesos.

La cuantificación del débito urinario (DU) es una forma intuitiva y sencilla para monitorizar la función renal, y uno de los parámetros clásicos descritos por Galeno (13). El volumen de diuresis es el resultado del ultrafiltrado del plasma a nivel del glomérulo renal (filtrado glomerular o FG). Los riñones reciben alrededor

del 25% del gasto cardiaco, y consumen más oxígeno por gramo que el resto de vísceras (**Tabla 1**), razón por la cuál se ven rápidamente afectados en situaciones de hipoxemia.

Tabla 1. Flujo sanguíneo y consumo de oxígeno por órganos

Órgano	Flujo sanguíneo		Consumo de oxígeno (mL/100g/min)
	% Gasto cardiaco	mL/min	
Hígado	30%	1500	4
Riñones	25%	1200-1250	6
Músculo esquelético	20%	1000	Variable
Cerebro	15%	750	3,5
Corazón	4%	200	8
Resto	6%	300	Variable
Total	100%	5000	

Más del 90% del flujo renal se dirige al córtex renal y atraviesa los glomérulos. La tasa de ultrafiltración sigue la ecuación de Starling, y es el resultado de la presión hidrostática en los capilares glomerulares frente a la suma de la presión hidrostática en el espacio de Bowman y la presión oncótica en los capilares glomerulares. La presión en los capilares glomerulares (alrededor de los 45mmHg) es menor a la mitad del valor de presión arterial sistémica. Aún y así, es considerablemente superior a la presión hidrostática de los capilares sanguíneos periféricos (aproximadamente 24 mmHg). Otro determinante del FG total es la superficie total de los capilares glomerulares (**Figura 1**) (14).

Teniendo en cuenta la dependencia de la perfusión renal de la presión arterial sistémica, los riñones autorregulan el flujo sanguíneo renal dentro de unos límites de presión arterial media (PAM) que permite el mantenimiento del FG (15).

Aunque estos límites en PAM se describen entre los 80 y 200 mmHg, suelen ser más elevados en pacientes hipertensos, y más bajos en individuos jóvenes, mujeres y especialmente embarazadas. Esta autorregulación es resultado del llamado reflejo miogénico, contracción de la arteriola aferente dependiente del calcio citosólico (16)(17).

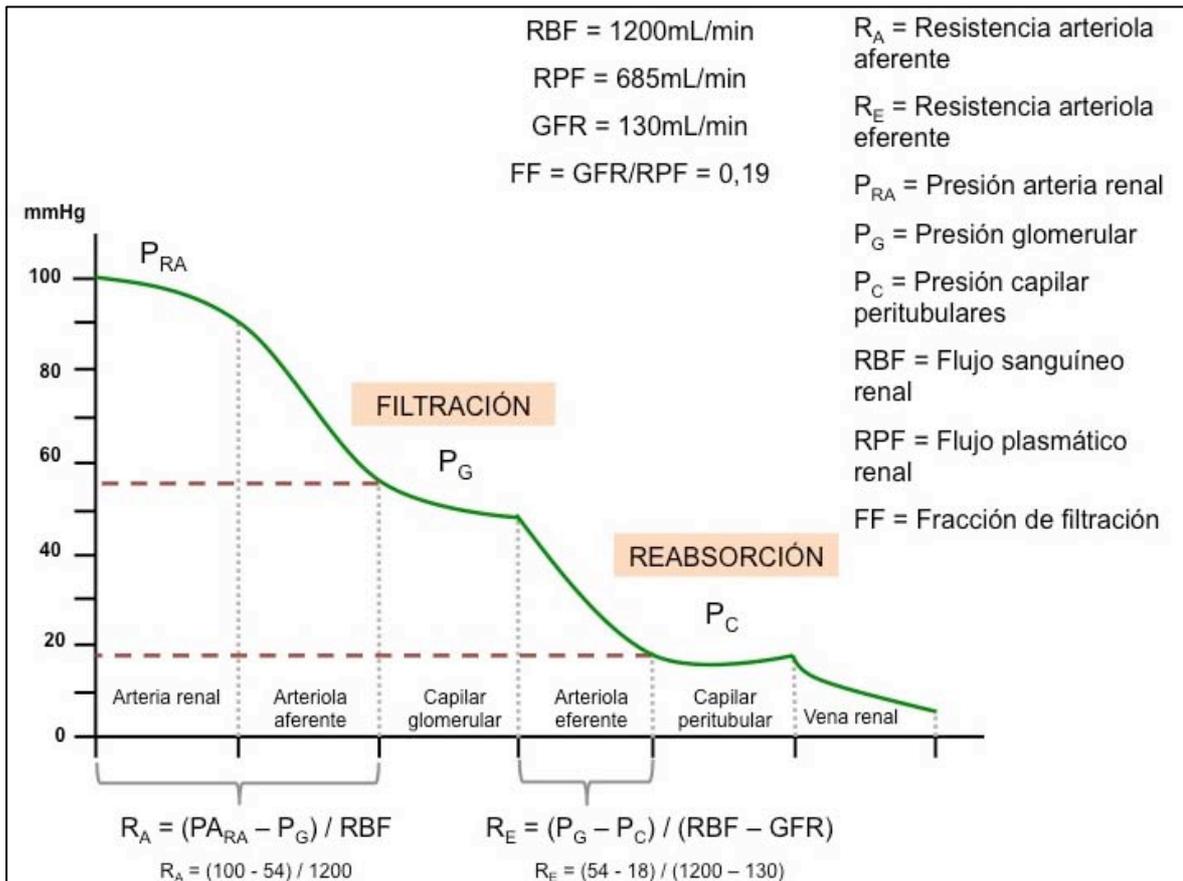


Figura 1. Presiones hidrostáticas y coloidales a varios niveles de la vasculatura renal. Adaptado de: Sullivan & Grantham. Physiology of the Kidney (14).

La autorregulación de la filtración glomerular en cambio depende tanto de la vasodilatación de la arteriola aferente como de la vasoconstricción de la arteriola eferente, para así mantener una presión glomerular constante. La vasoconstricción de la arteriola eferente está mediada por angiotensina II, quien a su vez produce una elevación en la presión coloidosmótica del capilar glomerular

y mantiene el FG. La producción de angiotensina II está mediada por prostaglandinas y óxido nítrico (18). Cuando las concentraciones de angiotensina II son suficientemente elevadas no sólo a nivel local sino también a nivel sistémico, también puede producirse una vasoconstricción de la arteriola aferente, probablemente a través del reflejo miogénico.

Estos mecanismos de autorregulación del FG cobran especial relevancia en situaciones donde la perfusión renal es baja, como en casos de estenosis de la arterial renal (19), insuficiencia cardíaca congestiva (20) y cualquier causa de shock. Cuando la capacidad de autorregulación se pierde, el FG cae a pesar de encontrarse en un rango de PAM normal (**Figura 2**) (21).

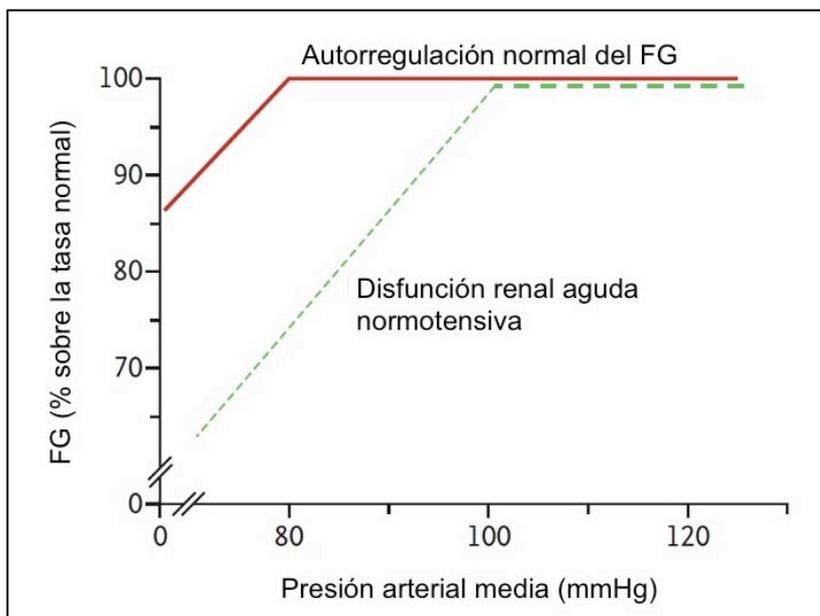


Figura 2. Autorregulación del FG y relación con la caída de la PAM. De: JG Abuelo. NEJM 2006 (21).

2.1.2. IDENTIFICACIÓN DE LA DISFUNCIÓN RENAL

Durante años, la valoración global de la función renal se ha basado en la determinación del aclaramiento renal de diversas sustancias. Para ello, es fundamental conocer la tasa de FG de dichas sustancias. El Dr. H. Smith (22) describió el aclaramiento renal con la fórmula siguiente:

$$Cl_x = [U]_x \cdot V/P_x$$

Donde: Cl_x es el aclaramiento renal para la sustancia X, $[U]_x$ es la concentración urinaria de X, V es el volumen urinario recogido durante un intervalo de tiempo, y P_x es la concentración plasmática de X.

Bajo este concepto, la primera molécula utilizada para calcular el aclaramiento renal fue la inulina. La inulina es una molécula de 5,2 KDa que se filtra libremente a través de los capilares glomerulares sin presentar ulterior reabsorción o secreción. Así, es equivalente al FG. Aunque es el *gold standard* para el cálculo del FG (22), es un método que en la práctica habitual no es viable ya que aún y administrándose en infusión continua sigue presentando una alta variabilidad (23). Además, ni la inulina ni otras moléculas radiomarcadas correlacionan con la función renal global. En la práctica clínica habitual la medición del FG se realiza a partir de la determinación de moléculas endógenas, de las cuales la más utilizada es la creatinina. En ulteriores apartados se describirán las características de esta molécula como biomarcador *gold standard* para el diagnóstico de la DRA.

En condiciones normales, los riñones filtran aproximadamente 180 L de plasma en 24 horas. Este valor varía en función de la masa corporal y disminuye con la edad. En varones, el valor de referencia del aclaramiento plasmático es 130 mL/min/1,73m², mientras que en mujeres es de 120 mL/min/1,73m². Por cada década a partir de los 40 años, se estima un descenso de 10 mL/min/1,73m² en el aclaramiento renal. A pesar de la pérdida de masa renal, las nefronas funcionales residuales entran en un estado de hiperfiltración caracterizado por un aumento del flujo plasmático glomerular y de la presión hidrostática en el capilar glomerular,

además de hipertrofiarse, expandiendo así la superficie global disponible para la filtración. Estos mecanismos fisiopatológicos aumentan la tasa de FG, de tal manera que la función renal global se mantiene intacta o muy levemente alterada hasta que la pérdida de masa renal no es > 50% (24)(25). La **Figura 3** resume la relación entre el aclaramiento renal y la DRA aguda o reagudizada.

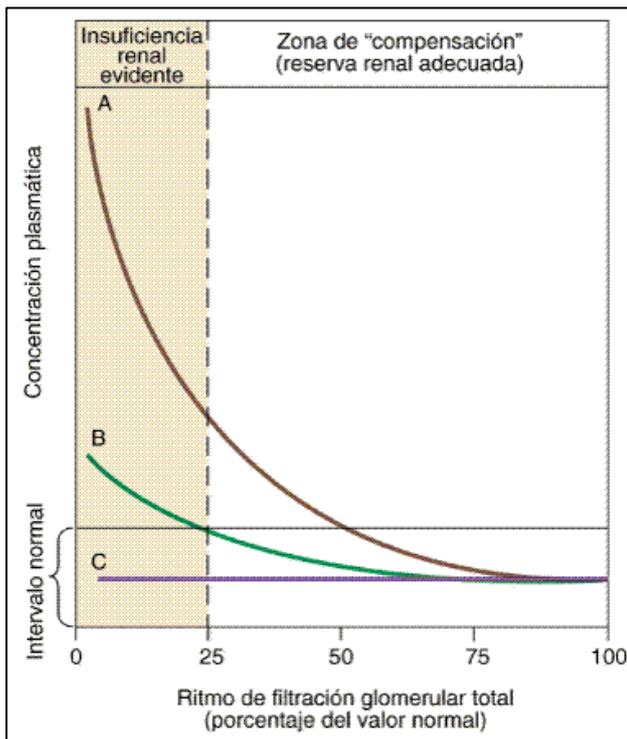


Figura 3. Aclaramiento renal y DRA aguda o reagudizada. De: *Brenner and Rector's The Kidney, 6th ed. Philadelphia, Saunders, 2000 (25).*

A: Disfunción renal aguda en individuo sano y masa renal conservada. Sustancias como la creatinina y la urea son altamente dependientes del FG para su excreción urinaria.

B: Enfermedad renal crónica. Los mecanismos compensatorios hacen que a medida que el FG se reduce haya una mayor cantidad de solutos excretados, o por un aumento de su secreción o por reducción de su reabsorción. Así, los valores plasmáticos de solutos en la curva B aumentan en mucho menor medida que en la curva A ya que la tasa de excreción por nefrona y, por tanto, la fracción de excreción, aumentan. Para algunos solutos como el urato, PO_4^{3-} y K^+ , el aumento de excreción acostumbra a ser suficiente para mantener unos niveles plasmáticos normales hasta que el FG no se reduce a < 25% del FG normal.

C: Solutos como NaCl mantienen su concentración plasmática a lo largo de todo el proceso de ERC/DRA, ya que la natriuresis aumenta a medida que el FG disminuye.

Como antes señalábamos, la monitorización de la diuresis (mL/kg/h) como subrogado del FG ha sido uno de los pilares fundamentales para la monitorización de la función renal. Tal es así que el DU forma parte de las definiciones de DRA RIFLE (8), AKIN (9) y KDIGO (10). A pesar de ello, el DU adolece de importantes limitaciones. En primer lugar, la oliguria no siempre acompaña la DRA, como sucede en casos de daño tubular con incapacidad para la concentración de orina. Cruz *et al* mostraban como la DRA diagnosticada en base a sCr era un factor de riesgo independiente en el desarrollo de DRA, mientras que el DU no lo era (26). Otros estudios como el de Wlodzimirow *et al* (27) añaden más incertidumbre. En él se evidenciaba que la incidencia de DRA es mayor cuando se usa el DU en vez de la sCr, si bien la mortalidad asociada a la DRA diagnosticada mediante la DU es menor que la asociada a incrementos de sCr. Además, su control exacto exige cateterización para poder cuantificar de forma precisa los mL/kg/h que se exigen en cualquiera de las clasificaciones de DRA.

La pobre sensibilidad y especificidad del DU como indicador de DRA también se debe a factores relacionados con los propios pacientes críticos:

- Cómo en el caso de otros pacientes hospitalizados, el paciente crítico puede estar expuesto a medicaciones como los diuréticos, que si bien pueden aumentar el DU, no tiene porque correlacionar dicho DU con una preservación o mejoría de la capacidad de aclaramiento renal.
- En el paciente crítico hay un aumento de la hormona antidiurética secundario a la respuesta inflamatoria sistémica, como la debida a infección, trauma, cirugía o la exposición a circulación extracorpórea.

En el caso de la valoración del FG en la ERC, se produce un desequilibrio del llamado balance glomérulo-tubular. Se caracteriza por la reducción progresiva en número de estas nefronas hiperfuncionantes. Nefronas que a su vez superan su capacidad compensadora, instaurándose proteinuria, glomérulo-esclerosis focal y segmentaria, y una pérdida progresiva de reserva de nefronas para la conservación de la función renal global. Este último mecanismo fisiopatológico explica que haya múltiples etiologías para el desarrollo final de ERC. También es

la razón por la que el tratamiento de la ERC va encaminado a controlar la progresión de esta respuesta adaptativa mediante medicación como los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina y bloqueantes del receptor de la angiotensina II, además de intervenciones como la restricción proteica para reducir la presión glomerular. Por otro lado, también contextualiza como individuos con función renal globalmente conservada presentan un marcado deterioro de la función renal cuando son expuestos a insultos de intensidad baja-moderada.

A fines prácticos, se han desarrollado varias fórmulas para la estimación del FG: las ecuaciones Cockcroft-Gault, MDRD (*Modificación of Diet in Renal Disease*) y CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease – Epidemiology Collaboration*).

- **Fórmula Cockcroft-Gault**

Publicada en 1976 (28), fue desarrollada a partir de la medición del aclaramiento de creatinina en una población de 236 individuos adultos hospitalizados de entre 18 y 92 años. Predominaban los hombres de raza caucásica (variable no tomada en cuenta). El aclaramiento de creatinina tenía un valor promedio de 72,2mL/min/1,73m². Las variables que tiene en cuenta son la variación en sCr, el peso, superficie corporal, edad y sexo. Se estima que las mujeres presentan de promedio un 15% menos de masa muscular, por lo que el aclaramiento sería un 15% menor que los varones. Así, la fórmula multiplica por el factor 0,85 la estimación cruda del FG.

Esta fórmula ha sido ampliamente usada en el ajuste de dosificación de fármacos. Una de las críticas de la fórmula es que los pacientes hospitalizados no son representativos de la población sana, y su masa muscular acostumbra a ser menor, con el consiguiente impacto en el valor estimado de tasa de FG.

- **MDRD**

Esta ecuación es el resultado de un estudio multicéntrico desarrollado en los Estados Unidos a principios de los 90 cuyo objetivo era evaluar el efecto de la restricción proteica en pacientes con ERC (29). Incluyeron 1.628 individuos adultos, con predominio de la raza caucásica. El FG medio estimado mediante ^{125}I -iotalamato era $40\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$. A diferencia de la ecuación Cockcroft-Gault, la raza se incluye como variable, dicotomizada como raza negra o no-negra, y asumiendo que la raza negra tiene mayor masa muscular. Al ser validada en otros grupos étnicos, resultó ser menos precisa para asiáticos.

Inicialmente la fórmula incluía seis variables (MRDR-6): concentración sérica de urea, de creatinina y albúmina, edad, sexo y etnia. Levey (30) desarrolló una ecuación abreviada (MDRD-4) solamente con creatinina, edad, sexo y raza.

MRDR es más precisa que Cockcroft-Gault en la estimación del FG, aunque ambas pueden igualmente usarse para calcular filtrados entre 15 y $60\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$. Sin embargo, ambas sobreestiman el aclaramiento de creatinina en DRA.

- **CKD-EPI**

Esta última ecuación fue desarrollada por el grupo de trabajo *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*. El estudio agrupó 8.254 pacientes de 10 estudios distintos, incluido el MDRD, y de los que se contaba con una medición directa del FG.

A diferencia de las dos ecuaciones anteriores, ésta incluía el estudio de individuos sin enfermedad renal además de un amplio rango de valores de FG, con lo que la precisión y exactitud fueron mayores, sobretodo para $\text{FG} > 60\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$. En cambio, en el meta-análisis de Matsushita (31), que incluía más de 1 millón de pacientes, CKD-EPI se mostraba menos precisa en la clasificación de individuos

con ERC. En comparación con MDRD, un 24,4% de los pacientes presentaban valores de FG más elevados con la ecuación CKD-EPI que con la MDRD.

En cualquiera de los casos, es importante remarcar que el uso de cualquiera de estas fórmulas no está indicado en pacientes con DRA.

2.1.3. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIONES DE LA DISFUNCIÓN RENAL AGUDA

Uno de los principales problemas del que adolece el concepto de DRA es la falta de precisión en su definición. Este hecho ha promovido la existencia de varias definiciones, más de 30 publicadas en la literatura hasta el 2004 (32). Éstas a su vez han complicado la descripción epidemiológica de la DRA y ulteriores estudios clínicos. En cualquier caso, la mayoría de expertos coinciden en definir la DRA como un *continuum* de cambios fisiopatológicos con potencial reversibilidad que se inician en una lesión tubular aguda y que pueden agravarse hasta la pérdida total de la capacidad de FG. En consecuencia, a grandes rasgos se produce una acumulación de productos derivados del metabolismo nitrogenado (como la creatinina y la urea) a veces acompañados de caída del débito urinario. Para facilitar su descripción, clasificaremos la DRA siguiendo 3 modelos: fisiopatológico, etiológico y funcional.

2.1.4. CLASIFICACIÓN FISIOPATOLÓGICA DE LA DISFUNCIÓN RENAL AGUDA

Sutton describió la DRA isquémica a nivel histológico, diferenciando 5 fases que conceptualmente pueden ser aplicadas en la descripción de este *continuum* de enfermedad con independencia de su etiología (**Figura 4**)(33).

La primera fase es la llamada *prerenal*. En el caso de la DRA isquémica se define por una reducción del flujo sanguíneo renal y en consecuencia del FG. Se producen varias adaptaciones celulares y vasculares como mecanismo compensatorio para intentar mantener la integridad de la célula epitelial renal. A

continuación, la fase de *iniciación* se caracteriza por la aparición de daño celular, sobretodo a nivel de la célula epitelial tubular renal. En consecuencia el FG sigue deteriorándose, la fase de *extensión* comprende procesos vasculares e inflamatorios que perpetúan y agravan la caída en el FG. En la fase de *mantenimiento* el deterioro del FG alcanza un nadir a partir del cual se inician procesos de reparación celular que tienen por objetivo la recuperación de la integridad funcional del órgano. La última etapa descrita es la *reparación*. Se caracteriza por una recuperación parcial clínicamente más o menos significativa del FG.

En comparación con la DRA de origen no isquémico, si bien dichas 5 fases pueden mantenerse, el desencadenante inicial será otro distinto a la hipoperfusión renal. La DRA será el resultado del daño directo a nivel del parénquima tubular o por obstrucción de las vías renales.

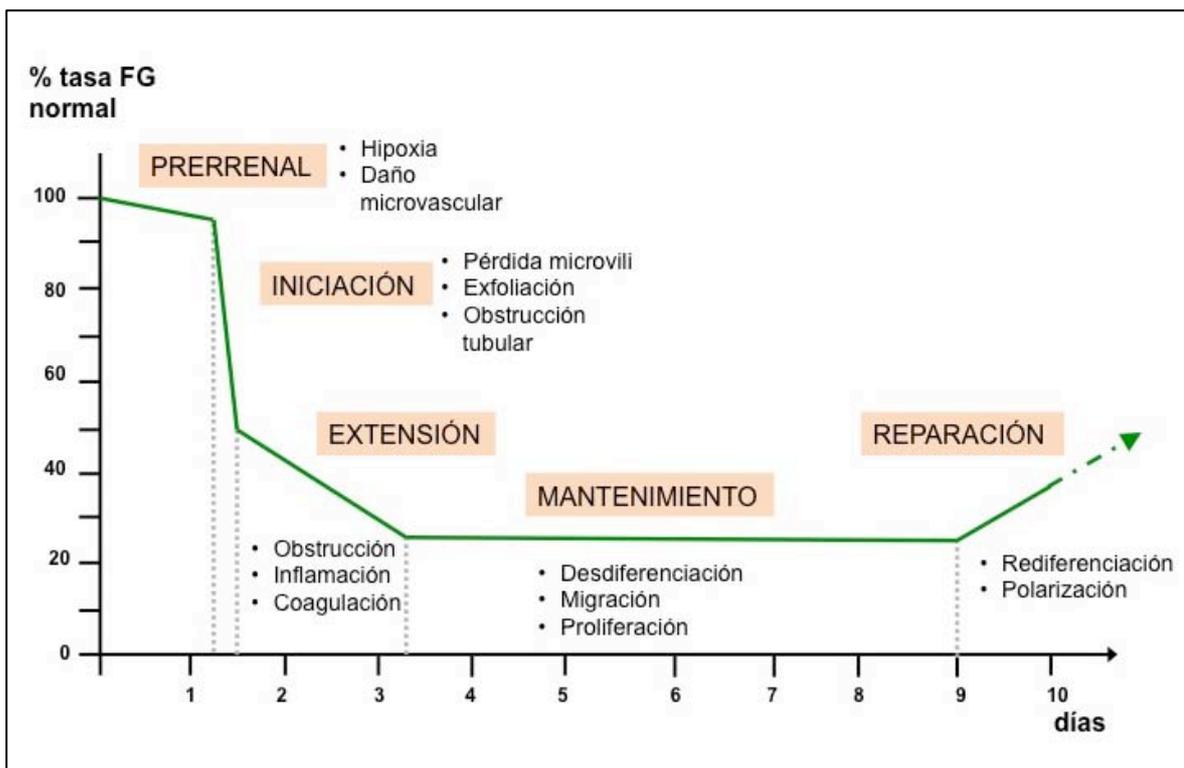


Figura 4. Relación entre las fases clínicas y celulares de la disfunción renal aguda isquémica, y su impacto temporal en la función renal representada por la tasa de filtrado glomerular (FG). De: Sutton T et al. *Kidney Int.* 2002 (33).

2.1.5. CLASIFICACIÓN ETIOLÓGICA DE LA DISFUNCIÓN RENAL AGUDA

La DRA se clasifica etiológicamente (**Tabla 2**) en: a) prerrenal, debida a trastornos por hipoperfusión, el estado basal del parénquima renal es normal e incide en un 55%. b) DRA renal, también llamada intrínseca, hallándose en alrededor de una 40% de los casos. Los nefrotóxicos, frecuentes en la farmacopea, y glomerulonefritis afectan la función renal a este nivel; c) DRA obstructiva (5%), secundaria a la obstrucción de las vías urinarias. Esta clasificación sigue vigente a día de hoy, siendo ampliamente usada por sus implicaciones diagnósticas así como posteriormente terapéuticas. Cómo se intuye, la etiología subyacente comportará distinto pronóstico y mortalidades asociadas.

Tabla 2. Clasificación etiológica de la disfunción renal aguda. Adaptado de: *Harrison's Principles of Internal Medicine 16th edition (34).*

DRA PRERRENAL

I. Hipovolemia

- A. Hemorragia, quemaduras, deshidratación
- B. Pérdida de líquido por el aparato digestivo: vómitos, drenaje quirúrgico, diarrea
- C. Pérdida renal de líquidos: diuréticos, diuresis osmótica (p. ej., diabetes mellitus), insuficiencia suprarrenal
- D. Secuestro de líquido en el espacio extravascular: pancreatitis, peritonitis, traumatismos, quemaduras, hipoalbuminemia grave

II. Bajo gasto cardiaco

- A. Enfermedades de miocardio, válvulas y pericardio, arritmias, taponamiento
- B. Otras: hipertensión pulmonar, embolia pulmonar masiva, ventilación mecánica con presión positiva

III. Aumento de la proporción entre resistencia vascular renal y sistémica

- A. Vasodilatación sistémica: sepsis, antihipertensivos, reductores de la poscarga, anestesia, anafilaxis
- B. Vasoconstricción renal: hipercalcemia, noradrenalina, adrenalina, ciclosporina, tacrolimuá, anfotericina B
- C. Cirrosis con ascitis (síndrome hepatorenal)

IV. Hipoperfusión renal con trastorno de las respuestas autorreguladoras renales. Inhibidores de la ciclooxigenasa, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina

V. Síndrome de hiperviscosidad (raro). Mieloma múltiple, macroglobulinemia, policitemia

DRA RENAL O INTRÍNSECA

I. Obstrucción vasculorenal (bilateral o unilateral con un riñón funcionante)

A. Obstrucción de la arteria renal: placa aterosclerótica, trombosis, embolia, aneurisma disecante, vasculitis

B. Obstrucción de la vena renal: trombosis, compresión

II. Enfermedades de los glomérulos o de la microvascularización renal

A. Glomerulonefritis y vasculitis

B. Síndrome hemolítico-urémico, púrpura trombótica trombocitopénica, coagulación intravascular diseminada, toxemia del embarazo, hipertensión acelerada, nefritis por radiación, lupus eritematoso sistémico, esclerodermia

III. Necrosis tubular aguda

A. Isquemia: igual que para la insuficiencia prerrenal (hipovolemia, bajo gasto cardiaco, vasoconstricción renal, vasodilatación general), complicaciones obstétricas (desprendimiento de placenta, hemorragia puerperal)

B. Toxinas:

1. Exógenas: contraste radiológico, ciclosporina, antibióticos (p. ej., aminoglucósidos), quimioterápicos (p. ej., cisplatino), solventes orgánicos (p. ej., etilenglicol), paracetamol, abortivos ilegales

2. Endógenas: rhabdomiólisis, hemólisis, ácido úrico, oxalato, discrasia de células plasmáticas (p. ej., mieloma)

IV. Nefritis intersticial

A. Alérgica: antibióticos (p. ej., betalactámicos, sulfamidas, trimetoprim, rifampicina), antiinflamatorios no esteroideos, diuréticos, captoprilo

B. Infecciosa: bacteriana (p. ej., pielonefritis aguda, leptospirosis), vírica (p. ej., citomegalovirus), fúngica (p. ej., candidosis)

C. Infiltrativa: linfoma, leucemia, sarcoidosis

D. Idiopática

V. Depósito y obstrucción intratubular

Proteínas de mieloma, ácido úrico, oxalato, aciclovir, metotrexato, sulfamidas

VI. Rechazo de trasplante renal

DRA POSRENAL U OBSTRUCTIVA

I. Ureteral

Cálculos, coágulo sanguíneo, esfacelo de papila, cáncer, compresión externa (p. ej., fibrosis retroperitoneal)

II. Cuello de la vejiga

Vejiga neurógena, hiperplasia prostática, cálculos, cáncer, coágulo sanguíneo

III. Uretra Estenosis, válvula congénita, fimosis

Cuando esta clasificación es aplicada al ámbito de los cuidados intensivos, la distribución de incidencias difiere, ya que si bien la causa más frecuente de DRA sigue siendo la prerrenal, su porcentaje es mucho mayor (**Tabla 3**) (6). De ahí, que el modelo antes citado de Sutton sirva de referente para la descripción en estadios de DRA en UCI.

Tabla 3. Factores que contribuyen a la aparición de DRA en UCI. Adaptado de: Uchino et al. JAMA 2005 (6)

FACTORES DE RIESGO DE DRA	(n = 1.726 (100%))
Shock séptico	820 (47,5%)
Cirugía mayor	592 (34.3%)
Shock cardiogénico	465 (26.9%)
Hipovolemia	442 (25.6%)
Nefrotóxicos	328 (19,0%)
Síndrome hepatorenal	99 (5,7%)
Uropatía obstructiva	45 (2,6%)
Otros	211 (12,2%)

En la práctica clínica habitual, el problema estriba en que con frecuencia los pacientes ingresados en UCI presentan otras comorbilidades (léase por ejemplo la presencia de ERC, insuficiencia cardiaca congestiva, pre-medicación con antihipertensivos o diuréticos, disfunción hepática, etc...) o están expuestos a la vez a más de un potencial desencadenante para el desarrollo de DRA. Se estima que alrededor de un 30% de los pacientes que presentan DRA en UCI ya padecían de ERC en mayor o menor grado (6). Aún más, teniendo en cuenta que la estimación del FG enmascara la reserva renal real hasta que la pérdida de masa renal no alcanza por lo menos el 50%. Pongamos por ejemplo un paciente ingresado en UCI debido a shock séptico secundario a una pielonefritis. Dicho

paciente se encontrará en un estado de hipotensión e inflamación muy intensos que en si mismos pueden promover la aparición de DRA; además debería descartarse la obstrucción de vías urinarias, y posiblemente también habrá sido expuesto a aminoglicósidos como parte de su pauta antibiótica empírica inicial. Así pues, si bien la clasificación etiológica es intuitiva y necesaria a diario, resulta insuficiente para el diagnóstico y pronóstico de la DRA, sobretodo en los pacientes críticos, donde su progresión con frecuencia es acelerada y la reserva biológica de los mismos limitada.

2.1.6. DIAGNÓSTICO FUNCIONAL DE LA DISFUNCIÓN RENAL AGUDA

La creación de una definición metodológica condiciona la incidencia y mortalidad asociadas a la DRA, tal y como demostró Chertow *et al* (35) tras comparar 9 distintas definiciones. Así, tras el estudio de una población de casi 20.000 pacientes, destacaba como pequeños cambios en sCr estaban asociados a mayor mortalidad, días de estancia en UCI y costes, incluso después de ajustar los datos por edad, sexo, *scores* de gravedad y causa de ingreso según la *International Classification of Diseases*, (9ª revisión). En definitiva, estos datos subrayan cómo la DRA es un síndrome y, como tal, su definición fruto de una clasificación artificial. Debido a la miríada de definiciones de DRA, en la última década paneles de expertos han consensado clasificaciones de DRA que comprenden a la vez datos bioquímicos y clínicos para facilitar su diagnóstico. En los últimos años las definiciones que han cobrado mayor relevancia y, por ende, han sido usadas en el estudio de la DRA en los pacientes críticos son las RIFLE, AKIN y KDIGO. A continuación se explican en mayor detalle sus similitudes y diferencias.

- **CLASIFICACIÓN RIFLE**

Poco después que el mencionado artículo de Chertow fuese publicado y a razón de establecer una definición de DRA de consenso que facilitara el desarrollo de estudios clínicos y epidemiológicos que fueran comparables entre sí, en 2004 el grupo de expertos de la ADQI (*Acute Dialysis Quality Initiative*) propusieron la clasificación RIFLE (8).

RIFLE es el acrónimo de los distintos estadios en los que la disfunción renal es clasificada. Hacen referencia a *Risk*, *Injury*, *Failure*, *Loss* y *End-stage kidney disease*. Esta clasificación se basa en sCr, el débito urinario y la tasa estimada de FG, tal y como se especifica en la **Figura 5**. Los tres primeros estadios hacen referencia a la DRA, mientras que *Loss* y *End-stage kidney disease* a sus consecuencias a largo plazo. Mientras que los tres primeros estadios se caracterizan por tener una elevada sensibilidad, los dos últimos tienen alta especificidad.

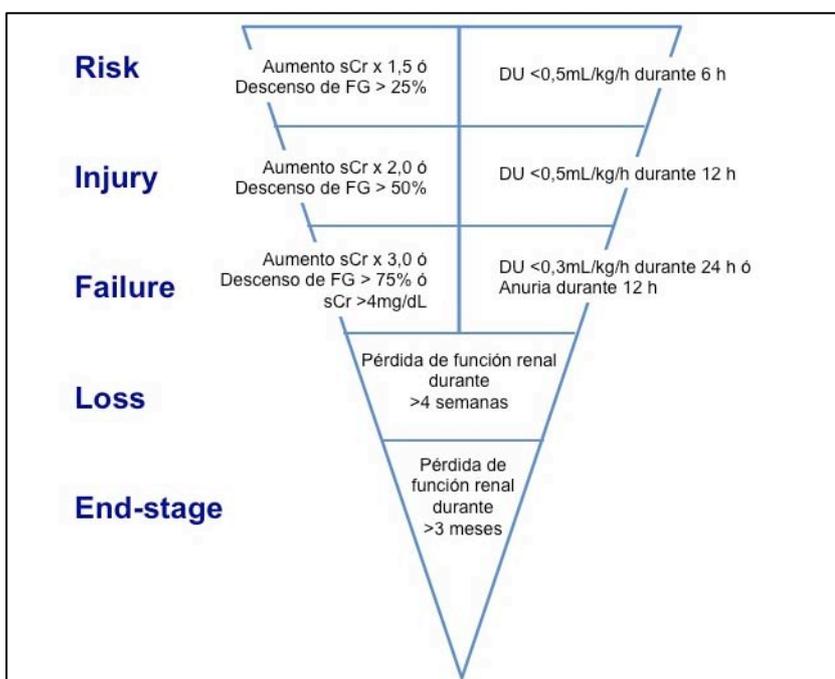


Figura 5. Clasificación RIFLE. Adaptado de: Bellomo et al. Crit Care 2004 (8).

En caso de discordancia entre DU y sCr o FG, se tendrá en cuenta al peor de las categorizaciones posibles. Abreviaturas: DU, Débito Urinario; FG, Filtrado Glomerular; h, hora; sCr, creatinina en plasma.

- **CLASIFICACIÓN AKIN**

En 2007 la clasificación RIFLE fue modificada por el grupo de trabajo *Acute Kidney Injury Network* (9), formado mayoritariamente por los autores

constituyentes de la ADQI. En este caso, en lugar de usarse un acrónimo se definen estadios identificados por números (**Figura 6**).

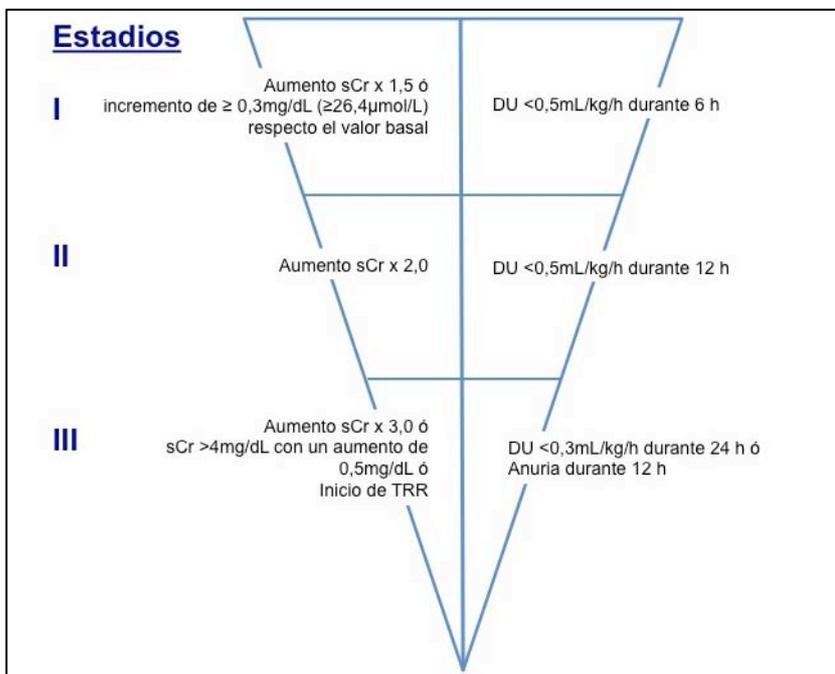


Figura 6. Clasificación AKIN. Adaptado de: Mehta Crit Care 2007 (9).

En caso de discordancia entre DU y sCr, se tendrá en cuenta al peor de las categorizaciones posibles. Abreviaturas: DU, Débito Urinario; h, hora; sCr, creatinina en plasma; TRR: Técnicas de Reemplazo Renal.

A diferencia de la clasificación RIFLE:

- Los estudios de Chertow (35) y Lasnigg (36) mostraron cómo pequeños cambios en sCr ($\geq 0,3$ mg/dL, $\geq 26,4$ μ mol/L) tenían repercusión clínica, tanto en días de hospitalización y pronóstico como en costes asociados. Así, en la clasificación AKIN, cambios pequeños en sCr forman parte del estadio 1.
- La clasificación de RIFLE incluía un período ventana de 7 días. En esta nueva clasificación, se exige que el deterioro de la función renal se produzca en un intervalo de tiempo de 48 horas.
- Todo paciente que reciba terapia de reemplazo renal (TRR) durante este período de 48 horas pertenecen al estadio III independientemente de los valores de sCr.

- En un editorial publicado en Lancet, Pickering (37) apuntaba como la caída en la tasa de FG estimada no concordaba con los estadios *Risk* e *Injury*. En situación de *steady-state*, con niveles estables en plasma de creatinina, la FG es inversamente proporcional a sCr. Así un incremento de 1,5 veces de la sCr basal corresponde a una reducción de un tercio en del FG (no un 25% como incluye la clasificación RIFLE), y un incremento 3 veces sobre el basal corresponde a una caída de dos tercios del FG (no un 75%). Además, la estimación basal del FG no es calculada si no que se realiza mediante las fórmulas MDRD o Cockcroft-Gault. Ambas incluyen como variables el sexo, edad, peso y sCr. Con la fórmula MDRD, un incremento 1,5 veces sobre la sCr basal, se produce una caída del FG del 37%; un incremento 3 veces sobre el basal de sCr concuerda con una caída del FG del 72%. En cualquier caso, cualquiera de estas fórmulas son solo válidas cuando los valores de sCr son estables, hecho que no sucede durante la DRA.

Dada su gran similitud con la clasificación RIFLE, cuando se compara la categorización de la DRA los resultados acostumbran a ser a grandes rasgos similares (38) salvo por el hecho que la clasificación AKIN es más sensible para la detección de DRA, sobretodo en estadios iniciales (39).

- **CLASIFICACIÓN KDIGO**

Posteriormente en 2012 el grupo KDIGO (*The Kidney Disease: Improving Global Outcomes group*), formado tanto por intensivistas como nefrólogos, publicó una última definición de DRA de consenso (**Figura 7**) (10). Esta última clasificación combina ambas escalas de RIFLE y AKIN. Se caracteriza por:

- Como la escala AKIN, tampoco incluye la estimación del FG.
- El período de observación ventana se extiende de 48 horas a 7 días como la escala RIFLE.
- El estadio 1 y 2 coinciden con la escala AKIN. El estadio 3 en cambio añade valores de sCr >4mg/dL (o >353,3 umol/L) sin necesidad de incremento agudo de sCr >0.5 mg/dL.

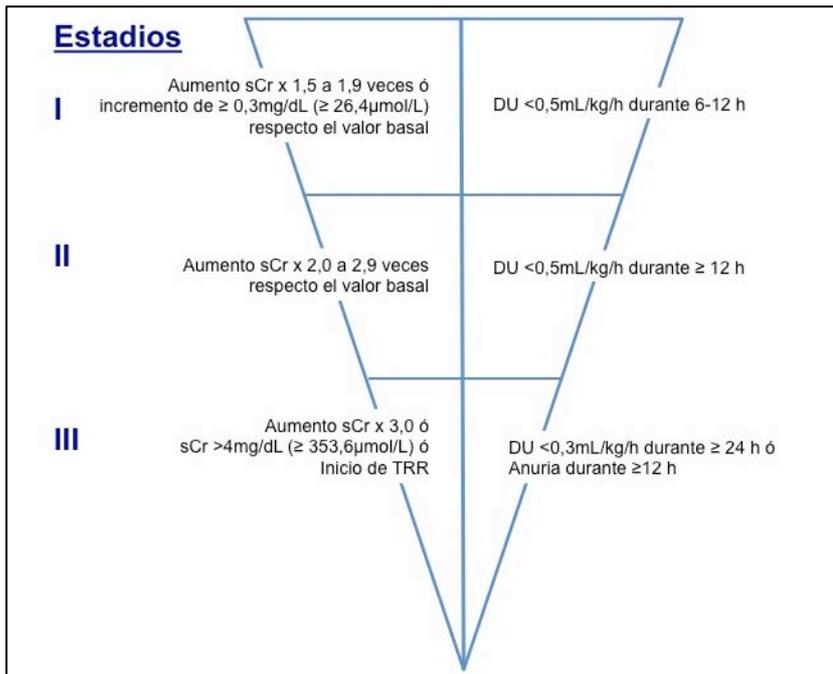


Figura 7. Clasificación KIDGO. Adaptado de: *KDIGO Group. Kidney Int Suppl 2012 (10)*.

En caso de discordancia entre DU y sCr, se tendrá en cuenta al peor de las categorizaciones posibles. Abreviaturas: DU, Débito Urinario; h, hora; sCr, creatinina en plasma; TRR: Técnicas de Reemplazo Renal.

Sin embargo, todas las clasificaciones mencionadas sin excepción adolecen de basarse en sCr y débito urinario. La concentración de sCr se modifica por la edad, sexo, estado nutricional, metabolismo, ejercicio físico intenso y fármacos independientemente del grado de DRA (40). Asimismo, para monitorizar el débito urinario es condición indispensable el sondaje urinario. La diuresis varía en función del estado de hidratación del paciente y el uso de diuréticos, por ejemplo, por lo que tampoco es un marcador específico de DRA. De ahí el especial interés de desarrollar nuevos biomarcadores que puedan superar la sCr y mejorar la precisión en el diagnóstico de DRA.

2.2. DISFUNCIÓN RENAL AGUDA EN CONCURRENCIA CON SEPSIS

La sepsis es una entidad clínica relevante dada la incidencia y elevada mortalidad que tiene asociadas. Se estima que su tasa de incidencia anual supera los 300 casos por 100.000 habitantes, con una mortalidad >30% en el caso de las sepsis, y del 40-70% en caso de shock séptico (41). Éste es el *leitmotiv* de la *Surviving Sepsis Campaign* (42), grupo internacional de expertos cuya guía clínica se considera marco del manejo inicial del paciente séptico.

La sepsis grave representa causa de ingreso en UCI en al menos un 10% de los casos (43). El porcentaje de pacientes críticos que puede verse afectado por sepsis se incrementa si se tienen en cuenta las infecciones nosocomiales a lo largo de su estancia en UCI, donde afecta hasta un 75% de los pacientes y tiene una mortalidad asociada del 20-50% (44). En consecuencia, iniciativas a nivel nacional como el registro ENVIN, así como los programas “Bacteriemia Zero” y “Neumonía Zero”, todos ellos con el aval de la Sociedad Española de Medicina Intensiva Crítica y Unidades Coronarias (SEMICYUC) y el Ministerio de Sanidad, intentan mejorar a escala local la vigilancia y pronóstico de los pacientes afectados de sepsis grave.

2.2.1. DEFINICIÓN Y FISIOPATOLOGÍA DE LA SEPSIS

La sepsis es uno de los primeros síndromes descritos en medicina (45). Hipócrates la definió como el proceso en que la carne se pudre y las heridas supuran. Para Galeno la sepsis era un paso necesario para la curación de las heridas. Posteriormente con la confirmación de la teoría de los gérmenes de Semmelweis y Pasteur, ésta fue definida como la respuesta sistémica a la infección, y se asumió que era el resultado de la respuesta del individuo a la invasión por el patógeno que se diseminaba en sangre. Desde aquel entonces, otras definiciones se han propuesto.

En el 2001 se estableció por consenso las definiciones de respuesta inflamatoria sistémica, sepsis, sepsis grave y shock séptico (1) (**Tabla 4**).

Tabla 4. Criterios diagnósticos clásicos de respuesta inflamatoria sistémica, sepsis, sepsis grave y shock séptico. Adaptado de Levy et al. Crit Care Med 2003 (1) y Goldstein et al. Paediatr Crit Care Med 2005 (46).

RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA

Presencia de al menos dos de los siguientes:

- Fiebre (temperatura central $>38,3^{\circ}\text{C}$) o hipotermia (temperatura central $<36^{\circ}\text{C}$)
- Taquicardia >90 latidos/min
- Taquipnea >20 respiraciones/min o $\text{PaCO}_2 <32\text{mmHg}$
- Leucocitosis >12.000 cél/mL, leucopenia <4.000 cél/mL o recuento de leucocitos normal con $>10\%$ de células inmaduras

SEPSIS

SIRS con infección documentada o sospechada.

SEPSIS GRAVE

Sepsis con uno de los siguientes criterios:

- Disfunción cardiovascular: Hipotensión arterial (PAS $<90\text{mmHg}$, PAM <60 mmHg o descenso de PAS $>40\text{mmHg}$ en adultos o <2 desviaciones estándar por encima del rango normal; saturación venosa central $>70\%$, índice cardiaco $>3,5\text{L}/\text{min}/\text{m}^2$)
- Disfunción respiratoria: hipoxemia ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 <300$ mmHg),
- Disfunción de dos o más otros órganos: oliguria (DU $<0,5\text{mL}/\text{kg}/\text{h}$ o 45 mL durante al menos 2 horas), incremento de sCr $>0,5$ mg/dL, alteración de la coagulación (INR $>1,5$ o APTT > 60 seg), íleo, trombocitopenia (recuento plaquetar $<100.000/\text{uL}$), hiperbilirrubinemia (bilirrubina total en plasma $>4\text{mg}/\text{dL}$ o 70 mmol/L), acidosis, hiperlactacidemia (>1 mmol/L), alteración del estado mental.

SHOCK SÉPTICO

Sepsis grave con disfunción cardiovascular definida por hipotensión refractaria a resucitación con fluidos o hiperlactacidemia $>4\text{mmol}/\text{L}$, con requerimientos de vasopresores.

Muy recientemente se han revisado y simplificado estas definiciones (47). En el último consenso, se considera que el término *sepsis grave* es redundante y ha sido eliminado. Un incremento en la puntuación SOFA de 2 o más puntos en contexto de infección define el término *sepsis*, y se asocia a una mortalidad $>10\%$. Los pacientes en *shock séptico* se identifican mediante la necesidad de iniciar vasopresores para mantener una presión arterial media > 65 mmHg en ausencia de hipovolemia o la presencia de hiperlactacidemia >2 mmol/L. Esta

combinación se asocia a una mortalidad >40%. Además, en este trabajo de consenso se define el quickSOFA, una nueva escala de gravedad para pacientes fuera de la UCI. Los signos de alarma que incluye QuickSOFA son la alteración del estado mental, taquipnea > 22 respiraciones/min y la presión arterial sistólica ≤ 90 mmHg.

Se creyó asimismo que la muerte asociada a la sepsis se debía a una respuesta inflamatoria descontrolada, pero al intentar frenar sus mediadores inflamatorios específicos no se ha conseguido disminuir su morbi-mortalidad (48). De hecho, a día de hoy se apunta a los mediadores inmunitarios, sobretodo caspasas, como los responsable de la causa de muerte de estos pacientes (49). Las muertes que suceden en la fase más inicial de la sepsis se atribuyen a la denominada “tormenta de citocinas” (50). Las citocinas tienen un potente efecto en el endotelio vascular, induciendo la adhesión de neutrófilos, monocitos, macrófagos y plaquetas a las células endoteliales. Esto produce una liberación de proteasas, oxidantes, prostaglandinas y leucotrienos, que afecta a la permeabilidad capilar y estimula la vasodilatación, además de producir un desequilibrio del balance pro y anticoagulante. Además, las citocinas por si mismas activan la cascada de la coagulación.

El estadio inicial de la sepsis se caracteriza por una hiperrespuesta inflamatoria que induce daño celular y de los órganos. Los linfocitos *T-helper* 1 producen interferón- γ y factor de necrosis tumoral- α (TNF- α). La respuesta inflamatoria inicial se inicia con la interacción entre los patrones moleculares específicos para cada patógeno (DAMPs, *damage-associated molecular patterns* o patrones moleculares de daño celular; y PAMPs, *pathogen associated molecular patterns* o patrones moleculares asociados al patógeno) con los receptores celulares (44). Estos receptores se encuentran en:

- La pared celular. Se trata de los receptores TLR (*toll-like receptors*) y CLR (*C-type lectin receptors*).
- El endosoma, donde también hay TLR.

- El citoplasma, donde se encuentran RLR (*retinoic acid inducible gene 1-like receptors*) y NLR (*nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors*).

La severidad y progresión de la sepsis está modificada tanto por factores relacionados con el germen como con el huésped (44)(50). Los factores relacionados con los gérmenes son su virulencia, la carga infectiva y las características específicas que definan cada germen. A nivel microvascular (**Figura 8**), bacterias Gram positivas, bacterias Gram negativas, virus y hongos tienen una pared celular específica. Sus paredes celulares tienen patrones moleculares que se unen específicamente a las células inmunes mediante los receptores TLR; en cambio, los lipopolisacáridos (LPS) de los bacilos Gram negativos se unen al complejo CD14, también llamada proteína de unión de LPS; los peptidoglucanos de las bacterias Gram positivas y el LPS de las bacterias Gram negativas se unen al TLR-2 y TLR-4 respectivamente. Esta unión activa una señal intracelular que a su vez activa vías de transducción y activación del factor nuclear κ B (NF- κ B). NF- κ B pasa al citoplasma, donde activa la transcripción de citocinas como el TNF- α , IL-1 β e IL-10. La IL-1 β es proinflamatoria, y activa la respuesta inmune adaptativa, pero también causa daño directo e indirecto en el huésped. La IL-10 es antiinflamatoria, e inactiva macrófagos entre otras funciones.

La sepsis también incrementa la actividad de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), incrementando así la síntesis de óxido nítrico (NO), que junto con el efecto de las citocinas, produce un potente efecto vasodilatador. La consecuencia de esta respuesta inflamatoria exagerada inicial es el daño tisular colateral, que a su vez perpetúa la inflamación en un círculo vicioso mediante:

- La activación del complemento.
- Activación leucocitaria, con liberación de más citocinas, proteasas y especies reactivas del oxígeno (ROS, radicales libres o *reactive oxygen species*).
- Activación de la coagulación.

Los factores contribuyentes a la progresión de la sepsis relacionados con el huésped son: la edad, predisposición genética, el entorno donde se produce dicha infección, el uso concomitante de fármacos y la concurrencia de otras enfermedades (44). A nivel hospitalario, y especialmente en UCI, los pacientes están expuestos a gérmenes con una mayor tasa de resistencia antibiótica y son más proclives a padecer infecciones nosocomiales debido a todos los dispositivos invasivos que portan.

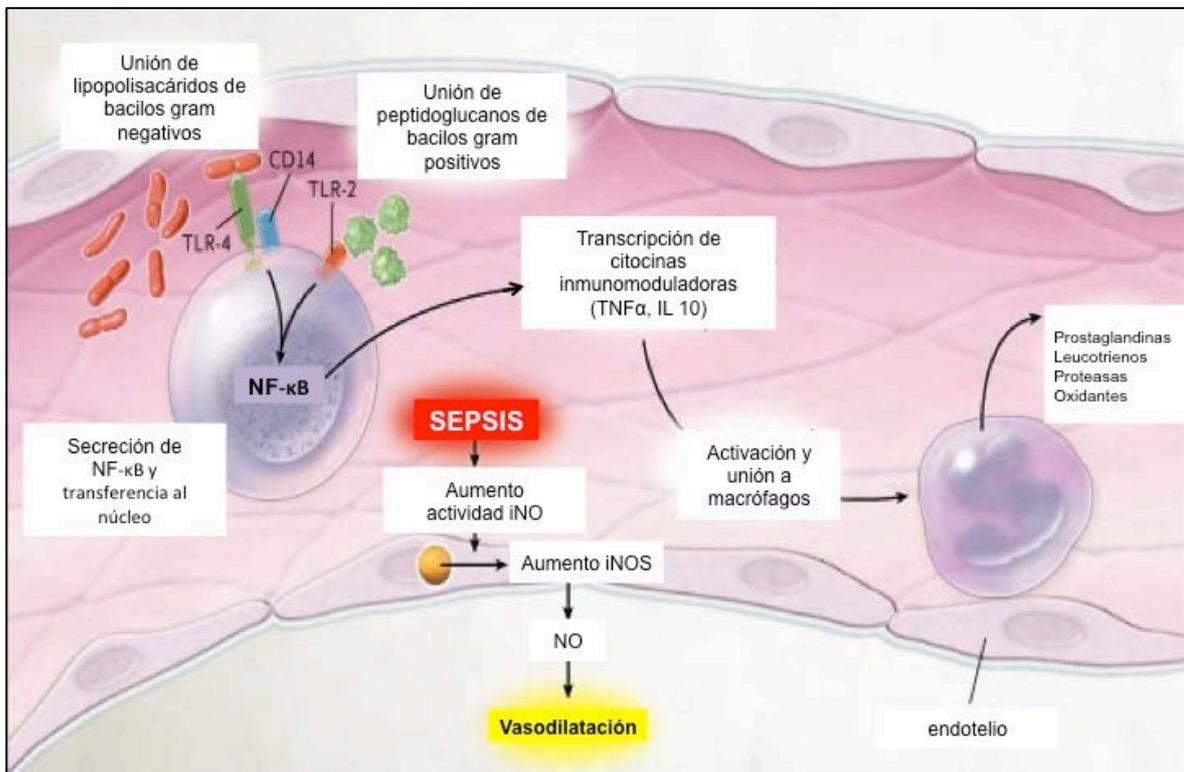


Figura 8. Respuesta inflamatoria a la sepsis. De: *Russell. NEJM 2006 (50)*.

A medida que el proceso de sepsis evoluciona, se produce un estadio de hiporrespuesta inmune donde el organismo es incapaz de erradicar la infección primaria y/o desarrolla infecciones nosocomiales secundarias debido a inmunosupresión. Esta fase tardía está mediada por procesos apoptóticos de células inmunes y linfocitos T-*helper* 2, quienes producen interleucinas-4 (IL-4), IL-5 e IL-13. La apoptosis es un mecanismo importante de inmunosupresión, causando una reducción en número de células inmunitarias e inducción de una respuesta de citocinas antiinflamatorias. Macrófagos y células dendríticas se

convierten en células linfocíticas T-*helper* 2 y entran en anergia. La función fagocítica de los macrófagos asimismo se reduce. Se produce una desregulación neuroendocrina en el huésped que inhibe el eje hipotálamo-pituitario-adrenal y reduce la producción de citocinas proinflamatorias.

2.2.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA DISFUNCIÓN RENAL AGUDA EN CONTEXTO DE SEPSIS

Recientemente Gómez *et al.* (51) han propuesto una nueva teoría para intentar explicar el desarrollo de DRA en contexto de sepsis. Este paradigma combina factores como la inflamación, la disfunción microvascular, la disfunción bioenergética y la adaptación de las células tubulares renales.

La DRA en la sepsis es considerada una respuesta adaptativa a la señal inflamatoria producida por la sepsis (**Figura 9**)(52). Mediadores inflamatorios liberados por los patógenos y las células inmunes activadas (DAMPs o patrones moleculares de daño celular y PAMPs o patrones moleculares asociados al patógeno) son reconocidos por el sistema inmune para luchar contra la infección, pero a su vez producen daño en el huésped. Las células tubulares reconocen DAMPs y PAMPs mediante varios tipos de receptores como los TLR-4, lo que lleva a una sobreexpresión de NF- κ B y TNF- α . Esta activación daña las células tubulares renales, que mueren por mecanismos de apoptosis.

En estado de sepsis, el flujo renal se compromete de forma algo distinta a la propuesta por el modelo de isquemia de Sutton. Se postula que la respuesta adaptativa del flujo en la sepsis es distinta, si bien el mecanismo no está del todo aclarado. Se sugiere que el *feedback* a la activación túbulo-glomerular produce una vasoconstricción de la arteriola aferente, aunque estudios experimentales muestran resultados contradictorios (53). A diferencia del modelo de Sutton, la arteriola eferente jugaría un papel predominante, al producirse vasodilatación de la misma y produciéndose una caída del FG debido a la llamada “hipotensión intraglomerular”. Asimismo, se producen alteraciones hemodinámicas intrarenales (*shunt* periglomerular). Si bien la progresión de la DRA en la sepsis ha sido

relacionada con la exposición a hipotensión, dicha DRA también puede producirse en contexto de shock séptico hiperdinámico, donde el flujo sanguíneo renal puede estar preservado o incluso aumentado (54)(55). Desafortunadamente la presión arterial media y el gasto cardiaco son variables subrogadas de perfusión renal que no siempre reflejan el flujo sanguíneo renal.

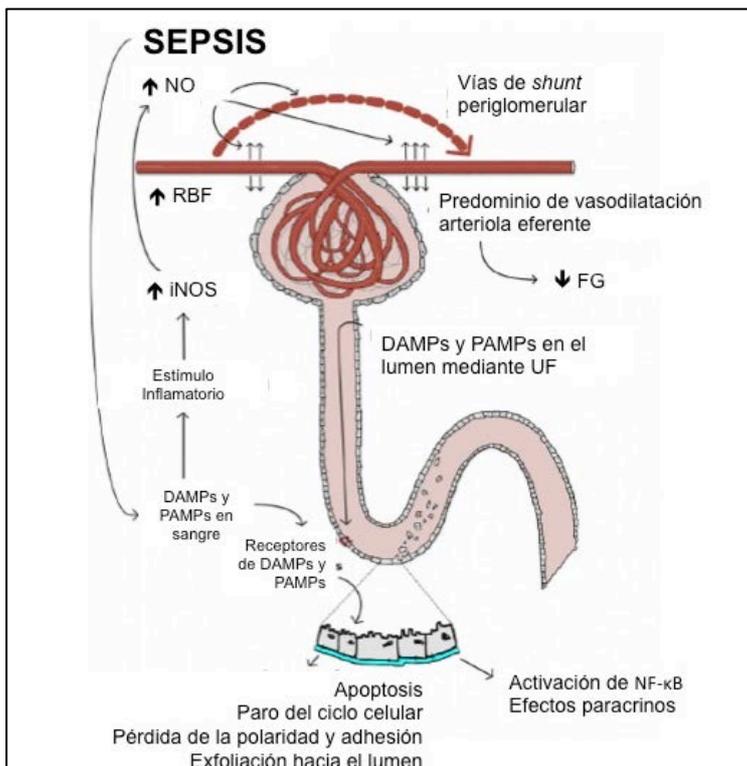


Figura 9. Esquema resumen de los mecanismos implicados en el desarrollo de DRA en contexto de sepsis. De Pettilä *Intensive Care Med* 2014 (56).

Abreviaturas: NO, óxido nítrico; RBF, *renal blood* o flujo sanguíneo renal; iNOS, Óxido Nítrico Sintasa Inducible; DAMPs, *Damage-Associated Molecular Patterns* o patrones moleculares de daño celular; FG, Filtrado Glomerular; PAMPs, *Pathogen-Associated Molecular Patterns* o patrones moleculares asociados al patógeno; UF, Ultrafiltración.

Un último mecanismo implicado es la disfunción microvascular, secundaria a daño endotelial, alteraciones de la coagulación y el anteriormente citado *shunt* glomerular (57). A pesar del incremento de producción de NO durante la sepsis (58), la expresión de iNOS es heterogénea, por lo que las concentraciones focales

de NO son variables a pesar de elevados niveles sistémicos de NO (59). En consecuencia, la perfusión renal resulta parcheada o heterogénea, con áreas de hipoperfusión e hipoxia, que estimulan el estrés oxidativo y producen alteraciones en el consumo de energía mitocondrial. Cada vez hay más evidencia que las mitocondrias son parte del control de la quiescencia celular (60), lo que según el grupo de Gómez (51) podría aportar la ventaja de limitar la replicación celular. Al limitarse la replicación, se conservarían los niveles de energía, se evitaría daño del DNA y se evitaría que la célula entrase en apoptosis. Esta disfunción bioenergética mitocondrial sería la causante última de la DRA en contexto de sepsis.

En resumen, si bien a día de hoy los mecanismos por los que la sepsis promueve la aparición de DRA no están completamente descritos, su mayor conocimiento fisiopatológico abre las puertas a nuevos marcadores diagnósticos y nuevas dianas terapéuticas.

2.3. BIOMARCADORES DE DISFUNCIÓN RENAL AGUDA

2.3.1. CARACTERÍSTICAS DE UN BIOMARCADOR

Un biomarcador es una sustancia que es medida de forma objetiva y evaluada como indicador de un estado biológico o de las respuestas farmacológicas a un tratamiento. Cualquier lesión celular induce cambios moleculares que pueden progresar finalmente en daño celular. La célula produce marcadores de lesión celular que preceden al síndrome clínico. Es la detección de estos biomarcadores la que ofrecería la oportunidad del diagnóstico precoz de enfermedades.

El biomarcador de DRA ideal contaría con las siguientes características (61):

- No invasivo.
- Posibilidad de ser medido en sangre u orina.

- Altamente específico. Aporta información no sólo de la presencia de DRA si no también de su subtipo y etiología. Diferencia entre DRA y ERC. No se ve afectado por otras variables biológicas.
- Es altamente sensible. Su concentración se eleva precozmente tras el episodio de DRA, y no se afecta por cambios en la composición del fluido en el que se determina. Su concentración también disminuye rápidamente como señal de mejoría o respuesta al tratamiento, por lo que permite predecir el requerimiento de TRR o la mortalidad asociada al episodio de DRA.
- Fácil de medir utilizando métodos estandarizados.
- Económico

Como se desarrollará en apartados posteriores, la creatinina no cumple todas estas premisas pese a ser el biomarcador de función renal *gold standard*. Por este motivo, varios autores han propuesto el desarrollo de nuevos biomarcadores para cada fase de la DRA (**Figura 10**)(62). Estas fases son:

1. Fase prelesiva. El biomarcador se utilizará para identificar aquellos sujetos susceptibles de presentar DRA.
2. Fase lesiva precoz. La función del biomarcador será la identificación de la aparición de lesión renal.
3. Fase lesiva tardía. El biomarcador permitirá la monitorización de la progresión de la DRA y la función renal.
4. Fase de recuperación. El biomarcador servirá con fin pronóstico.

La incorporación de nuevos biomarcadores en todas estas etapas facilitaría no sólo un diagnóstico más preciso de la DRA y su repercusión clínica si no que también abriría nuevas oportunidades para la prevención primaria y tratamiento personalizado.

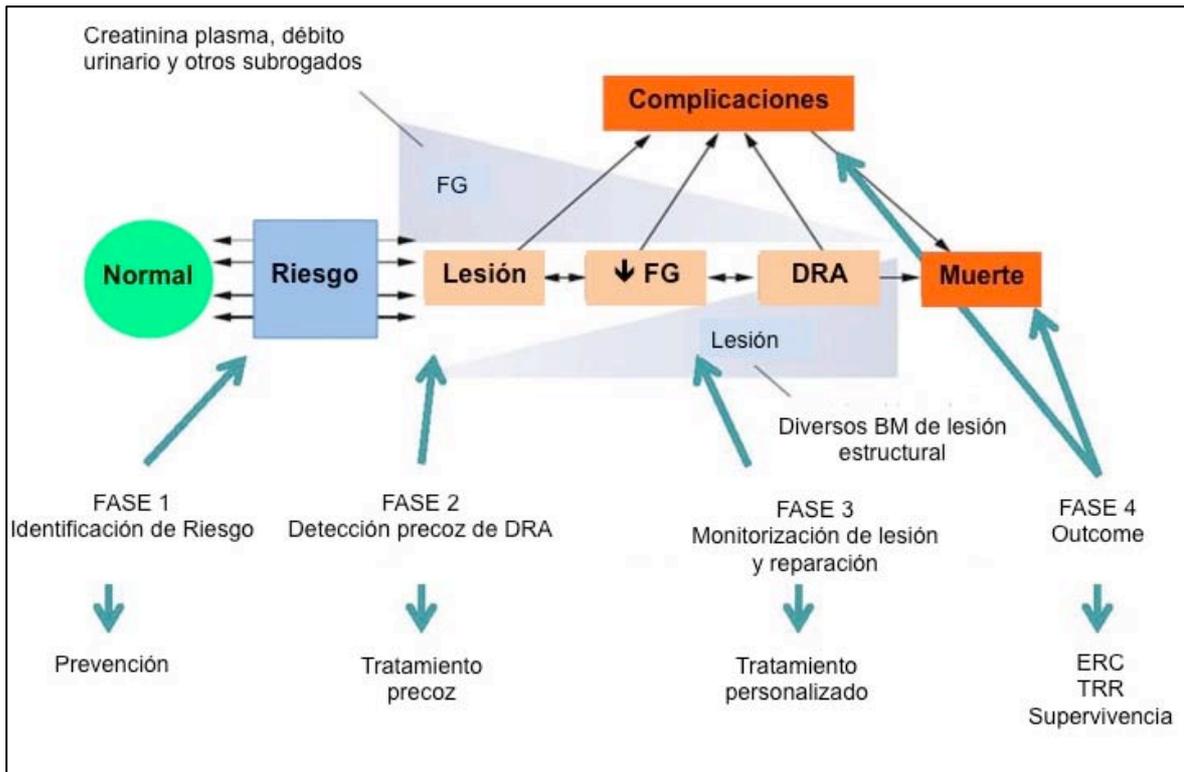


Figura 10. Esquema resumen del *continuum* de DRA y las posibles dianas para el uso de biomarcadores. Modificado de: Murray. Clin J Am Soc Nephrol 2008 (62).

Las complicaciones debidas a DRA pueden producirse primariamente en el riñón pero también en otros órganos (como la sobrecarga de volumen o la insuficiencia respiratoria). Abreviaturas: BM, Biomarcador; DRA, Disfunción Renal Aguda; ERC, Rnfermedad Renal Crónica; FG, Filtrado Glomerular; TRR, Terapia de Reemplazo Renal.

2.3.2. BIOMARCADORES CLÁSICOS DE DISFUNCIÓN RENAL AGUDA

En la práctica clínica habitual, el diagnóstico de la DRA se basa en la valoración del daño renal mediante un incremento de los niveles de sCr asociados a una caída del FG y/o a la capacidad de mantener una diuresis apropiada. El diagnóstico se completa con la determinación de otros productos nitrogenados como la urea y el estudio del sedimento urinario. A continuación se describen las características de todos ellos.

- **PRODUCTOS NITROGENADOS: CREATININA Y UREA EN PLASMA**

La creatinina es una molécula derivada del metabolismo de la creatina y fosfocreatina, presentes en el tejido muscular. La creatina (α -metil guanidoacético) es un ácido orgánico nitrogenado que constituye la fuente principal para la producción de ATP en las células musculares. A partir de básicamente tres aminoácidos, arginina, glicina y metionina, la creatina se produce principalmente en el hígado, aunque también y en menor cantidad en el riñón, páncreas, cerebro y glándula mamaria (**Figura 11**).

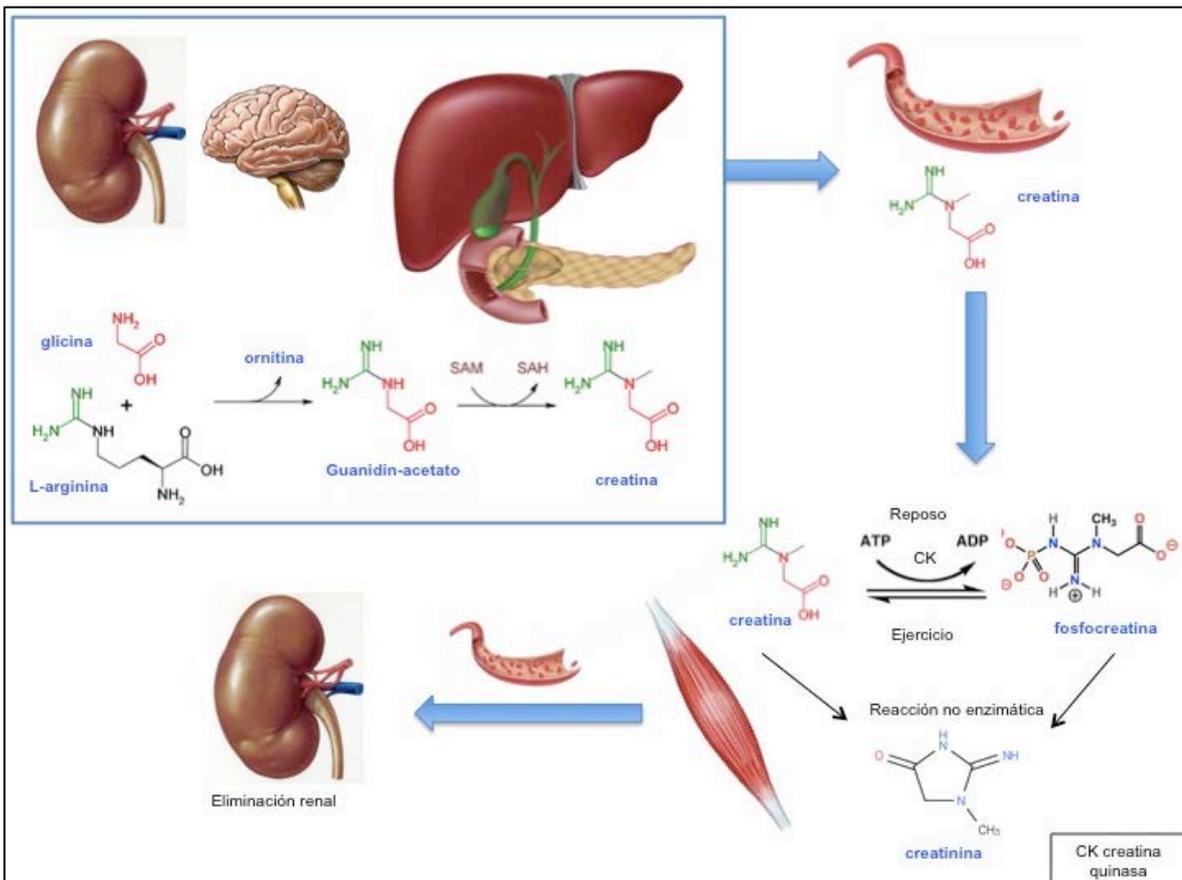


Figura 11. Metabolismo de la creatina y creatinina.

Una vez la creatina es sintetizada, ésta pasa a la circulación sanguínea y es transportada a distintos tejidos (cerebro, hígado, testículos, riñones), dentro de los cuales destaca el tejido muscular. En el músculo la creatina se absorbe y

almacena en un 95-98%. Pese a tener un peso molecular bajo (131Da), ésta es transportada intracelularmente mediante la Na⁺-Creatina proteína co-transportadora en contra del gradiente de concentraciones intra y extracelulares. La creatina libre intracelular (alrededor de un 40% de la creatina total) es fosforilada a fosfocreatina por la enzima creatina quinasa usando el fosfato del ATP. Es así como la creatina participa en el ATP y genera energía en las células musculares. La fosfocreatina (aproximadamente un 60% de la creatina total) es una fuente de reserva energética intracelular ya que es incapaz de atravesar la membrana celular.

La creatina se caracteriza por tener una vida media de aproximadamente 30-35 días. Se estima que el peso total de creatina muscular es 100-130mmol/Kg. La cantidad de creatina en el organismo es proporcional a la masa muscular, por lo que su cantidad depende de la edad, sexo, estado nutricional, metabolismo, ejercicio físico, enfermedades como las miopatías o la rabdomiolisis y fármacos.

A diario, alrededor de un 1% de la creatina y 2,6% de fosfocreatina se convierten en creatinina mediante una reacción no enzimática. La creatinina es un producto hidrosoluble, cuyo volumen de distribución en el organismo corresponde al agua corporal total. En individuos sanos, la creatinina es filtrada libremente en el glomérulo; alrededor de 10-15% se secreta en el túbulo renal proximal, eliminándose sobretodo por excreción urinaria. Dado que se excreta a nivel tubular, en estadios iniciales de glomerulopatías el FG y aclaramiento de sCr pueden no reducirse.

La creatinina plasmática (sCr) tiene una vida media aproximada de 3,8 horas, aunque varía dependiendo de la tasa de FG. Así, la concentración de sCr tiene una relación inversamente proporcional y no-lineal con el FG (**Figura 3**). Cabe recordar que una de las respuestas adaptativas del riñón a la pérdida de nefronas es la capacidad de hiperfiltración e hipertrofia de las nefronas residuales. Esto explica porque el FG se mantiene intacto hasta que la pérdida de masa renal no alcanza > 50% (24)(25). Además, no sólo los incrementos de sCr y caída del FG expresan de forma tardía el deterioro de la función renal, si no que la

recuperación de la misma tampoco se refleja en tiempo real. Así pues, es un biomarcador impreciso tanto para el diagnóstico de la DRA como para la monitorización de su recuperación.

La urea es también una molécula hidrosoluble de bajo peso molecular. Sus concentraciones en plasma son inversamente proporcionales al FG, aunque su producción y eliminación puede alterarse debido a diversos factores: cambios del volumen circulante, ingestión proteica, sangrado gastro-intestinal, etc. La tasa de aclaramiento de urea no es constante: 40-50% de la urea que se secreta puede ser reabsorbida por los túbulos renales. En consecuencia, la urea en plasma es muy poco específica para la estimación del FG, requiriendo su acumulación para que se incremente.

- **ÍNDICES URINARIOS**

Clásicamente, en el estudio de la DRA se han usado los índices urinarios para el diagnóstico diferencial entre la DRA de causa prerrenal y renal (**Tabla 5**). La fracción de excreción de sodio (FENa) es de todos ellos el índice de mayor utilidad, relacionando el aclaramiento de sodio con el aclaramiento de creatinina. El sodio filtrado por el glomérulo es reabsorbido en el caso de la DRA prerrenal como mecanismo para intentar restablecer el volumen intravascular. En presencia de DRA de causa renal, no se produciría ésta reabsorción. En el caso de la creatinina, ésta no se reabsorbe en ninguno de los casos. En consecuencia, los pacientes con DRA prerrenal presentan típicamente FENa <1%, mientras que aquellos con DRA renal suelen presentar FENa >1%. Aún y así, en ocasiones la DRA prerrenal puede acompañarse de FENa >1% cuando el paciente recibe diuréticos (hecho frecuente en las UCI) o presenta bicarbonaturia, ERC o insuficiencia suprarrenal. Es también posible encontrar FENa <1% en DRA causada por obstrucción de vías urinaria, glomerulonefritis y enfermedades vasculares.

Tabla 5. Índices urinarios para la diferenciación de la DRA prerrenal y renal.

Abreviaturas: DRA, Disfunción Renal Aguda; Osm, Osmolaridad.

TEST	DRA PRERRENAL	DRA RENAL
Fracción excretada de sodio (%)	< 1	> 1
Concentración urinaria sodio (mEq/L)	< 10	>20
Creatinina orina / Creatinina plasma	> 40	< 20
Urea orina / Urea plasma	> 8	< 3
Densidad urinaria	> 1018	< 1012
Osmolaridad urinaria (mOsm/kg)	> 500	< 250

La concentración urinaria de sodio, los índices de concentración urinaria (densidad de la orina, osmolaridad urinaria, proporción de urea en orina y plasma, y proporción de creatinina en orina y plasma) son todavía menos sensibles. En resumen, todos estos índices muestran resultados poco consistentes, por lo que su uso en el diagnóstico de la DRA no es recomendable (63)(64)(65).

2.3.3. NUEVOS BIOMARCADORES DE DISFUNCIÓN RENAL AGUDA

Las principales limitaciones de los biomarcadores clásicos es que no diagnostican la DRA a tiempo real y son poco específicos del daño estructural subyacente (66). Como se ha mencionado anteriormente, la concentración de urea plasmática es modificada por varios factores; además a nivel tubular se produce una notable reabsorción de urea, por lo que no refleja el FG. Respecto al débito urinario, éste es un marcador poco específico, ya que no siempre está presente en la DRA y puede ser modificado por fármacos. La creatinina, pese a ser el *gold standard*, tiene varias limitaciones que recordamos a continuación:

- Los valores de sCr se ven modificados por varios factores, como la edad, sexo, estado nutricional, metabolismo, ejercicio físico intenso y fármacos.

- La secreción de sCr a nivel del túbulo renal es variable de un 10-40%, por lo que puede enmascarar un descenso del FG.
- La concentración de sCr solamente llega a reducirse una vez se ha perdido al menos un 50% del FG. Así, no es de extrañar que incrementos detectables en la sCr aparezcan hasta 24 horas después que se inicie la DRA.
- No es un biomarcador de lesión renal, sino de función renal.

En resumidas cuentas, los biomarcadores renales convencionales no son suficientemente sensibles y específicos. Bajo la etiqueta coloquial de “ómica”, el desarrollo de nuevas tecnologías ligadas a la biotecnología, como la genómica, la transcriptómica, la proteómica, la metabolómica y la fenómica, han abierto las puertas a la detección de potenciales biomarcadores (**Figura 12**) (67). La *genómica* es el ámbito de la ciencia centrado en la secuenciación del DNA, el perfil y mapa genético, así como su recombinación. La *transcriptómica* estudia la secuenciación del RNA y la regulación transcripcional. La *proteómica* identifica y cuantifica proteínas, evaluando también la modificación translacional. La *metabolómica* en cambio estudia los perfiles metabólicos, los metabolitos inmediatos, las hormonas y otras señales moleculares. Por último, la *fenómica* evalúa las características morfológicas, bioquímicas y físicas intentando establecer una relación entre la genética, epigenética y factores ambientales. Las técnicas más usadas en proteómica y metabolómica son la espectrometría de masas seguida por la resonancia magnética nuclear.

En cada uno de estos niveles, la información obtenida es inmensa. Por ese motivo, gran parte del esfuerzo se invierte en discernir qué datos son relevantes y cuáles no (68), para así intentar trazar una explicación fisiológica que describa con precisión los procesos. Gracias a la ciencia ómica, se espera descubrir múltiples perfiles proteicos (69)(70) y patrones metabólicos (71)(72) que puedan potencialmente actuar como biomarcadores renales preclínicos y clínicos. El segundo reto está en convertir esta biotecnología en una técnica sencilla, precisa y aplicable a pie de cama sin perder todas sus ventajas (73).

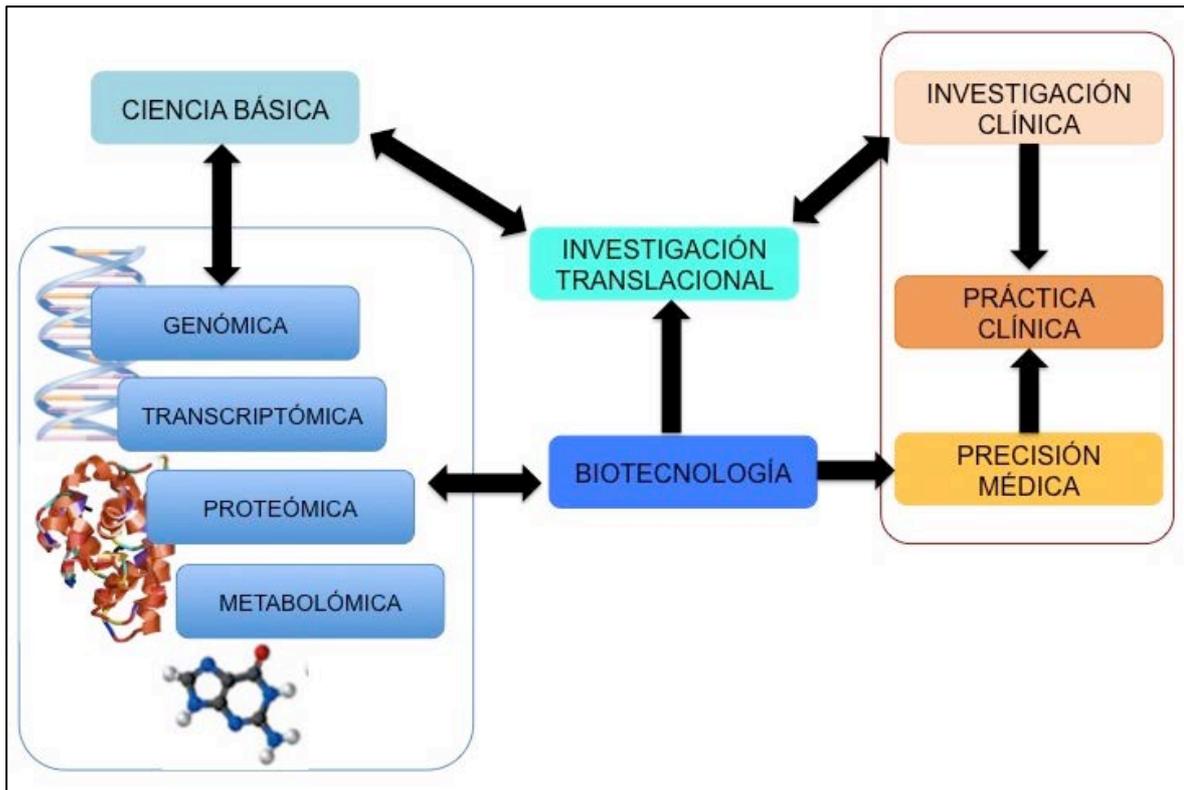


Figura 12. Integración de la ciencia ómica en la investigación médica translacional.

En lo que acontece a la DRA, en las últimas dos décadas se han descubierto varios biomarcadores de disfunción renal. La presencia de algunos ellos es secundaria al daño de segmentos específicos de la nefrona (**Figura 13**), por lo que su determinación en plasma u orina no sólo apunta a la aparición de DRA sino que también a la potencial etiología que la promueve, como en el caso de algunos nefrotóxicos (74).

En un artículo de revisión, Ostermann clasificaba los nuevos biomarcadores en distintos subgrupos en relación a su origen (75). Un primer grupo de biomarcadores está formado por proteínas de bajo peso molecular presentes en la circulación sistémica y que presentan normalmente filtración glomerular. Así, estos marcadores endógenos aumentan su concentración en plasma en caso de DRA. Éste es el mecanismo de los productos nitrogenados, la cistatina C plasmática y la lipocalina asociada a neutrófilos (*Neutrophil-gelatinase associated lipocalin* o NGAL) en plasma.

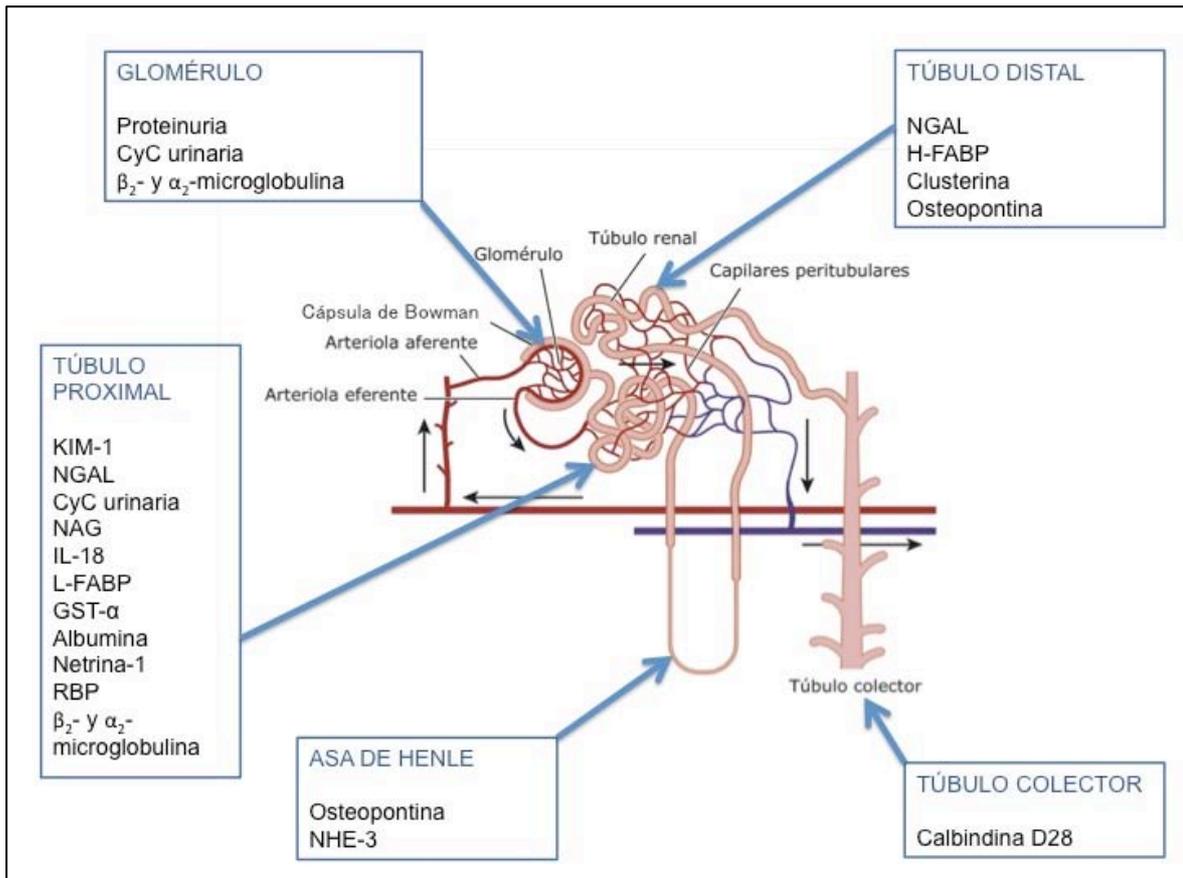


Figura 13. Principales biomarcadores estructurales de disfunción renal. Modificado de: Bonventre. *Nature Biotech* 2010 (74).

Un segundo grupo lo conforman proteínas liberadas por las células tubulares después de que se produzca daño renal. Muchas de estas proteínas están ya presentes en las células tubulares en condiciones normales, aunque su concentración en orina es desestimable. Un biomarcador importante de este grupo es la N-acetil- β -D-glucosaminidasa (NAG). Su tamaño molecular (>130kDa) impide que pueda filtrarse a nivel glomerular, por lo que su presencia en orina implica daño tubular. De este grupo también forman parte varios enzimas localizados en el borde del *villi* de las células proximales tubulares, como la alanina aminopeptidasa, la fosfatasa alcalina y la gamma glutamil transpeptidasa.

Un último grupo corresponde a mediadores inflamatorios secretados por las células renales o por células inflamatorias que infiltran el tejido renal, indicando así el grado y localización del daño renal. Estas moléculas se sintetizan tras la

activación de su expresión genética secundaria al daño celular. En este subgrupo encontraríamos NGAL tanto en plasma como en orina, la interleucina-18 (IL-18), la molécula-1 de lesión renal (*Kidney injury molecule-1* o KIM-1), y las proteínas hepática y cardíaca de unión de ácidos grasos (*Liver fatty acid-binding protein* o L-FABP, y *Heart fatty acid-binding protein* o H-FABP). A continuación se describen los más relevantes de todas ellos.

- **Cistatina C**

La cistatina C (CyC) es una proteína de la familia de las cistatinas que actúa como inhibidora de la cisteína-proteasa (76), por lo que se le otorga un papel modulador en la necrosis celular. Se trata de una proteína de bajo peso molecular (13kDa) que es sintetizada por todas las células nucleadas del organismo. Es filtrada libremente por el glomérulo, se reabsorbe completamente, y sólo en muy poca cantidad se secreta por la orina.

Característicamente, el incremento en plasma de CyC llega a preceder a la sCr en 1 o 2 días (77). A pesar de ello, una de sus principales desventajas en su aplicación a la práctica clínica habitual es que su determinación (por ELISA o nefelómetro) ya que toma aproximadamente 10-20 horas. La CyC tiene una relación inversamente proporcional al FG, de ahí su interés como biomarcador endógeno de DRA, si bien no es biomarcador propiamente estructural. Aunque la concentración plasmática de CyC no parece ser tan variable como la sCr (76), sí que hay varios factores que influyen en su concentración. En 2004 Knight *et al* presentaron un estudio transversal en 8.058 pacientes holandeses con edades comprendidas entre 28 y 75 años (78). El estudio mostraba como los niveles plasmáticos de CyC variaban en función de la edad, sexo, peso, talla, hábito tabáquico y niveles plasmáticos de proteína C reactiva. Otros estudios han demostrado que la CyC en plasma también se incrementa en estados de hipertiroidismo, inflamación, enfermedad maligna y con el uso concomitante de esteroides (en este último caso por incremento de la transcripción del gen que codifica la CyC) (79).

La mayoría de estudios realizados con CyC en plasma para la detección de la DRA no han demostrado que sea mejor biomarcador que la sCr. Así por ejemplo, el estudio de Nejat (80) en una población con aproximadamente 400 pacientes críticos generales, mostraba resultados superponibles para la detección de DRA mediante sCr. Si bien la CyC plasmática se anticipaba en el diagnóstico, la CyC no tiene la suficiente especificidad ya que también hay varios factores que modifican su concentración plasmática. En el campo de la cirugía cardíaca, tampoco ha demostrado que sea superior a la sCr (81)(82).

En cambio, la CyC urinaria parecería ser un biomarcador algo más prometedor, ahora sí como biomarcador de daño estructural. A medida que se produce daño tubular, las concentraciones urinarias de CyC aumentan independientemente al FG (78)(79). Algunos estudios apuntan a que podría ser útil en pacientes afectados de DRA en contexto de sepsis y para predecir el requerimiento de TRR (83). Aún y así, no hay suficientes estudios que apoyen la CyC urinaria como biomarcador superior a la sCr para el diagnóstico de la DRA, por lo que está relegada al ámbito de la investigación.

- **N-acetil- β -D-glucosaminidasa (NAG)**

La N-acetil- β -D-glucosaminidasa (NAG) es una enzima lisosomal que hidroliza compuestos que poseen terminales de N-acetil glucosamina o N-acetil galactosamina. Su peso molecular oscila entre 130kDa y 140kDa, por lo que en condiciones normales no presenta filtración glomerular. Todo lo que se detecta en orina proviene de la fracción lisosomal y otras fracciones subcelulares de las células del túbulo contorneado proximal. Es un biomarcador muy sensible de daño tubular y fácil de cuantificar por colorimetría. Su principal desventaja es que tiene baja especificidad. Su concentración se ve aumentada en el hipertiroidismo, en contexto de intolerancia a la glucosa, artritis reumatoide y en presencia de nefrotóxicos, metales pesados y urea endógena.

Esta enzima se ha estudiado desde los años 70. En sucesivos estudios, se ha mostrado que su concentración aumenta en la nefropatía hipertensiva y diabética,

el rechazo agudo al trasplante renal (84), en la exposición a nefrotóxicos (85) y en pacientes post cirugía cardíaca (86). Si bien concentraciones elevadas de NAG en pacientes con DRA parecen asociarse a un peor pronóstico (87), no es un buen biomarcador para el diagnóstico de DRA en los pacientes críticos en general (88).

- **Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1)**

KIM-1 es una glicoproteína transmembrana tipo 1 que se sobreexpresa en las células tubulares proximales en respuesta a isquemia, inflamación o tóxicos (61)(89). Su determinación se realiza mediante ELISA. KIM-1 no es un buen predictor precoz de DRA, pero es más fiable en la identificación de fracaso renal establecido. Su interés como biomarcador radica en que ayuda a diferenciar entre la DRA de origen isquémico de la prerrenal y/o ERC (90). Sus niveles elevados podrían también predecir el requerimiento de TRR y un aumento de mortalidad (87).

- **Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)**

NGAL es una glicoproteína de 25kDa expresada en diferentes tejidos epiteliales humanos, entre ellos el riñón, aunque también sintetizado en los pulmones, tráquea, estómago, colon, útero, próstata y glándulas salivares. El NGAL en plasma es filtrado libremente en el glomérulo y reabsorbido por el túbulo proximal por endocitosis. El NGAL se detecta en orina cuando hay una lesión tubular renal que impide su reabsorción o cuando hay un aumento de su síntesis. La lesión renal a su vez hace sintetizar NGAL en hígado y pulmones (91). Al tratarse de una proteína inflamatoria, una de sus desventajas es que su concentración se ve aumentada en otros escenarios que no sean la DRA, como en el caso de pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica, insuficiencia cardíaca crónica y sepsis.

NGAL se ha podido medir en sangre y orina mediante Western-Blot y métodos de inmunoanálisis. Para su determinación hay también validados dispositivos POCT (*point of care testing* o dispositivos de análisis a pie de cama), lo que facilitaría su

potencial implementación en la práctica diaria. Otra ventaja a señalar es su cinética. Su pico de liberación acontece a las 2-4 horas tras la lesión renal, precediendo tanto a CyC y KIM-1 así como la sCr (92), por lo que ofrece la oportunidad del diagnóstico precoz de DRA (**Figura 14**).

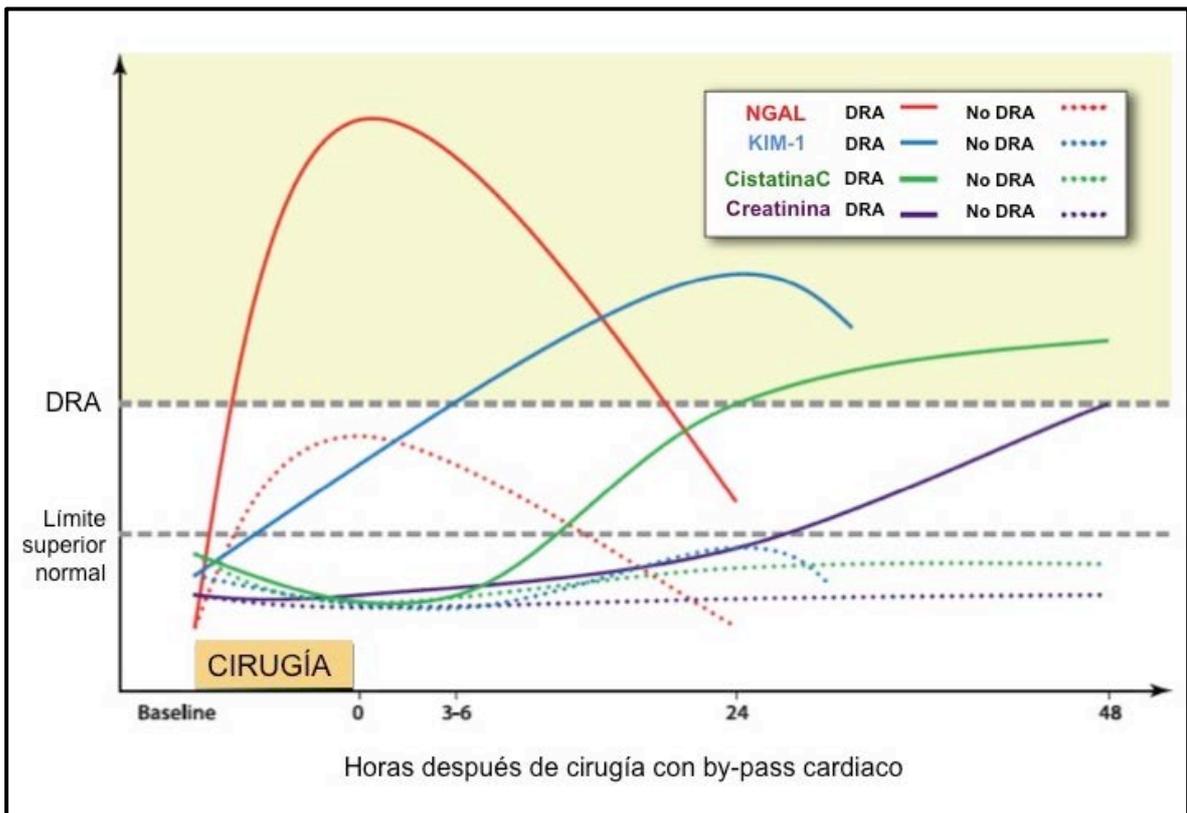


Figura 14. Esquema de la cinética de NGAL en plasma, KIM-1, cistatina C y creatinina plasmática en un modelo de disfunción renal aguda (DRA) en cirugía cardíaca. Adaptado de: *Macllroy. Anaesthesiology 2010 (92)*.

Uno de los primeros estudios clínicos publicados en 2005, presentaba NGAL en orina como un biomarcador para el diagnóstico de DRA asociada a cirugía cardíaca pediátrica casi perfecto, con una área bajo la curva (AUC) 0,99 y 1,0 a las 2h y 4h respectivamente tras iniciarse la circulación extracorpórea (93). Aunque existe evidencia que en pacientes críticos sometidos a cirugía cardíaca y/o nefrotóxicos la concentración de NGAL parece correlacionarse con la gravedad del DRA definida con la escala de RIFLE (94), dichos resultados casi

perfectos iniciales no han vuelto a reproducirse. Revisando la literatura, las AUC de NGAL plasmático oscilan entre 0,56 y 0,96, mientras que para NGAL urinario entre 0,61 y 0,98 (95)(96). Probablemente su variabilidad se deba a que la mayoría de los estudios se han realizado en poblaciones pequeñas y no siempre comparables. Existen varios estudios que sugieren que NGAL es también un predictor de DRA en pacientes adultos críticos médico-quirúrgicos (97) o traumáticos (98).

La determinación de NGAL como marcador precoz de DRA en pacientes con sepsis grave y shock séptico se ha utilizado sobretodo en pacientes pediátricos, confirmando una alta sensibilidad pero baja especificidad como predictor de DRA (99). El estudio Mårtensson *et al* en una población de 65 pacientes críticos es un ejemplo de ello. Entre sus resultados, se mostraba que si bien valores bajos de NGAL en plasma correlacionaban con la ausencia de DRA, en el mismo estudio aquellos paciente con SIRS, sepsis grave y shock séptico presentaban valores elevados de NGAL en plasma independientemente de la concurrencia de DRA (100). Esta es una situación relevante ya que en este contexto valores elevados de NGAL no pueden atribuirse al desarrollo de DRA. Dada la falta de especificidad, la mayoría de estudios en biomarcadores se han diseñado mediante paneles de varios biomarcadores. En 2010, Shapiro *et al* publicaron un estudio que analizaba el rendimiento diagnóstico de una amplia serie de biomarcadores de sepsis en pacientes que acudían a Urgencias (101). La concentración de NGAL circulante fue incluida en el panel definitivo junto con la IL-1ra y la proteína C reactiva (PCR) como un predictor de sepsis grave, shock séptico y muerte en pacientes con sospecha de sepsis. En dicho panel, el NGAL presentaba un área bajo la curva ROC de 0,80 para predecir la evolución a sepsis grave, de 0,77 para predecir el shock séptico y de 0,79 para predecir la mortalidad por todas las causas. Recientemente el grupo de Bagshaw publicó un estudio en pacientes críticos sépticos y no sépticos donde se estudiaban en orina las características microscópicas de sus muestras además de realizarse una determinación de NGAL (65). Ambas técnicas resultaron complementarias para el diagnóstico de DRA facilitando así la interpretación de valores de NGAL elevados en la población séptica.

En resumen, la concentración de NGAL en sangre y orina puede ser considerada un marcador diagnóstico y pronóstico de DRA (102), pero debe ser valorada con extrema cautela en contexto de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, sepsis y shock séptico. Además, se ha demostrado que el NGAL circulante es un marcador independiente de mortalidad en los pacientes críticos con DRA que requieren TRR (103).

- **Tissue inhibitor of metalloproteinases-2 (TIMP-2) e Insulin-like growth factor-binding protein 7 (IGFBP7)**

La DRA induce mecanismos de reparación para intentar recuperar el endotelio tubular. A pesar de ello, si el estímulo nocivo es muy intenso o se perpetúa en el tiempo, el daño renal se extiende al resto del tejido. Las células disponen de mecanismos protectores para evitar esta propagación. En estudios animales, se ha demostrado que las células entran en estado de quiescencia y paran su ciclo celular en fase G₁ cuando están expuestas a sepsis (104) o isquemia (105). Este paro celular acostumbra a producirse alrededor de 24-48 horas antes de que la sCr aumente como resultado de la caída del FG. TIMP-2 (*tissue inhibitor of metalloproteinases-2*) e IGFBP7 (*insulin-like growth factor-binding protein 7*) bloquean el efecto de moléculas implicadas en el ciclo celular mediante la acción de ciclinas y, en consecuencia, son marcadores moleculares de paro celular en fase G₁.

Las metaloproteinasas de la matriz (MMP) son endopeptidasas con contenido en zinc implicadas en la remodelación de la matriz celular. Estas proteínas están implicadas en procesos de neovascularización en condiciones fisiológicas (106) pero también en procesos metastásicos tumorales (107)(108). Los MMP's se clasifican en seis grupos en función de su sustrato y secuencia homóloga: colagenasas, gelatinasas, estromelinas, matrilisinas, MMPs de membrana y un último subgrupo miscelánea (109). La familia de TIMP son inhibidores endógenos específicos de las MMPs. Hay cuatro tipos de TIMP identificados en vertebrados, 1 a 4, con estructura proteica similar y dominios catalíticos para MMP. Cualquier TIMP inhibe todos los MMPs en mayor o menor medida, salvo TIMP-1 que no

inhibe MMP-14, -16 o -24. En el riñón, se expresan MMP-2, -3, -9, -13, -14, -24, -27 y -28; así como TIMP-1, -2, y -3.

Las *insulin-like growth factor binding proteins* (IGFBP) son una superfamilia de proteínas de aproximadamente 25-30kDa. Se clasifican en seis subgrupos. Aunque todas ellas comparten zonas homólogas y afinidad por IGF-1 (*Insulin-like growth factor 1*) e IGF-2, su función viene determinada por características estructurales que las permiten la interacción específica con las membranas celulares. IGF son mediadores primarios de la hormona de crecimiento. La proteína IGFBP7 está codificada por el gen *IGFBP7*. Se expresa en células endoteliales con colágeno tipo IV (lámina basal) (110). IGFBP7 tiene afinidad por IGF-1, por lo que modula la unión de IGF-1 a sus receptores (111)(112). También estimula la adhesión celular. Se postula que modula la acción del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) en la angiogénesis (113) y está implicada en algunos cánceres (114)(115)(116).

En resumen, la síntesis de TIMP-2 e IGFBP7 es desencadenada no sólo por isquemia (105) y/o sepsis (104) como anteriormente se ha citado, sino que también por procesos inflamatorios (117), estrés oxidativo (118), radiación ultravioleta, drogas y tóxicos (119)(120)(121). Mediante regulación autocrina y paracrina, TIMP-2 estimula la expresión de p27, mientras que IGFBP7 aumenta la expresión de p53 y p21. Tanto p27 como p53 y p21 bloquean el efecto de complejos proteína-quinasa ciclina-dependientes (CyclD-CDK4 y CyclE-CDK2) promotores de la replicación celular. Así, mediante este mecanismo las células entran en quiescencia en fase G₁ (**Figura 15**). Bloqueando la división y multiplicación celular se consigue limitar la extensión del daño celular, se evita la transmisión de genes dañados y se permite la reparación celular. Periodos prolongados en senescencia de las células tubulares renales promueven la síntesis y secreción de factores profibróticos, activación de pericitos y fibroblastos intersticiales. Este mecanismo produce envejecimiento del tejido renal, fibrosis y enfermedad renal crónica (122)(123).

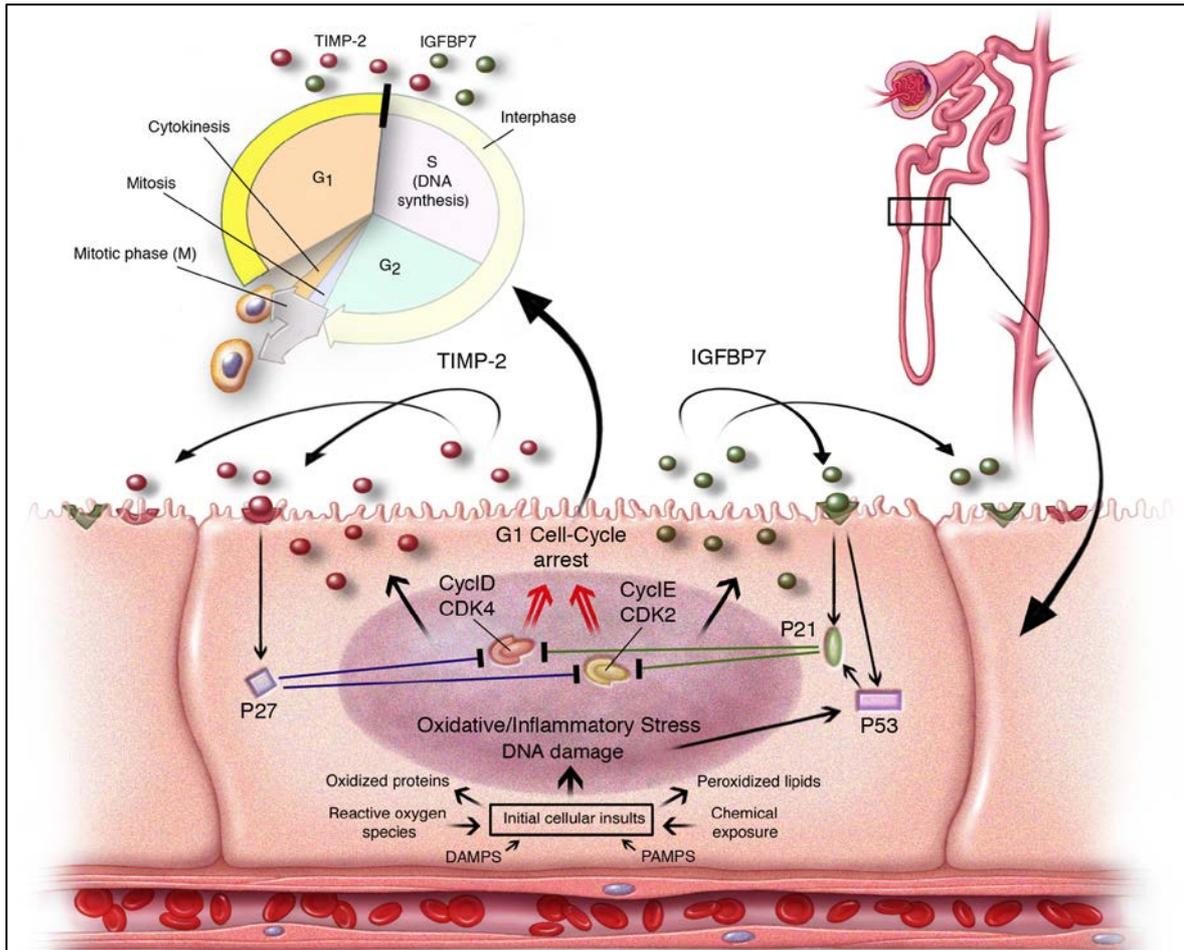


Figura 15. Rol de TIMP-2 e IGFBP7 en la disfunción renal aguda. De: Kashani. Crit Care 2013 (124).

Tanto TIMP-2 como IGFBP7 se pueden detectar en orina mediante ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay* o ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas). Esta técnica se basa en el reconocimiento de un complejo antígeno-anticuerpo mediante el uso de enzimas, bien unidas al antígeno o al anticuerpo.

Hay varios subtipos de ensayo de ELISA: directo o no competitivo, indirecto o competitivo y el tipo sándwich. En el *ELISA directo*, se tapiza la placa con el anticuerpo específico frente al antígeno a determinar. Después se añade el anticuerpo secundario marcado con una enzima, que en presencia de un sustrato da un producto coloreado soluble que puede medirse. El ensayo por *ELISA indirecto* se diferencia en que se añaden anticuerpos previamente incubados con la muestra, y que se unirán a los antígenos de los pocillos. El *ELISA tipo sándwich*

determina el antígeno mediante inmunocomplejos. Cada molécula de antígeno está unido a un anticuerpo en la base del pocillo que lo retiene, y un segundo anticuerpo lo marca. Este subtipo de ELISA tiene una gran especificidad y sensibilidad debido a la amplificación de señal producida por el segundo anticuerpo. ELISA es una técnica de laboratorio rutinaria y conceptualmente sencilla, pero en la que se debe ser cuidadoso con la selección de reactivos, temperatura y la medición de tiempos/volúmenes para obtener resultados precisos. Existen varios *kits* ELISA en el mercado a partir de anticuerpos de varias especies para la determinación de TIMP-2 e IGFBP7 que facilitan su estudio tanto a nivel básico como clínico.

El primer estudio de impacto sobre el uso de biomarcadores de quiescencia celular en la DRA del paciente crítico fue publicado en 2013 por Kashani *et al.* (124). Dicho estudio constaba de dos fases. En una primera fase de descubrimiento de nuevos BM, se reclutaron 522 pacientes provenientes de tres cohortes epidemiológicas. Se incluyeron pacientes con sepsis, shock, cirugía mayor y trauma. En una segunda fase (estudio Sapphire), se validó prospectivamente el panel de biomarcadores obtenido. El panel incluía KIM-1, NGAL, CyC, IL-18 y L-FABP entre otros nuevos biomarcadores. El estudio Sapphire reclutó 744 pacientes, excluyendo aquellos con ERC previa (KDIGO 2 o 3). El estudio concluía que la determinación conjunta de TIMP-2 e IGFBP7 era un buen biomarcador para la detección de la DRA, además de mejorar el pronóstico de eventos adversos. Casi simultáneamente, Aregger conducía un estudio con diseño parecido pero en una cohorte mucho más pequeña (125). Tras una primera fase de estudio proteómico en muestras urinarias de 92 pacientes con DRA, se halló que α_1 -microglobulina, α_1 -antitripsina, apolipoproteína D, calreticulina, catepsina D, CD59, IGFBP7 y NGAL podían ser potenciales biomarcadores de DRA. En una segunda fase se procedió a la validación de estos ocho biomarcadores en una cohorte de 64 pacientes. El estudio de Aregger apuntaba que IGFBP7 era biomarcador de DRA, así como de su gravedad y duración, aunque mostraba una AUC ROC alrededor de 0,7, capacidad predictiva más modesta que en el estudio de Kashani. De la lectura del trabajo de Kashani y Aregger se desprende que son ante todo estudios exploratorios. Por este motivo a

posteriori otros grupos han intentado reproducir los mismos resultados en poblaciones seleccionadas. Tanto el estudio de Bihorac *et al* (126) en una población de pacientes críticos médico-quirúrgicos, como el estudio de Meersch *et al* (127) en postoperados de cirugía cardíaca, mostraban una capacidad predictiva mayor a 0,8 en la curva ROC (*receiver operating characteristic curve*). A día de hoy, es mínimo el conocimiento sobre el comportamiento de TIMP-2 e IGFBP7 en la subpoblación de pacientes críticos afectados de sepsis.

3. HIPÓTESIS

En el presente trabajo doctoral se establecieron las siguientes hipótesis:

- Los valores elevados de TIMP-2 e IGFBP7 en muestras urinarias predicen la aparición de DRA en pacientes críticos.
- TIMP-2 e IGFBP7 son capaces de diagnosticar la DRA en la subpoblación de pacientes que presentan sepsis.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se obtuvo un biobanco de muestras biológicas humanas para el estudio de biomarcadores translacionales, incluyendo los detectables mediante técnicas de proteómica. El trabajo realizado en esta tesis consistió en el diseño de un estudio observacional prospectivo y abierto para la determinación de TIMP-2 e IGFBP7 en la misma cohorte de pacientes.

Los pacientes reclutados en ambos estudios eran ingresados en las UCI de dos centros, el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (HSCSP, Barcelona, España) y el Hospital Universitari de Bellvitge (HUB, Hospitalet de Llobregat, España). Antes de iniciarse el reclutamiento se obtuvo la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica así como la conformidad de la dirección de ambos centros (Anexos 9.1).

Se solicitó el consentimiento informado para ambos proyectos a todos los pacientes participantes en el estudio (Anexo 9.2 y 9.3). De darse el caso que el paciente careciera de capacidad para ello, el consentimiento se obtuvo de su representante legal. En cualquier momento, los pacientes o sus representantes legales pueden retirar su participación del estudio.

Se reclutaron pacientes con edad mayor a 18 años con previsión de ingreso en UCI de más de 48 horas, con o sin sospecha de enfermedad séptica. Los pacientes debían proceder del servicio de urgencias o de el área quirúrgica urgente (con una estancia menor de 48 horas).

Los criterios de exclusión fueron:

- Embarazadas.
- Pacientes ya ingresados en la sala hospitalaria.
- Pacientes que ya hayan sido incluidos previamente en el estudio.
- Pacientes que hayan presentado un ingreso hospitalario en los dos meses previos al episodio actual.
- Pacientes con diagnóstico de DRA y anuria en el momento de ingreso.
- Pacientes con ERC y FG estimado inferior a 30 mL/min/1,73m².
- Pacientes que careciesen de acceso venoso para la obtención de muestras sanguíneas al mismo ingreso en UCI.
- Carecer de consentimiento informado firmado.
- Pacientes cuya gravedad al ingreso anticipaba una expectativa de vida menor a las 48 horas.

El valor de creatinina basal para cada paciente procedía de la concentración de creatinina más reciente en el último año registrada en el servidor CatSalut (servidor del Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya) o, en su defecto, de los archivos del propio hospital. Dichos valores de creatinina plasmática fueron usados para la estimación del FG mediante la fórmula de Cockcroft-Gault.

4.2. PROTOCOLO DEL ESTUDIO

4.2.1. RECOGIDA DE DATOS DEMOGRÁFICOS Y CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS

Se diseñó un formulario en MS-Access para la recogida y entrada de datos (**Figura 16**). Se incluía los datos demográficos de cada paciente (edad, sexo, peso, talla), fecha de ingreso, fecha de alta de UCI y hospitalaria, así como la mortalidad a 28 y 90 días. Se calcularon los *scores* de gravedad APACHE II

(Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) (128), SAPS II (Simplified Acute Physiology Score) (129) y SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) (130).

Figura 16. Hoja de recogida de datos.

DATOS de FILIACION		EVOLUCIÓN		ANTECEDENTES PATOLÓGICOS	
Número paciente	<input type="text"/>	Exitus UCI	<input type="checkbox"/>	Shock	<input type="checkbox"/>
Hospital	<input type="text"/>	Exitus antes 28 d	<input type="checkbox"/>	Shock séptico	<input type="checkbox"/>
Día de ingreso	<input type="text"/>	Exitus antes 90 d	<input type="checkbox"/>	SDRA primario	<input type="checkbox"/>
Día de alta / exitus	<input type="text"/>	Creatinina BASAL	<input type="text"/>	SDRA secundario	<input type="checkbox"/>
Días de estancia UCI	<input type="text"/>	RRT antes de 48 horas	<input type="checkbox"/>	FRA pre-renal	<input type="checkbox"/>
Días estancia Hospital	<input type="text"/>	RRT en 28d	<input type="checkbox"/>	Hipovolemia	<input type="checkbox"/>
Edad	<input type="text"/>	Día de inicio de RRT	<input type="text"/>	Sepsis	<input type="checkbox"/>
Sexo	<input type="text"/>	Recovery renal en ingreso	<input type="checkbox"/>	FRA renal	<input type="checkbox"/>
Peso	<input type="text"/>	APACHE-II	<input type="text"/>		
Estatura	<input type="text"/>	SAPS-II	<input type="text"/>		
Tipo de INGRESO Ingreso médico <input type="checkbox"/> M-Cardiovascular <input type="checkbox"/> M-Respiratorio <input type="checkbox"/> M-Neurológico <input type="checkbox"/> M-Gastrointestinal <input type="checkbox"/> M-Intoxicación <input type="checkbox"/> M-Hematológico <input type="checkbox"/> M-Genitourinario <input type="checkbox"/> M-Otros <input type="text"/>		Ingreso quirúrgico <input type="checkbox"/> Q-Tórax <input type="checkbox"/> Q-Abdominal <input type="checkbox"/> Q-Cardiológico <input type="checkbox"/> Q-SNC <input type="checkbox"/> Q-Otros <input type="text"/> Ingreso traumático <input type="checkbox"/>		Diabetes <input type="checkbox"/> Hipertensión <input type="checkbox"/> Cardiopatía <input type="checkbox"/> EPOC <input type="checkbox"/> Neoplasia Hematológica <input type="checkbox"/> Neoplasia Sólida <input type="checkbox"/> Corticodependiente <input type="checkbox"/> Fracaso renal crónico <input type="checkbox"/> Trasplante renal <input type="checkbox"/> Hepatopatía <input type="checkbox"/> HIV / SIDA <input type="checkbox"/> Toma nefrotóxicos antes ingreso <input type="checkbox"/> Diuréticos? <input type="checkbox"/> Aminoglucósidos <input type="checkbox"/> Vancomicina? <input type="checkbox"/> Inmunosupresores <input type="checkbox"/>	
0-Temperatura >=38 o <=36° <input type="checkbox"/> 0-Fc >=90 <input type="checkbox"/> 0-Fr >=20 o CO2 <=32 o VM <input type="checkbox"/> 0-Leucos >=12000 o <=4000 o 10% bandas <input type="checkbox"/> 0-Infección? <input type="checkbox"/> 0-Disfunción orgánica? <input type="checkbox"/> 0-Hematológico <input type="checkbox"/> 0-Renal <input type="checkbox"/> 0-Respiratorio <input type="checkbox"/> 0-Acidosis Metabólica <input type="checkbox"/> 0-Vasoconstrictores <input type="checkbox"/> 0-PaO2/FIO2 <input type="text"/> 0-Plaquetas <input type="text"/> 0-Bilirrubina <input type="text"/> 0-Creatinina <input type="text"/> 0-Glasgow <input type="text"/> 0-Hipotensión <input type="text"/> RIFLE-0 <input type="text"/> RRT-0 <input type="checkbox"/> Neutrófilos-0 <input type="text"/> Cockcroft-Gault <input type="text"/> PCR-0 <input type="text"/> Lactato-0 <input type="text"/> Bicarbonato-0 <input type="text"/>		1-Temperatura >=38 o <=36° <input type="checkbox"/> 1-Fc >=90 <input type="checkbox"/> 1-Fr >=20 o CO2 <=32 o VM <input type="checkbox"/> 1-Leucos >=12000 o <=4000 o 10% bandas <input type="checkbox"/> 1-Infección? <input type="checkbox"/> 1-Disfunción orgánica? <input type="checkbox"/> 1-Hematológico <input type="checkbox"/> 1-Renal <input type="checkbox"/> 1-Respiratorio <input type="checkbox"/> 1-Acidosis Metabólica <input type="checkbox"/> 1-Vasoconstrictores <input type="checkbox"/> 1-PaO2/FIO2 <input type="text"/> 1-Plaquetas <input type="text"/> 1-Bilirrubina <input type="text"/> 1-Creatinina <input type="text"/> 1-Glasgow <input type="text"/> 1-Hipotensión <input type="text"/> RIFLE-1 <input type="text"/> RRT-1 <input type="checkbox"/> Neutrófilos-1 <input type="text"/> Balance hídrico-1 <input type="text"/> Pérdidas insensibles-1 <input type="text"/> Cockcroft-Gault-1: <input type="text"/> PCR-1 <input type="text"/> Lactato-1 <input type="text"/> Bicarbonato-1 <input type="text"/>		2-Temperatura >=38 o <=36° <input type="checkbox"/> 2-Fc >=90 <input type="checkbox"/> 2-Fr >=20 o CO2 <=32 o VM <input type="checkbox"/> 2-Leucos >=12000 o <=4000 o 10% bandas <input type="checkbox"/> 2-Infección? <input type="checkbox"/> 2-Disfunción orgánica? <input type="checkbox"/> 2-Hematológico <input type="checkbox"/> 2-Renal <input type="checkbox"/> 2-Respiratorio <input type="checkbox"/> 2-Acidosis Metabólica <input type="checkbox"/> 2-Vasoconstrictores <input type="checkbox"/> 2-PaO2/FIO2 <input type="text"/> 2-Plaquetas <input type="text"/> 2-Bilirrubina <input type="text"/> 2-Creatinina <input type="text"/> 2-Glasgow <input type="text"/> 2-Hipotensión <input type="text"/> RIFLE-2 <input type="text"/> RRT-2 <input type="checkbox"/> Neutrófilos-2 <input type="text"/> Balance hídrico-2 <input type="text"/> Pérdidas Insensibles-2 <input type="text"/> Cockcroft-Gault-2: <input type="text"/> PCR-2 <input type="text"/> Lactato-2 <input type="text"/> Bicarbonato-2 <input type="text"/>	

Información para rellenar la Hoja de recogida de Dato

Sexo:

Mujer=0

Varón=1

Estatura en centímetros

Peor RIFLE: Es aquel peor durante su estancia en UCI

Creatinina basal: Es la creatinina del paciente antes del ingreso si es posible obtener

RRT: técnicas de reemplazo renal

Recovery renal en ingreso: Si a pesar que el paciente ha presentado fracaso renal, éste ha mejorado y recuperado función renal normal durante el ingreso

Shock: Si ha presentado cualquier tipo de shock durante su ingreso

Shock séptico: En concreto si ha presentado shock séptico durante su ingreso

SDRA primario: Si es que ha presentado SDRA, si era de origen pulmonar primario

SDRA secundario: Idem para aquellos pacientes con SDRA de origen no respiratorio

FRA pre-renal: Si se cree que en el caso que haya presentado FRA éste es de origen pre-renal

FRA renal: Si se cree que en el caso que haya presentado FRA éste es de origen renal

SOFA SCORE (pre-treat) (SOFA):					
Record the worst score for the calendar day (circle one for each). If not assessed, enter 'Not assessed'.					
	0	1	2	3	4
Respiration PaO ₂ /FiO ₂ (torr)	>400	≤400	≤300	≤200 With respiratory support	≤100 With respiratory support
Coagulation Platelets (x10 ³ /mm ³)	>150	≤150	≤100	≤50	≤20
Liver Bilirubin (mg/dL) (µmol/L)	<1.2 <20	1.2-1.9 20-32	2.0-5.9 33-101	6.0-11.9 102-204	>12.0 >204
Cardiovascular Hypotension	No hypotension	MAP <70 mmHg	Dopamine ≤5 or dobutamine [†] (any dose)	Dopamine >5 or epi ≤0.1 or norepi ≤0.1*	Dopamine >15 or epi >0.1 or Norepi >0.1*
Central Nervous System Glasgow Coma Score	15	13-14	10-12	6-9	<6
Renal Creatinine (mg/dL) (µmol/L) or urine output	<1.2 <110	1.2-1.9 110-170	2.0-3.4 171-259	3.5-4.9 300-440 or <500 mL/day	>5.0 >440 or <200 mL/day

[†] epinephrine, norepi, norepinephrine
 renergic agents administered for at least 1 hour (doses given are in µg/kg/min).
 To convert torr to kPa, multiply the value by 0.1333

Estos scores son de uso rutinario en UCI. A nivel individual estiman la gravedad del paciente y la mortalidad asociada al ingreso; aplicados al conjunto de pacientes críticos ingresados en un periodo definido de tiempo, son indicadores de la complejidad de la unidad y sirven como parámetro a comparar tanto en auditorias como en investigación.

Se consideraron los antecedentes médicos. Éstos incluían factores de riesgo cardiovascular, respiratorio y enfermedad maligna. Tanto la creatinina plasmática basal (previa al ingreso), la presencia de ERC y la exposición previa a fármacos nefrotóxicos tenían entradas específicas en el formulario. Se catalogó a los pacientes en distintos grados de DRA en función de la clasificación AKIN y RIFLE. Una vez ingresados en UCI, se calculó el eGFR a su llegada a la unidad, al primer y al segundo día de ingreso a partir de muestras de orina recogidas en dichos intervalos de tiempo. Los pacientes también fueron identificados por la presencia sepsis y shock séptico siguiendo sus definiciones standard (ver página 33). Por último, también se codificó la causa de ingreso en UCI, diferenciando entre la médica, quirúrgica o traumatológica.

4.2.2. VARIABLES FISIOLÓGICAS Y ANÁLISIS BIOQUÍMICO

En el protocolo se registran las variables fisiológicas y estudios analíticos en tres diferentes tiempos: al ingreso en UCI (día 0, TP0), y simultáneamente con las muestras rutinarias de las analíticas de la mañana (06:00 AM) de los días +1 (TP1) y +2 (TP2) de ingreso en UCI (Anexo 9.5). Este sistema facilitaba la adherencia a la recogida y procesamiento de muestras del protocolo. Las determinaciones analíticas se realizaron de acuerdo a los protocolos de los Laboratorios Clínicos de los dos centros, sin que se observara discrepancia entre los resultados de ambos (datos no mostrados). Al tratarse de variables medidas con métodos estandarizados, para el análisis de sCr y creatinina urinaria ambos centros utilizan método cinético de Jaffé automatizado.

Se obtuvieron muestras extra de sangre y orina en cada tiempo del estudio. Las muestras de sangre y orina se centrifugaron durante 10 minutos a 1.500 rpm. En cada muestra se separó el sobrenadante libre de células o sedimentos. De cada muestra se obtuvieron entre 4 y 6 alícuotas de 0,5mL. Éstas fueron anónimamente identificadas por el personal del laboratorio e inmediatamente preservadas a $\leq -70^{\circ}\text{C}$. Todas las muestras se remitieron y se conservan congeladas en el Laboratorio Clínico del Departamento de Bioquímica del HSCSP.

- **Análisis de TIMP-2 e IGFBP7**

La FDA (*United States Food and Drug Administration*) aprobó en septiembre de 2014 el uso de Nephrocheck[®] Test (Astute Medical, San Diego, Estados Unidos) como herramienta para la identificación de pacientes críticos en riesgo de DRA en las primeras 12 horas de ingreso (131) (**Figura 17**).

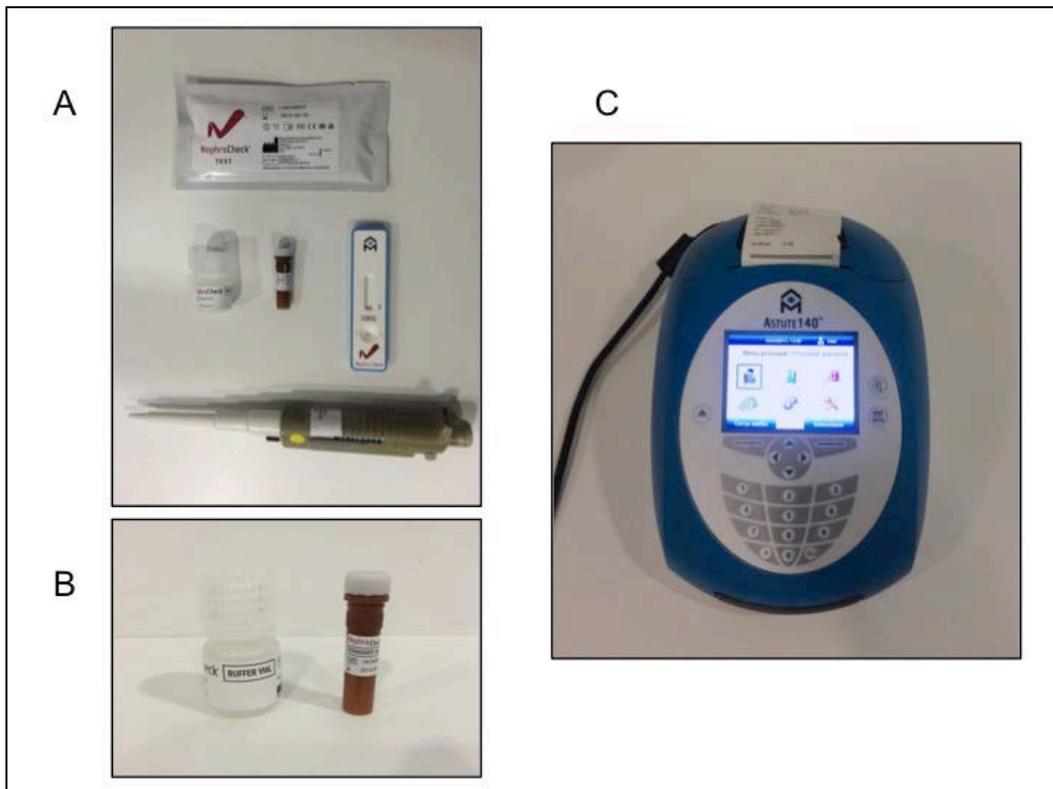


Figura 17. Dispositivo Nephrocheck[®] Test. A. Set para el procesamiento de muestras, incluyendo viales, cartucho y pipeta de 100 µL. B. Viales con solución tampón y del conjugado de anticuerpos. C. Dispositivo de lectura Astute140[®] Meter.

TIMP-2 e IGFBP7 fueron analizados con un dispositivo que realiza un análisis cuantitativo mediante inmunoensayo ELISA tipo sándwich. Ambos biomarcadores se median en muestras urinarias. Las alícuotas fueron descongeladas a temperatura ambiente y centrifugadas a 3.000 rpm durante 15 minutos. Se utilizó el sobrenadante para los análisis. A las alícuotas se les añade una solución que

contiene anticuerpos murinos monoclonales y anticuerpos de cabra policlonales contra TIMP-2 e IGFBP7, un marcador fluorescente, estabilizantes y excipientes. La mezcla se añade a un cartucho específico, donde difunde a través de una membrana que contiene anticuerpos anti- TIMP-2 e IGFBP7. La mezcla se introduce en el dispositivo de lectura Astute140[®] Meter. La señal de fluorescencia producida por la reacción antígeno-anticuerpo sirve para el cálculo cuantitativo de ambos BM. Tras 20 minutos de incubación, el dispositivo proporciona un valor único o índice en $((\text{ng/mL})^2/1000)$, resultado de la incorporación a un cálculo algorítmico de la determinación de ambos BM. El Nephrocheck[®] Test categoriza en bajo riesgo para DRA a pacientes que presentan un índice $\leq 0,3 ((\text{ng/mL})^2/1000)$, en riesgo elevado si el índice se halla entre 0,3 y 2,0 $((\text{ng/mL})^2/1000)$, y de riesgo muy elevado para índice $> 2 ((\text{ng/mL})^2/1000)$. El sistema Astute140[®] Meter está calibrado con una solución y un cartucho estándares que aporta el fabricante.

La imprecisión intraserial, interserial e interdías del método en muestras de orina fresca es inferior al 15% en todos los casos para un rango de valores comprendido entre 0,14 y 8,55 $((\text{ng/mL})^2/1000)$. El rango de valores en los que el método es lineal es de 0,04 a 10,0 $((\text{ng/mL})^2/1000)$ (**Figura 18**). El método no presenta efecto “gancho” hasta valores de 250 $((\text{ng/mL})^2/1000)$.

El límite del blanco (LoB) es igual a 0,0002 $((\text{ng/mL})^2/1000)$ y los límites de detección (LoD) y cuantificación (LoQ) de 0,002 $((\text{ng/mL})^2/1000)$. El valor límite para indicar bajo riesgo de DRA (0,3 $((\text{ng/mL})^2/1000)$) es muy superior al límite de cuantificación (0,002 $((\text{ng/mL})^2/1000)$); igualmente, el valor límite para indicar riesgo alto de DRA (2,0 $((\text{ng/mL})^2/1000)$) es muy inferior al valor máximo de linealidad (10,0 $((\text{ng/mL})^2/1000)$) y al valor (250 $((\text{ng/mL})^2/1000)$) en que el método no presenta efecto gancho. En consecuencia, el método presenta unas características analíticas adecuadas en el rango de valores usados para la clasificación del riesgo de DRA.

La reacción cruzada del método se ha evaluado frente distintos compuestos, incluyendo aquellos más utilizados en los pacientes ingresados en unidades

críticas como: contrastes radiográficos, expansores del plasma, fármacos, proteínas estructuralmente semejantes a TIMP-2 o IGFBP7 o constituyentes habituales de la orina. Sólo dos constituyentes de interés biológico produjeron una reacción cruzada superior al 10% con el método: la bilirrubina conjugada y la albúmina a concentraciones de 72 mg/L y 1,25 g/L, respectivamente. En la presente tesis no se detectaron muestras con coluria macroscópica y la enfermedad renal crónica fue uno de los criterios de exclusión del estudio.

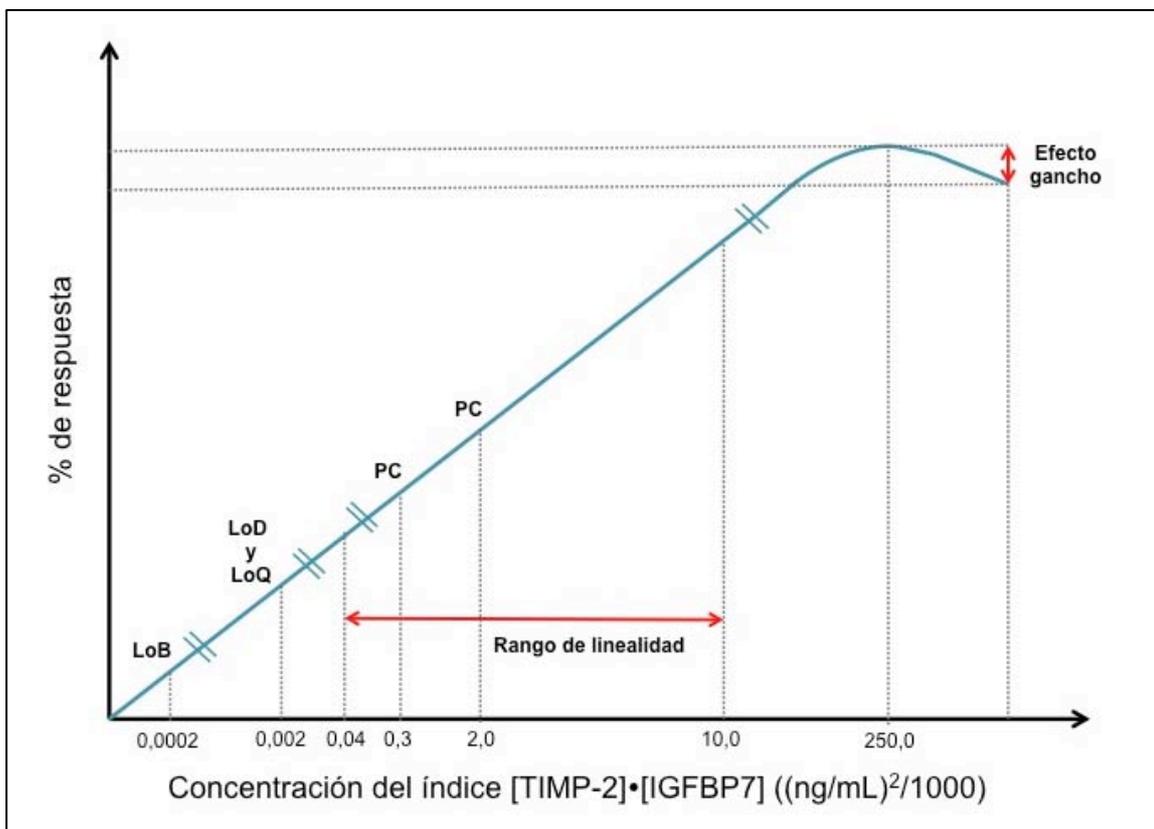


Figura 18. Representación gráfica de las características analíticas de Nephrocheck® Test.

Abreviaturas: LoB, límite del blanco; LoD, límite de detección; LoQ, límite de cuantificación; PC, punto de corte.

4.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tras la recogida de datos en la base MS-Access, se procedió a su depuración. En una primera etapa de análisis estadístico, se realizó un estudio de normalidad de las variables continuas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Las variables con distribución Gaussiana se expresaron como media \pm desviación estándar. Para comparar las variables continuas con distribución normal se usó el test t de Student o el análisis de la variancia. Para aquellas variables con distribución no Gaussiana, la comparación se realizó mediante los test U de Mann-Whitney o el test de Kruskal-Wallis. Las variables se expresaron como mediana y rango intercuartílico. Las variables categóricas se expresaron como porcentaje. Los datos fueron comparados mediante el test de Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher para frecuencias esperadas por casilla menores a 5.

Se aplicó la corrección de Bonferroni para la comparación emparejada de múltiples variables. Esta técnica estadística permite ajustar el nivel de significación en el caso de comparaciones múltiples. El nivel de significación corresponde al error tipo 1 dividido por el número de comparaciones a realizar. El error tipo 1 aceptado durante todo el estudio es el standard en 5%, equivalente a un valor de significación $p < 0,05$.

El *outcome* primario del estudio fue la predicción de DRA mediante el índice de riesgo [TIMP-2]·[IGFBP7]. Para el análisis estadístico se usó el peor valor de dicho índice durante las primeras 12 horas de ingreso en UCI. En una primera fase, se realizó un análisis de regresión logística univariante para identificar aquellas variables que pudiesen actuar de forma independiente como factores predictivos de DRA. Se incluyeron todas las variables demográficas, epidemiológicas, fisiológicas y analíticas que mostraron diferencias estadísticas en el estudio descriptivo de la población agrupadas según la presencia de DRA y/o sepsis. Aquellas variables que fueron estadísticamente significativas en el modelo univariante fueron incluidas en un modelo de regresión logística multivariante. Como estudio de asociación, se obtuvo la *odds ratio* (OR o razón de riesgo) de las variable/s significativas en la ecuación logística.

Para valorar la utilidad diagnóstica de [TIMP-2]·[IGFBP7] en el pronóstico de DRA se evaluó el área bajo la curva (AUC) de la curva ROC. El uso de AUC ROC es un método ampliamente aceptado en la descripción de nuevos biomarcadores ya que es intuitivo y facilita la comparación entre diferentes herramientas diagnósticas/pronósticas independientemente de sus unidades. El AUC ROC resume la sensibilidad y especificidad de una prueba diagnóstica o pronóstica en diferentes puntos de corte (en este caso, a diferentes concentraciones del biomarcador). La interpretación consiste en la probabilidad de clasificación correcta para pacientes con y sin el resultado clínico evaluado. Es de vital importancia que la interpretación se realice bajo un criterio clínico. Estadísticamente un nuevo biomarcador ideal debería mostrar una sensibilidad y especificidad cercanas ambas al valor 1. En la práctica, según las características de la enfermedad a estudio, la ventaja de un nuevo biomarcador puede residir en una alta sensibilidad para detectar/pronosticar una enfermedad con una mortalidad muy elevada a costa de valores más bajos de especificidad, o viceversa. Qué valores de sensibilidad y especificidad son adecuados para el nuevo biomarcador se basarán en el conocimiento detallado sobre la enfermedad de estudio y el juicio clínico. Los valores de AUC oscilan entre 0,5 y 1. La capacidad de discriminatoria predictiva o pronóstica se agrupa generalmente en los siguientes rangos(132):

- no útil – para AUC 0,5 a 0,59
- pobre – AUC 0,6 a 0,69
- regular – AUC 0,7 a 0,79
- buena – AUC 0,8 a 0,89
- excelente – AUC 0,9 a 1

Tanto para AUC ROC como la OR los datos se presentan con intervalo de confianza (IC) del 95% y significación *p*. El IC es relevante por dos motivos principales. En primer lugar, las variables con IC muy amplio muestran menor precisión. En segundo lugar, aquellas OR cuyo IC incluya el valor crítico 1 no presentan significación estadística, puesto que la frecuencia del evento en estudio se presenta igualmente tanto en el grupo expuesto como en el que no.

A partir de los resultados obtenidos del estudio de la curva ROC, se analizó la sensibilidad, especificidad, los valores predictivos positivos (VPP) y los valores predictivos negativos (VPN) para el desarrollo de DRA y uso de TRR en función de distintos valores de [TIMP-2].[IGFBP7]. Este análisis de la curva ROC fue usado para determinar el mejor límite de decisión de [TIMP-2].[IGFBP7] para la predicción de cualquier grado de DRA y de DRA de gravedad AKIN ≥ 2 en nuestra cohorte.

Se usó el paquete estadístico IBM®SPSS® versión 21 (IBM corp., Armonk, NY). Todos los análisis estadísticos de la presente Tesis Doctoral han sido desarrollados por la doctoranda, quien como complemento en los estudios de doctorado obtuvo la Diplomatura de Posgrado “Diseño y Estadística en Ciencias de la Salud” en la Universitat Autònoma de Barcelona en 2012. El estudio estadístico fue asimismo revisado por ambos directores de tesis y el Dr. Gich Saladich del Servicio de Epidemiología y Salud Pública del HSCSP.

5. RESULTADOS

5.1. RECLUTAMIENTO DEL ESTUDIO

El período de reclutamiento se extendió desde junio de 2011 a abril de 2013, iniciándose primero en el HSCSP y acabándose en el HUB. Hasta el 1 de noviembre de 2011 se reclutaron 10 pacientes en el HSCSP, en una primera fase piloto en la que el equipo de investigación se cercioró de la factibilidad del diseño del protocolo así como de los circuitos para la recogida y procesamiento de muestras.

En la UCI del HSCSP se admite un promedio de 480 pacientes de forma anual. La procedencia de las áreas de atención médica aguda respecto el conjunto de pacientes ingresados en UCI durante el período del estudio se subdividió en:

- Departamento de Urgencias: 35% al 41% .
- Servicio de Emergencias Médicas (SEM): 7% al 12%.
- Departamento de Semicríticos (o cuidados intermedios): 18 al 19%.
- Sala de reanimación (tras cirugía urgente/emergente): 17 al 18%.

En la UCI del HUB se ingresaron 1654 pacientes durante los 16 meses en los que se realizó el reclutamiento en el centro. A pesar del gran volumen de pacientes ingresados en la UCI, la procedencia de áreas de atención médica urgente se limitaba a un 33,1% del total (548 pacientes). En concreto, los pacientes procedían de:

- Departamento de Urgencias: 11,5% del volumen total de ingresos en la UCI.
- Servicio de Emergencias Médicas (SEM): 17,4%.
- Sala de Reanimación tras cirugía urgente: 4,2%.

Potencialmente unos 400 pacientes por año y unidad podían participar en el estudio. Solamente alrededor de una octava parte, en concreto 221 individuos, cumplieron los criterios clínicos de inclusión y fueron candidatos reales. De todos ellos, se excluyeron 102 pacientes en los que el intervalo de tiempo entre TP0 (ingreso en UCI) y TP1 (mañana siguiente al ingreso) se producía en > 12 horas. Este hecho forzaba el reclutamiento de pacientes en los turnos de tarde y noche. Además, se excluyeron 19 pacientes en quienes, a pesar de obtenerse muestras de orina, se carecía de alguna de sus muestras de plasma. Finalmente, de los 100 pacientes reclutados restantes, se excluyeron 2 por no disponer de alguna de las muestras en TP0 y TP1 (**Figura 19**).

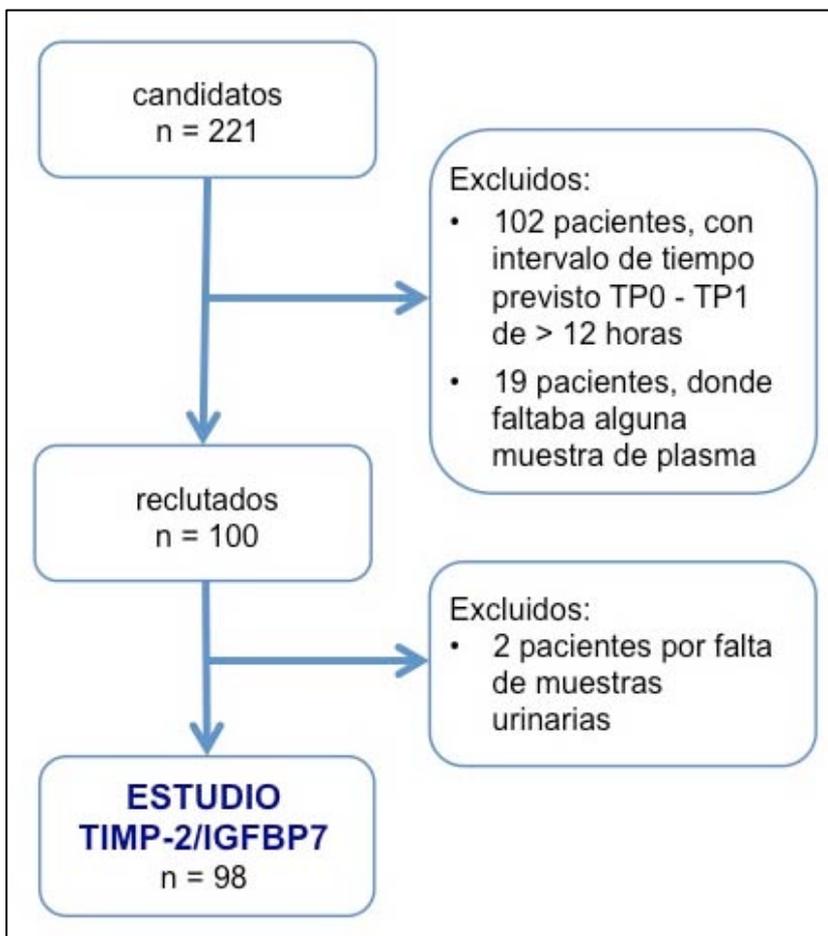


Figura 19. Diagrama de flujo de reclutamiento del estudio.

El estudio se diseñó para medir TIMP-2 e IGFBP7 en dos muestras urinarias seriadas (TP 0 y 1) durante las primeras 12 horas de ingreso en UCI. La decisión de restringir el período ventana de estudio de estos BM a un máximo de 12 horas se tomó de acuerdo con la cinética descrita en la literatura, que indicaba que el valor máximo de TIMP-2 e IGFBP7 se presentaba en ese intervalo (127). Sólo aquellos pacientes cuyos dos TP iniciales se comprendieran en este período de tiempo podían ser finalmente incluidos, por lo que los pacientes reclutados fueron ingresados durante los turnos de guardia de tarde o noche en la UCI. Debido al diseño pragmático del estudio, el segundo TP en el protocolo coincidía con la recogida habitual de muestras entre las 06:00 AM y las 07:00 AM. Como consecuencia del volumen de analíticas procesadas en la UCI a esa hora, las muestras se enviaban al laboratorio inmediatamente después de su extracción conjuntamente con las muestras rutinarias. El tiempo de recogida de la muestra detallado en la correspondiente base de datos es el de registro de entrada al laboratorio clínico del hospital. Este hecho explica la inclusión de 5 pacientes cuyo TP1 se produjo pocos minutos después de las 07:00 AM.

El registro del laboratorio mostró como el intervalo de tiempo entre el ingreso en UCI y la segunda muestra procesada se producía en una mediana (Md) de 8 horas (rango intercuartílico (RI) de 5 a 12 horas). Se estudió la distribución del reclutamiento de los pacientes según si ulteriormente presentaron DRA (Md 9 horas con RI de 5,5 a 12 horas para los pacientes que no presentaron DRA; Md 8 horas y RI 5 a 12 horas para aquellos que sí presentaron DRA), así como por subgrupos según presencia de sepsis al ingreso en UCI (Md 8 horas y RI 5,75 a 12 horas para los pacientes no sépticos; Md 8,5 horas con RI 5 a 12 horas para los pacientes sépticos). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los subgrupos (DRA, $p= 0,644$; sepsis, $p= 0,974$).

La **Figura 20** muestra el histograma del tiempo de recogida de muestras entre los TP0 y TP1 en el total de los pacientes así como clasificados en función de la incidencia de DRA en algún momento del ingreso y sepsis al ingreso en la unidad.

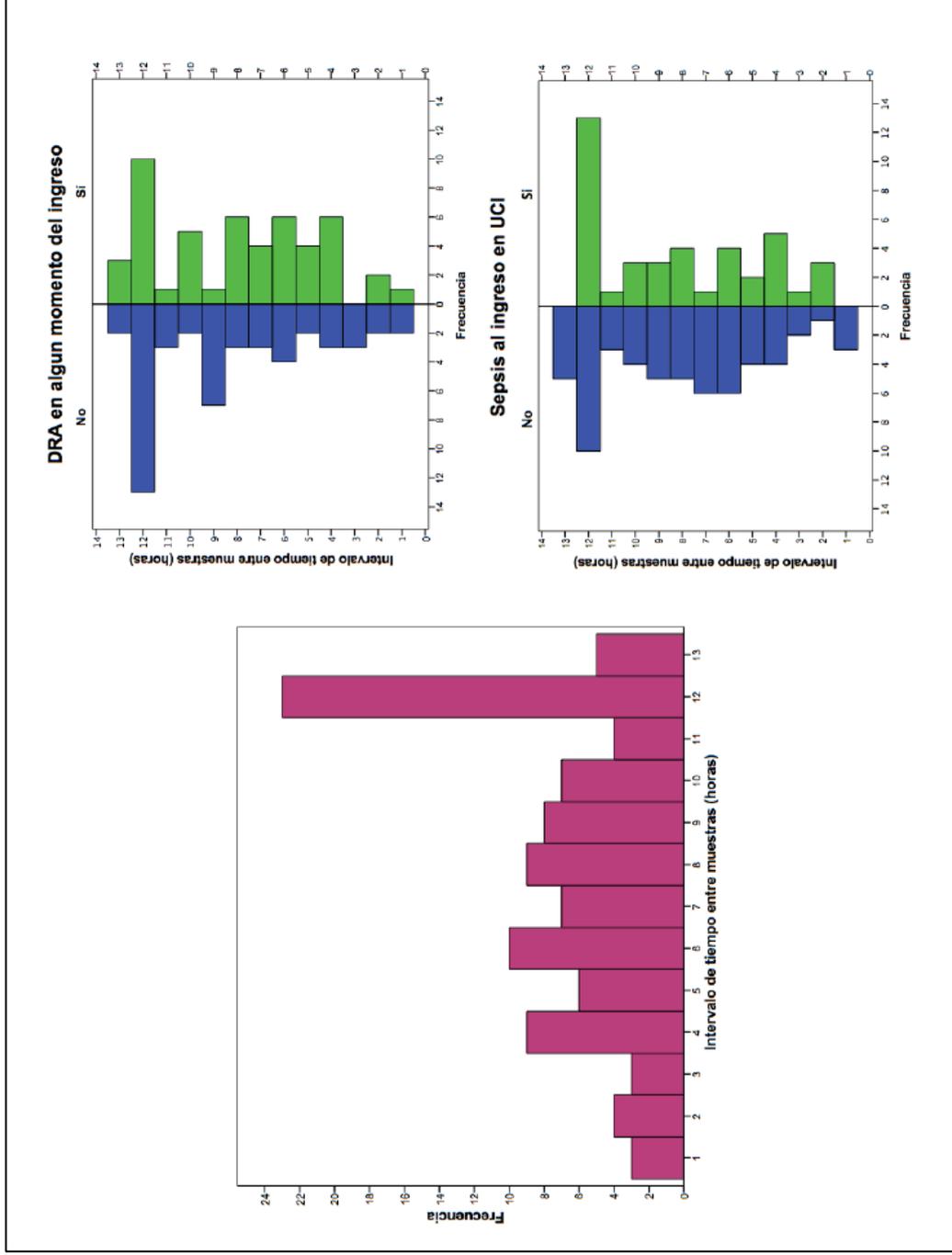


Figura 20. Histograma representación del tiempo transcurrido entre la primera y segunda muestra urinaria en el total de pacientes del estudio, así como en los subgrupos de pacientes con y sin disfunción renal aguda (DRA) y con o sin sepsis.
 Abreviatura: UCI, Unidad de Cuidados Intensivos.

5.2. INCIDENCIA DE DISFUNCIÓN RENAL AGUDA Y SEPSIS

Al ingreso en UCI 44 de los 98 pacientes incluidos en el estudio presentaban algún grado de DRA definido por AKIN (**Tabla 6**). La incidencia de DRA en cada TP fue reduciéndose, sobretodo a expensas de los pacientes categorizados con DRA leve o moderada. Aunque la incidencia de AKIN 3 permaneció baja, casi se duplicó durante el ingreso. Al categorizar los pacientes según la clasificación RIFLE, había más pacientes sin DRA que al categorizar mediante AKIN. La incidencia de pacientes con DRA leve, o en Riesgo, era menor que la correspondiente en gravedad AKIN 1 para TP0, TP1 y TP2. Los estudios de Chertow (35) y Lassnigg (36) habían mostrado que la clasificación AKIN permitía asociar la DRA a eventos adversos como los días de hospitalización y mortalidad. Teniendo en cuenta nuestros datos y lo expuesto en la literatura, se decidió usar la clasificación AKIN para la definición de DRA en el resto del estudio para la mejor caracterización del índice [TIMP-2].[IGFBP7] y su posterior evaluación de la capacidad pronóstica de DRA.

Teniendo en cuenta que algunos de los pacientes cambiaron de categoría a lo largo del tiempo, bien por empeoramiento de la función renal o por su recuperación, al final de su estancia en UCI 49 individuos presentaron DRA de mayor o menor intensidad categorizados por cualquiera de las dos clasificaciones.

Por otro lado, al ingreso en UCI 42 pacientes presentaban algún tipo de infección, aunque sólo 40 de ellos (40,8%) cumplían los criterios de sepsis con las más recientes definiciones de consenso de 2003 (1) y 2016 (47). La incidencia de shock séptico al ingreso fue 19,4%.

Tabla 6. Incidencia de DRA definida por las clasificaciones AKIN y RIFLE.

Abreviaturas: DRA; Disfunción Renal Aguda; TP0, *Time-Point* 0 (momento de ingreso en UCI); TP1, *Time-Point* 1 (mañana posterior al ingreso); TP2, *Time-Point* 2 (mañana del segundo día postingreso).

		TP 0	TP 1	TP 2	Peor AKIN estancia en UCI		TP 0	TP 1	TP 2	Peor RIFLE estancia en UCI
No DRA		54 (55,1%)	68 (69,4%)	78 (79,6%)	49 (50%)		58 (59,2%)	69 (70,4%)	80 (81,6%)	49 (50%)
DRA		44 (44,9%)	30 (30,6%)	20 (20,4%)			40 (40,8%)	29 (29,6%)	18 (18,4%)	
	1	19 (19,4%)	16 (16,3%)	5 (5,1%)	18 (18,4%)	R	15 (15,3%)	15 (15,3%)	3 (3,1%)	18 (18,4%)
	2	20 (20,4%)	8 (8,2%)	6 (6,1%)	20 (20,4%)	I	20 (20,4%)	8 (8,2%)	6 (6,1%)	20 (20,4%)
	3	5 (5,1%)	6 (6,1%)	9 (9,2%)	11 (11,2%)	F	5 (5,1%)	6 (6,1%)	9 (9,2%)	11 (11,2%)

5.3. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN

5.3.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y ANTECEDENTES PATOLÓGICOS

La cohorte de pacientes tenía una edad media de $55 \pm 17,3$ años, con mayor prevalencia de hombres (66,3%). Se clasificaron los pacientes en función de la presencia de DRA o sepsis al ingreso (**Tabla 7**). Los pacientes con DRA o sepsis fueron significativamente más añosos, aunque la distribución de los pacientes por sexos fue la misma entre subgrupos.

Tabla 7. Variables demográficas y antecedentes patológicos.

Valores expresados en porcentaje por columna o media \pm desviación estándar. NS: sin significación estadística. *p*: valor de significación estadística.

Abreviaturas: DRA, Disfunción Renal Aguda al ingreso; EPOC, Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.

	Total (n 98)	No DRA (n 49)	DRA (n 49)	<i>p</i>	No sepsis (n 58)	Sepsis (n 40)	<i>p</i>
VARIABLES DEMOGRÁFICAS							
Edad	55 \pm 17,3	50,4 \pm 17,9	59,9 \pm 15,5	0,006	50,9 \pm 16,6	61,2 \pm 16,8	0,003
Sexo (hombre)	65 (66,3%)	30 (61,2%)	35 (71,4%)	NS	38 (65,5%)	27 (67,5%)	NS
ANTECEDENTES PATOLÓGICOS							
Hipertensión	42 (42,9%)	19 (38,8%)	23 (46,9%)	NS	23 (39,7%)	19 (47,5%)	NS
Diabetes	15 (15,3%)	5 (10,2%)	10 (20,4%)	NS	8 (13,8%)	7 (17,5%)	NS
Cardiopatía	18 (18,4%)	8 (16,3%)	10 (20,4%)	NS	10 (17,2%)	8 (20%)	NS
EPOC	20 (20,4%)	6 (12,3%)	14 (28,6%)	NS	9 (15,5%)	11 (27,5%)	NS
Hepatopatía	16 (16,3%)	2 (4,1%)	14 (23,7%)	0,002	7 (12,2%)	9 (22,5%)	NS
Enfermedad hematológica maligna	5 (5,1%)	4 (8,2%)	1 (2,0%)	NS	2 (3,5%)	3 (7,5%)	NS
Enfermedad oncológica (órgano sólido)	8 (8,2%)	3 (6,1%)	5 (10,2%)	NS	3 (5,2%)	5 (12,5%)	NS
MEDICACIÓN PREINGRESO							
Nefrotóxicos	17 (17,3%)	9 (18,4%)	8 (16,3%)	NS	7 (12,1%)	10 (25%)	NS
Diuréticos	16 (16,3%)	9 (18,4%)	7 (14,3%)	NS	7 (12,1%)	9 (22,5%)	NS
Aminoglicósidos	1 (1%)	0 (0%)	1 (2%)	NS	0 (0%)	1 (2,5%)	NS
Corticoides	6 (6,1%)	4 (8,2%)	2 (4,1%)	NS	4 (6,9%)	2 (5%)	NS

Al valorar sus comorbilidades, no se observaron diferencias salvo por una mayor prevalencia de pacientes con hepatopatía en el subgrupo de pacientes con DRA (23,7% en el subgrupo con DRA, 4,1% en aquellos que no presentaban DRA, $p=0,002$). En el subgrupo de pacientes con hepatopatía ($n=16$), solamente uno de ellos tenía ERC previa (datos no mostrados). En lo referente a la medicación tomada antes del ingreso con potencial efecto en la función renal o el estado basal inmunológico, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre subgrupos, aunque el subgrupo de pacientes que no presentó DRA utilizaba diuréticos con mayor frecuencia (11,2%) que aquellos con DRA (5,1%, $p=0,028$). Ninguno de los fármacos utilizados preingreso modifica las concentraciones de TIMP-2 o IGFBP7.

5.3.2. VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS EN UCI

Se clasificó a los pacientes en función de la existencia de DRA y sepsis (**Tabla 8**). Respecto a la etiología de ingreso, no existían diferencias entre los subgrupos con y sin DRA salvo que todos los pacientes con SDRA secundario ($n=6$) se incluían en el subgrupo con DRA.

Tanto el shock como su variante de shock séptico fue más frecuente en el subgrupo de pacientes con DRA, si bien la mayor incidencia de shock séptico en el subgrupo con DRA no alcanzó la significación estadística. La concentración de lactato en plasma fue también mayor en el subgrupo con DRA ($3,7 \pm 3,8$ en aquellos que presentaban DRA, $2,2 \pm 2,4$ en los pacientes sin DRA, $p=0,028$), pero parecida al comparar pacientes con y sin sepsis.

Las diferencias halladas en la causa de ingreso entre los subgrupos con y sin sepsis reflejaban la propia naturaleza de ingreso. En los pacientes ingresados tras un politraumatismo, no se detectó ninguna disfunción séptica primaria. Respecto a los pacientes ingresados por causa médica, en el subgrupo de pacientes no sépticos predominaban los pacientes neurológicos (por ejemplo, con hemorragia subaracnoidea o subdural), mientras que en el subgrupo de pacientes sépticos predominaban los pacientes respiratorios, en cuyo caso correspondían en su

mayoría a pacientes con neumonías comunitarias y/o descompensaciones de EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica) (datos no mostrados). En este mismo sentido, el SDRA primario predominaba en el subgrupo de sepsis.

Tabla 8. Causa de ingreso y características en UCI.

Valores expresados en porcentaje o media \pm desviación estándar. NS: sin significación estadística. *p*: valor de significación estadística. Abreviaturas: DRA, Disfunción Renal Aguda al ingreso; PCR, Proteína C Reactiva plasmática; SDRA, Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo.

	Total (n 98)	No DRA (n 49)	DRA (n 49)	<i>p</i>	No sepsis (n 58)	Sepsis (n 40)	<i>p</i>
Causa de ingreso y características en UCI							
Médica	63 (64,3%)	30 (61,2%)	33 (67,3%)	NS	33 (56,9%)	30 (75%)	0,003*
Quirúrgica	29 (29,6%)	15 (30,6%)	14 (28,6%)	NS	20 (34,5%)	9 (22,5%)	NS
Traumatológica	6 (6,1%)	4 (8,2%)	2 (4,1%)	NS	6 (10,4%)	0 (0%)	0,036
SDRA primario	11 (11,2%)	5 (10,2%)	6 (12,3%)	NS	0 (0%)	11 (27,5%)	<0,001
SDRA secundario	6 (6,1%)	0 (0%)	6 (12,3%)	0,007	3 (5,2%)	3 (7,5%)	NS
Shock	35 (35,7%)	11 (22,5%)	24 (50%)	0,011	10 (17,2%)	25 (62,5%)	<0,001
Shock séptico	19 (19,4%)	6 (12,3%)	13 (26,5%)	NS		19 (47,5%)	
PCR al ingreso (mg/L)	74,8 \pm 93,9	56,4 \pm 77,3	93,2 \pm 105,7	NS	39,1 \pm 53,2	126,9 \pm 114,9	<0,001
Lactato al ingreso (mmol/L)	2,9 \pm 3,2	2,2 \pm 2,4	3,7 \pm 3,8	0,028	2,9 \pm 3,7	2,9 \pm 2,3	NS

* Las diferencias en el tipo de ingreso al agrupar los pacientes por la presencia de sepsis se debía a una mayor incidencia de pacientes neurológicos en el subgrupo de pacientes no sépticos (24,1% en el subgrupo sin sepsis vs. 7,5% de los pacientes sépticos), así como una mayor incidencia de pacientes respiratorios en el subgrupo de pacientes sépticos (10,3% en el subgrupo sin sepsis vs. 47,5% de los que se presentaron con sepsis).

Los pacientes sépticos también presentaban mayor incidencia de shock (62,5% vs 17,2%, $p < 0,001$), sobretodo a expensas de shock séptico (19 de los 25 en estado de shock). Los pacientes sépticos presentaban concentraciones plasmáticas significativamente más elevadas de PCR ($p < 0,001$).

5.4. VARIABLES CLÍNICAS DE GRAVEDAD Y EVENTOS ADVERSOS

Todas las escalas pronósticas (SAPS II, APACHE II y SOFA) calculadas en el ingreso y en los dos primeros días posteriores fueron significativamente superiores en el subgrupo de pacientes con DRA o sepsis, indicando la mayor gravedad presentada por estos subgrupos de pacientes (**Tabla 9**).

Tabla 9. Variables clínicas de gravedad y eventos adversos.

Valores expresados en porcentaje, media \pm desviación estándar. NS: sin significación estadística. p : valor de significación estadística.

Abreviaturas: APACHE II, *Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II*; DRA, Disfunción Renal Aguda al ingreso; SAPS II, *Simplified Acute Physiology Score II*; SOFA, *Sequential Organ Failure Assessment Score*.

	Total (n 98)	No DRA (n 49)	DRA (n 49)	p	No sepsis (n 58)	Sepsis (n 40)	p
SAPS II	37,4 \pm 18,3	30,9 \pm 14,9	43,9 \pm 19,2	<0,001	30,9 \pm 15,6	46,8 \pm 18,1	<0,001
APACHE II	15,7 \pm 8,2	13,5 \pm 7,7	17,9 \pm 8,2	0,007	14,2 \pm 8,5	17,9 \pm 7,3	0,024
SOFA al ingreso	7,5 \pm 3,7	6,1 \pm 3,2	8,9 \pm 3,7	<0,001	6,7 \pm 3,7	8,7 \pm 3,4	0,009
SOFA 24 horas	7,4 \pm 3,9	6,1 \pm 3,5	8,7 \pm 4,1	0,001	6,4 \pm 4,1	8,9 \pm 3,3	0,002
SOFA 48 horas	6,8 \pm 4,3	5,5 \pm 3,8	8,1 \pm 4,3	0,002	5,6 \pm 4,1	8,5 \pm 3,9	0,001
Ventilación mecánica	79 (80,6%)	39 (79,6%)	40 (81,6%)	NS	44 (81%)	35 (87,5%)	NS
Días en ventilación mecánica	7,8 \pm 12,9	6,9 \pm 9,2	8,7 \pm 15,9	NS	5,8 \pm 9,2	10,8 \pm 16,7	NS

Días estancia UCI	11,1 ± 14,6	10,0 ± 10,6	12,3 ± 18,8	NS	9,3 ± 11,0	13,9 ± 18,5	NS
Días estancia hospital	23,6 ± 25,0	23,4 ± 23,3	23,8 ± 27,0	NS	21,4 ± 21,3	26,9 ± 29,6	NS
Mortalidad UCI	10 (10,2%)	4 (8,2%)	6 (12,3%)	NS	6 (10,3%)	4 (10%)	NS
Mortalidad 28 días	12 (12,2%)	5 (10,2%)	7 (14,3%)	NS	7 (12,1%)	5 (12,5%)	NS
Mortalidad a 90 días	13 (13,3%)	5 (10,2%)	8 (16,3%)	NS	7 (12,1%)	6 (15%)	NS

Al categorizar por DRA o por sepsis, no existieron diferencias en la incidencia de soporte ventilatorio ni en los días en ventilación mecánica. Tampoco existían diferencias en los días de estancia en UCI u hospitalaria por subgrupos.

La mortalidad en UCI de la cohorte fue del 10,2%. A los 28 y 90 días la mortalidad fue del 12,2% y 13,3% respectivamente. Sin embargo no se objetivaron diferencias significativas por subgrupos con DRA o sepsis.

5.5. FUNCIÓN RENAL PREVIA Y DURANTE EL INGRESO, Y SUS BIOMARCADORES

5.5.1. CARACTERÍSTICAS PREVIAS AL INGRESO

La prevalencia de ERC (con aclaramiento de creatinina entre 30 y 60 mL/min/1,73m²) fue del 6,1% en toda la población, sin hallarse diferencias significativas por subgrupos (**Tabla 10**). Las concentraciones plasmáticas basales de creatinina tampoco diferían por subgrupos. Por el contrario, la eGFR calculada mediante la fórmula de Cockcroft-Gault era mayor en el subgrupo de pacientes sin sepsis (121,9 ± 58,9 en los pacientes sin sepsis vs. 94,8 ± 41,2 en los sépticos, $p=0,02$). Los pacientes que presentaron DRA tenían una eGFR basal ligeramente menor que aquellos sin DRA, aunque dicha diferencia no alcanzó la significación estadística.

El subgrupo de pacientes sépticos presentó mayor incidencia de DRA (60% vs 34,5%, $p=0,013$) y AKIN ≥ 2 (40% vs 15,5%, $p=0,009$). Cinco pacientes requirieron TRR durante las primeras 48 horas, siendo todos ellos diagnosticados de DRA al ingreso. Dicha diferencia fue marginalmente significativa ($p=0,056$), probablemente debido a la baja incidencia respecto a toda la población en estudio. Al agrupar los pacientes según la presencia de sepsis, 4 de los 5 pacientes que requirieron TRR no presentaban sepsis al ingreso.

5.5.2. BIOMARCADORES RENALES EN DISFUNCIÓN RENAL AGUDA Y SEPSIS

La concentración plasmática de creatinina en el TP0 fue significativamente mayor en los subgrupos de pacientes con DRA y en aquellos que fueron admitidos con sepsis (**Tabla 10**). En el caso de la sepsis, las diferencias desaparecían a partir del TP1. En contraste, el subgrupo de DRA seguía presentando concentraciones plasmáticas de creatinina más elevadas hasta el TP2 inclusive (hasta 36 horas después del ingreso en UCI).

Los biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7 se midieron en los TP0 y TP1. En el conjunto total de pacientes, en el TP0 el índice mostró una mediana de 0,29 ((ng/mL)²/1000) (rango intercuartílico (RI) 0,10 – 0,96); en TP1 su mediana era 0,26 (RI 0,11-0,79) ((ng/mL)²/1000). Las diferencias entre determinaciones no fueron estadísticamente significativas. El 44% de los pacientes incrementaron sus concentraciones de TIMP-2 e IGFBP7 durante las primeras 12 horas de ingreso. Para aumentar la sensibilidad de [TIMP-2]·[IGFBP7], se decidió evaluar el índice más elevado para cada paciente de entre sus dos determinaciones.

El peor valor observado en TP0 y TP1 del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] era más elevado en los pacientes con DRA, mostrando una mediana 1,03 (RI 0,38-3,24) ((ng/mL)²/1000) en comparación con 0,24 (RI 0,11-0,48) ((ng/mL)²/1000) en pacientes sin DRA, $p<0,001$. No se encontraron diferencias en el índice [TIMP-2]·[IGFBP7], tanto en TP0 como TP1, ni en el peor valor mostrado en TP0 o TP1 al agrupar los pacientes en función de la presencia de sepsis.

Tabla 10. Función renal previa y durante el ingreso, y sus biomarcadores.

Valores expresados en porcentaje, media \pm desviación estándar o mediana y rango intercuartílico. NS: sin significación estadística. *p*: valor de significación estadística.

	Total (n 98)	No DRA (n 49)	DRA (n 49)	<i>p</i>	No sepsis (n 58)	Sepsis (n 40)	<i>p</i>
Características							
ERC previa al ingreso (30-60 mL/min/1,73m ²)	6 (6,1%)	4 (8,2%)	2 (4,1%)	NS	3 (5,2%)	3 (7,5%)	NS
sCr previa al ingreso (umol/L)	79 \pm 31,5	80,5 \pm 32,3	78,1 \pm 31,1	NS	79,6 \pm 28,9	78,9 \pm 35,1	NS
eGFR previa al ingreso (n=86) (mL/min)	110,6 \pm 53,7	120,5 \pm 60,5	100,7 \pm 44,6	NS	121,9 \pm 58,9	94,8 \pm 41,2	0,020
DRA al ingreso	44 (44,9%)		44 (89,8%)		20 (34,5%)	24 (60%)	0,013
AKIN \geq 2 al ingreso	25 (25,5%)		25 (51%)		9 (15,5%)	16 (40%)	0,009
Biomarcadores							
sCr en TP0 (umol/L)	94,1 \pm 42,2	74,6 \pm 30,2	113,1 \pm 43,9	<0,001	85,0 \pm 36,8	106,9 \pm 46,5	0,015
sCr en TP1 (umol/L)	92,6 \pm 49,7	69,7 \pm 31,4	115,4 \pm 54,3	<0,001	85,6 \pm 47,6	102,6 \pm 51,7	NS
sCr en TP2 (umol/L)	91,3 \pm 64,8	66,4 \pm 32,4	116,6 \pm 78,8	<0,001	87,8 \pm 68,8	96,2 \pm 59,1	NS
Índice [TIMP-2]·[IGFBP7] en TP0 ((ng/mL) ² /1000)	0,29 (0,10 – 0,96)	0,14 (0,06 – 0,31)	0,59 (0,22 – 2,89)	<0,001	0,26 (0,08 – 0,96)	0,37 (0,14 – 2,09)	NS
Índice [TIMP-2]·[IGFBP7] en TP1 ((ng/mL) ² /1000)	0,26 (0,11 – 0,79)	0,16 (0,08 – 0,37)	0,63 (1,21 – 1,88)	<0,001	0,24 (0,09 – 0,75)	0,32 (0,16 – 0,95)	NS
Índice [TIMP-2]·[IGFBP7] más elevado de TP0/TP1 ((ng/mL) ² /1000)	0,41 (0,20 – 1,36)	0,24 (0,11 – 0,48)	1,03 (0,38 – 3,29)	<0,001	0,355 (0,14 – 1,08)	0,555 (0,26 – 2,94)	NS
Evento adverso							
TRR en primeras 48h	5 (5,1%)	0 (0%)	5 (10,2%)	0,056	4 (6,9%)	1 (2,5%)	NS

Abreviaturas: DRA, Disfunción Renal Aguda al ingreso; eGFR, estimación del filtrado glomerular mediante la ecuación Cockcroft-Gault; ERC, Enfermedad Renal Crónica; TRR, Terapia de Reemplazo Renal; sCr Creatinina plasmática; TP0, *Time-Point* 0 (momento de ingreso en UCI);

TP1, *Time-Point* 1 (mañana posterior al ingreso); TP2, *Time-Point* 2 (mañana del segundo día postingreso).

El análisis de la potencial influencia conjunta de la DRA y la sepsis en los biomarcadores [TIMP-2]·[IGFBP7] mostró que las diferencias estadísticas halladas en la concentración del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] entre los subgrupos con y sin DRA se mostraban independientes al reclasificar los pacientes en presencia de sepsis (**Tabla 11**).

Tabla 11. Distribución del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] más elevado dependiendo de la presencia de DRA y sepsis en las primeras 12 horas de ingreso en la UCI.

Valores en mediana y rango intercuartílico. Índice [TIMP-2]·[IGFBP7] expresado en ((ng/mL)²/1000). Abreviaturas: DRA, Disfunción Renal Aguda; NS, no significación estadística; *p*, significación estadística.

	No DRA	DRA
No Sepsis	0,21 (0,10-0,40) (n=35)	1,05 (0,41-2,31) (n=23)
Sepsis	0,32 (0,15-0,63) (n=14)	0,98 (0,36-3,94) (n=26)

$p < 0,001$ (comparación entre No Sepsis y Sepsis en DRA)
 $p = 0,009$ (comparación entre No Sepsis y Sepsis en No DRA)
 NS (No Significación Estadística) en las comparaciones de columna.

Cuando los pacientes se agruparon por la variable sepsis, las concentraciones de [TIMP-2]·[IGFBP7] tampoco mostraron diferencias entre las determinaciones seriadas en TP0 y TP1 (**Figura 21A** y **Figura 21B**).

Figura 21. Valores del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] en función de la presencia de disfunción renal aguda (A) y sepsis (B).

Los valores representan la mediana y el rango intercuartílico para cada determinación. Los bigotes del diagrama marcan los percentiles 5 y 95. NS: sin significación estadística.

Abreviaturas: DRA, Disfunción Renal Aguda; TP0, *Time-Point* 0 (primer análisis al ingreso en UCI); TP1, *Time-Point* 1 (segunda determinación de [TIMP-2]·[IGFBP7]).

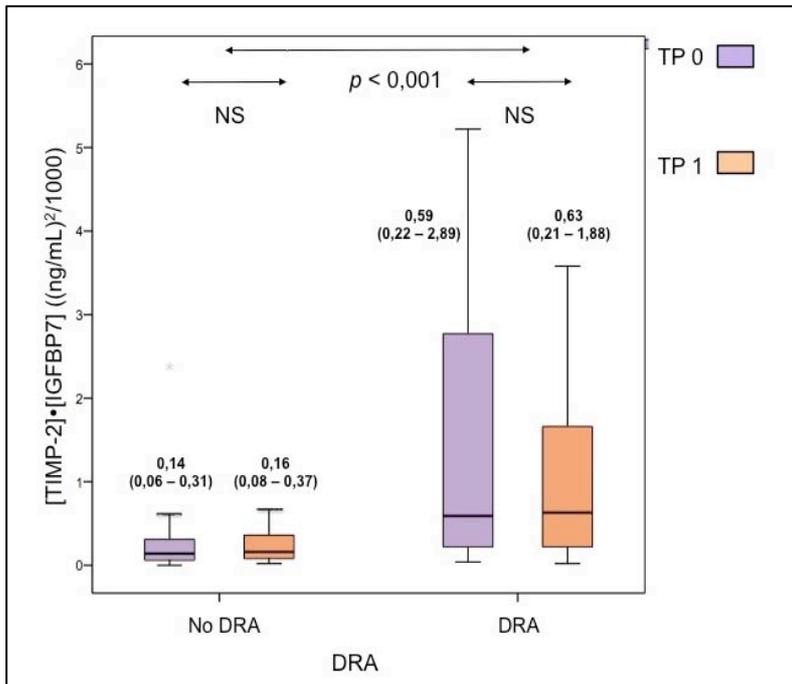


Figura 21A

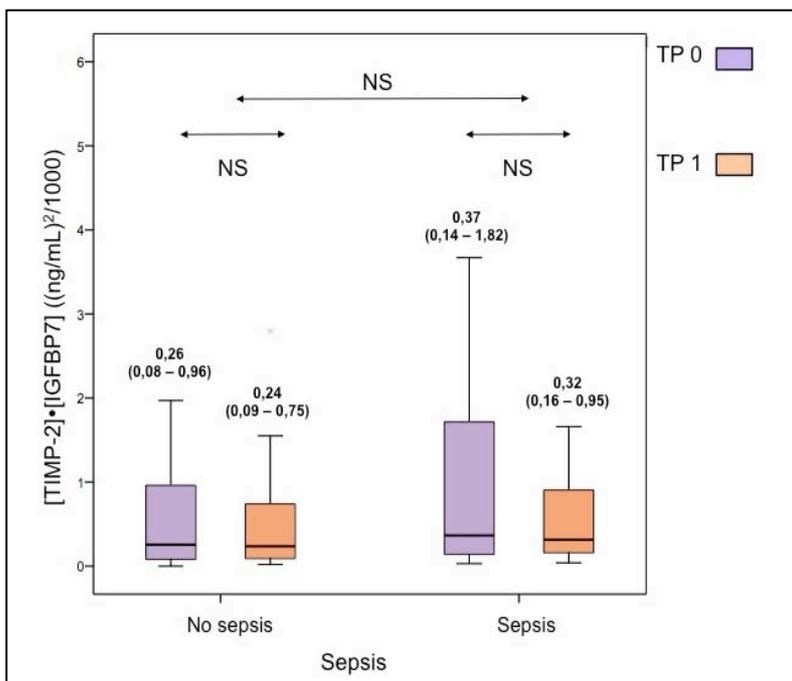


Figura 21B

Como se comentó anteriormente, aunque la prevalencia de DRA se redujo progresivamente en los primeros dos días de ingreso, para cada TP el número de casos con AKIN 3 fue en aumento (**Tabla 6**).

Al comparar sCr al ingreso en UCI con el índice más elevado de [TIMP-2]·[IGFBP7] en las 12 horas de ingreso en UCI para el grado de DRA más grave según la clasificación AKIN presentado a lo largo de todo el ingreso en UCI (**Figura 22**), se observó que:

- Los pacientes sin DRA durante su ingreso en UCI mostraron una mediana del índice [TIMP-2]·[IGFBP-7] de 0,24 (rango intercuartílico (RI) 0,11-0,48) ((ng/mL)²/1000), mientras que la mediana del índice fue 0,50 (RI 0,28-1,24) para AKIN 1, en 0,94 (RI 0,34-3,28) para AKIN 2 y 3,34 (RI 1,47-6,22) para AKIN 3. Los pacientes sin DRA mostraron índices significativamente menores que los pacientes con cualquier grado de DRA ($p=0,014$ vs. AKIN 1 y $p<0,001$ vs AKIN 2 y AKIN 3).
- Para el peor valor del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] durante las primeras 12 horas de ingreso, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el subgrupo sin DRA y cualquier grado presentado de DRA. Entre subgrupos sin DRA y el subgrupo con AKIN 1, la p fue 0,014; la significación p fue $<0,001$ al compararse con AKIN 2 y AKIN 3. Entre los subgrupos AKIN 1 y AKIN 3 $p=0,004$, mientras que entre los subgrupos AKIN 2 y AKIN 3 $p=0,039$.
- Al evaluarse las concentraciones de sCr, se encontraron diferencias entre el subgrupo sin DRA en comparación con los pacientes que presentaron AKIN 1 ($p=0,008$), AKIN 2 y AKIN 3 ($p<0,001$ para ambas comparaciones). Entre los subgrupos AKIN 1 y AKIN 3 p fue 0,048, mientras que entre AKIN 2 y AKIN 3 $p=0,033$.

Figura 22. Valor más elevado del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] en las 12 horas posteriores al ingreso y concentración plasmática de creatinina al ingreso con el grado más grave de DRA definido por la clasificación AKIN.

Los diagramas de caja y sus valores representan la mediana y rango intercuartílico para cada determinación. Los extremos del diagrama marcan los percentiles 5 y 95. El estudio de significación estadística comparando cada biomarcador con las categorías de DRA se realizó mediante el test de Kruskal-Wallis.

Abreviaturas: DRA, Disfunción Renal Aguda; *p*, significación estadística; sCr, concentración plasmática de creatinina.

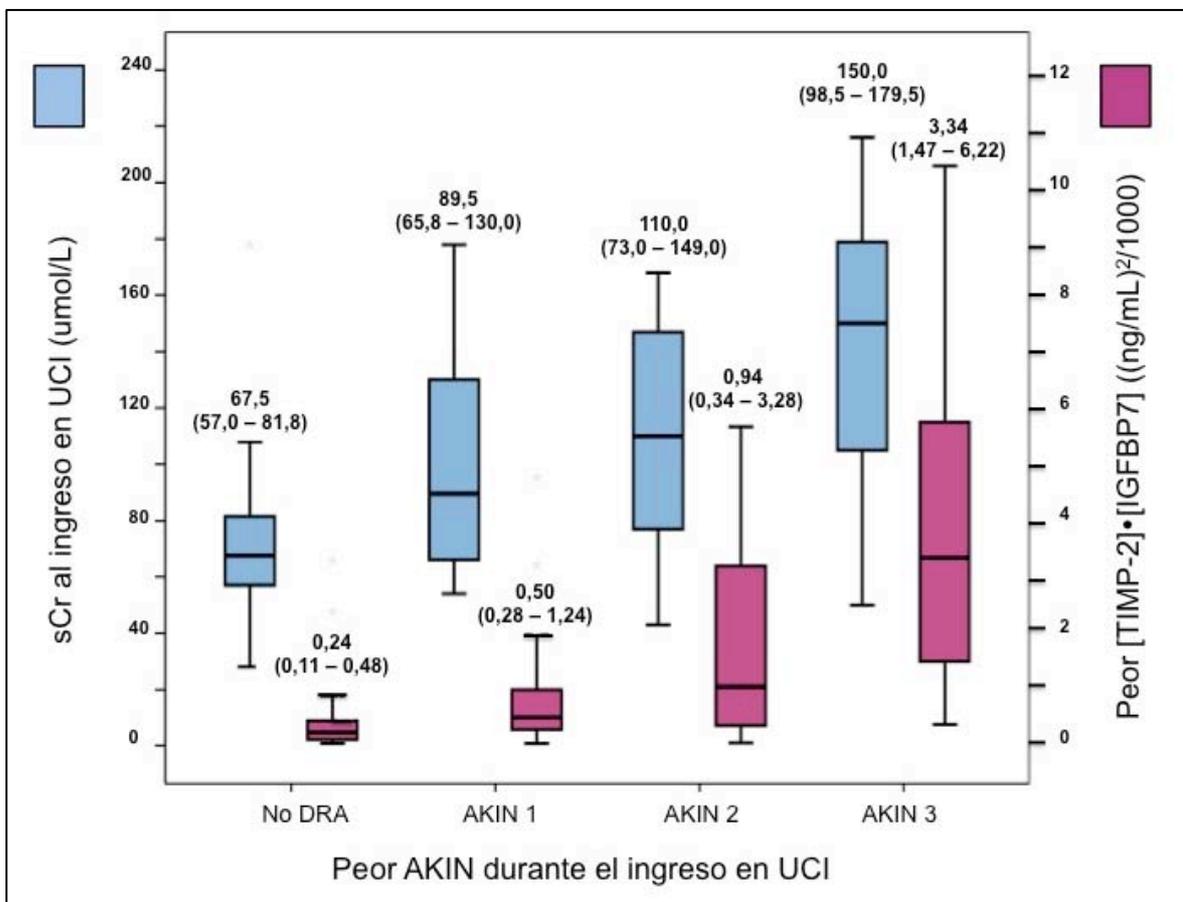
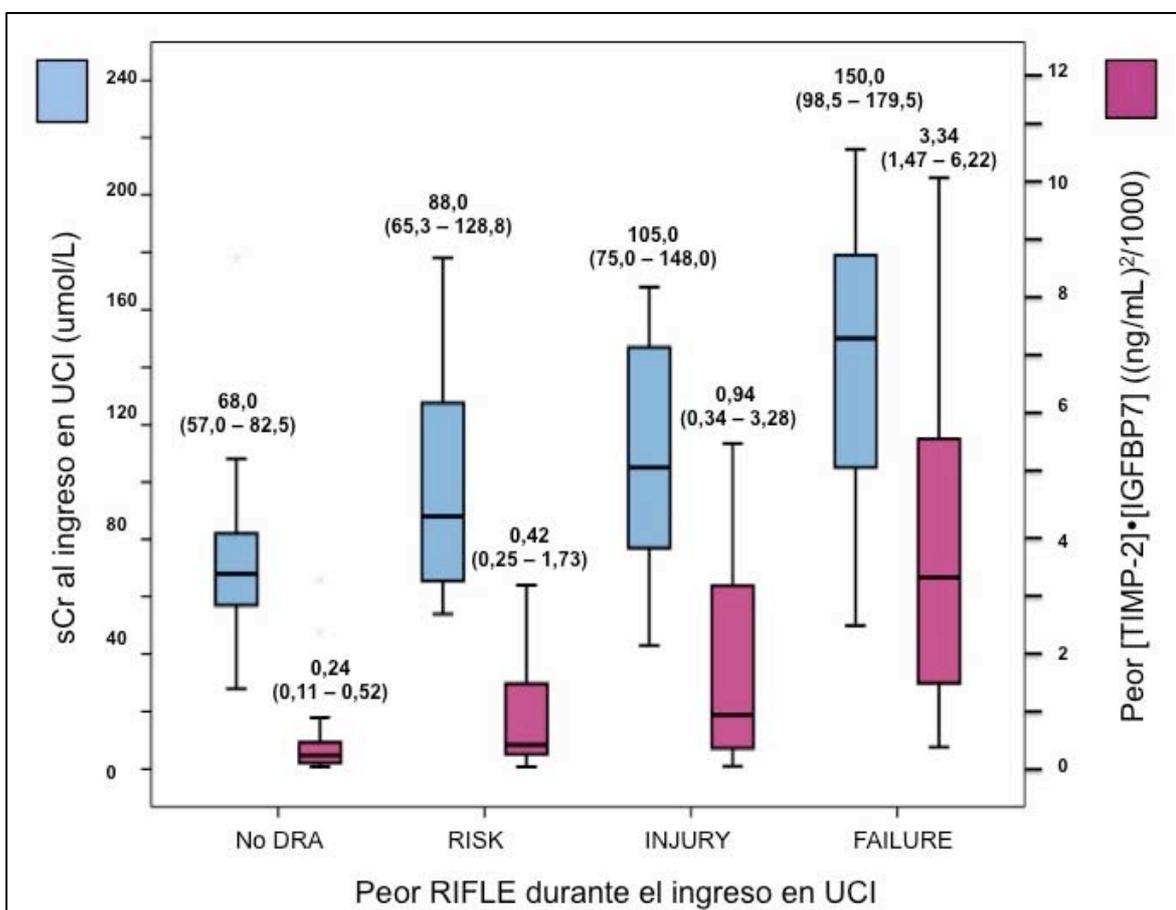


Figura 23. Valor más elevado del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] en las 12 horas posteriores al ingreso y concentración plasmática de creatinina al ingreso con el grado más grave de DRA definido por la clasificación RIFLE.

Los diagramas de caja y sus valores representan la mediana y rango intercuartílico para cada determinación. Los extremos del diagrama marcan los percentiles 5 y 95. El estudio de significación estadística comparando cada biomarcador con las categorías de DRA se realizó mediante el test de Kruskal-Wallis.

Abreviaturas: DRA, Disfunción Renal Aguda; *p*, significación estadística; sCr, concentración plasmática de creatinina.



Al comparar sCr al ingreso en UCI con el índice más elevado de [TIMP-2]·[IGFBP7] en las 12 horas de ingreso en UCI para el grado de DRA más grave presentado a lo largo de todo el ingreso en UCI aunque categorizada por la escala de RIFLE (**Figura 23**), se observó que:

- Aquellos pacientes que no presentaron DRA tenían una mediana del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] de 0,24 (RI 0,11-0,52) ((ng/mL)²/1000). Los pacientes categorizados en *Risk* tenían una mediana del índice de 0,42 (RI 0,25-1,73); aquellos en categoría *Injury* mostraban una mediana 0,94 (RI 0,34-3,28), mientras que aquellos en *Failure*, 3,34 (RI 1,47-6,22). Los pacientes sin DRA mostraron índice significativamente menores que los pacientes con cualquier grado de DRA clasificados según la escala de RIFLE ($p=0,034$ vs. *Risk*, $p<0,002$ vs. *Injury* y $p<0,001$ vs. *Failure*).
- En el peor valor del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] durante las primeras 12 horas de ingreso, existían diferencias estadísticamente significativas entre el subgrupo sin DRA y cualquier grado de DRA definido con la clasificación RIFLE. Entre los pacientes sin DRA y aquellos en *Risk* el valor de p fue 0,034; $p<0,001$ al compararse dichos pacientes con los subgrupos en *Injury* y *Failure*. Entre los subgrupos *Risk* y *Failure* el valor p fue 0,006, mientras que $p=0,039$ entre *Injury* y *Failure*.
- Al estudiarse las concentraciones de sCr, había diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes sin DRA vs. cualquier grado de DRA según la clasificación RIFLE, así como entre los grupos *Risk* y *Failure* ($p=0,041$) y entre *Injury* y *Failure* ($p=0,031$).

En resumen, la evaluación por subgrupos mostró que el índice que resume la concentración de ambos biomarcadores fue significativamente distinto entre los subgrupos sin DRA en comparación con cualquier grado de DRA, así como entre los subgrupos con DRA leve (AKIN 1 o en Riesgo según la clasificación RIFLE) y DRA grave (AKIN 3 y *Failure*). Por el contrario, ni la sCr ni el índice [TIMP-2]·[IGFBP7] fueron significativamente distintos entre los subgrupos con DRA leve e intermedia, es decir, al comparar pacientes clasificados como AKIN 1 vs. AKIN 2 o como *Risk* vs. *Injury*.

5.6. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD PREDICTIVA DE DISFUNCIÓN RENAL AGUDA MEDIANTE BIOMARCADORES

5.6.1. ESTUDIO UNIVARIANTE

Para analizar qué factores de riesgo para desarrollar DRA se asociaban a los valores del índice [TIMP-2]·[IGFBP7], se clasificó a los pacientes siguiendo los límites de decisión sugeridos en la bibliografía (**Tabla 12**). Se categoriza como de bajo riesgo para DRA a pacientes que presentan concentraciones de [TIMP-2]·[IGFBP7] $\leq 0,3$ ((ng/mL)²/1000), de riesgo elevado si dichas concentraciones son entre 0,31 y 2,0 ((ng/mL)²/1000), y de riesgo muy elevado para índices >2 ((ng/mL)²/1000).

Utilizando estos límites de decisión, se identificaba a los pacientes del estudio que desarrollaron DRA y DRA de grado AKIN ≥ 2 , en ambos casos con significación estadística $p < 0,001$. Sin embargo, no se identificaba a los pacientes que requirieron TRR de entre aquellos en riesgo a sufrir DRA, al estar distribuidos en los dos subgrupos con riesgo elevado (índices 0,31–2) y muy elevado (>2 ((ng/mL)²/1000)). Al evaluar sus características basales, los niveles de sCr no diferían entre subgrupos. En cambio, la eGFR basal calculada mediante la fórmula Cockcroft-Gault fue menor en el subgrupo de pacientes que mostraban índices >2 ((ng/mL)²/1000) ($p=0,008$). Aunque en números absolutos había en número similar de pacientes en shock distribuidos en las tres categorías, su proporción relativa era mayor en los pacientes que tenían índices >2 ((ng/mL)²/1000): en los pacientes con índice <2 la incidencia de shock fue alrededor del 30% (11 de 38 pacientes con índices $<0,3$; 12 de 40 en el subgrupo con índices comprendidos entre 0,31 y 2) en comparación con el subgrupo con índice >2 , en cuyo caso había un 60% de pacientes en shock (12 de 20 pacientes, ($p=0,039$)).

Al estudiarse las escalas de gravedad al ingreso en UCI, sólo se hallaron diferencias significativas en la puntuación SAPS II ($p=0,004$). La categoría con índice >2 ((ng/mL)²/1000) tenía una media de SAPS II 49 ± 21 , mientras que la puntuación era 35 ± 15 para índices $<0,3$, y 34 ± 17 para el subgrupo con índices

comprendidos entre 0,31 y 2. La mortalidad en la UCI por categorías fue la misma, alrededor del 10%, así como a los 28 y 90 días. Los pacientes con índices muy elevados (>2 $((\text{ng/mL})^2/1000)$) presentaron la estancia de UCI más corta (7 ± 5 días, $p=0,036$), y aquellos pertenecientes al grupo de riesgo intermedio (índices 0,31 a 2) mostraron más días de estancia hospitalaria, aunque ésta última no alcanzó la significación estadística. En el grupo analizado, 5 pacientes presentaron estancias en UCI considerablemente más largas (51, 53, 60, 68 y 97 días) que el resto del grupo (≤ 30 días). Cuatro de estos cinco pacientes presentaban índices [TIMP-2]·[IGFBP7] entre 0,31 y 2 $((\text{ng/mL})^2/1000)$, lo que podría explicar este hallazgo.

Tabla 12. Características de la cohorte en función de los distintos límites de decisión clínicos del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] aportados por el fabricante.

Se especifica el número de casos por variable cuya n no sea 98. Valores expresados en porcentaje (por fila) o media \pm desviación estándar. NS: sin significación estadística. p : valor de significación estadística. Abreviaturas: APACHE II, *Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II*; DRA, Disfunción Renal Aguda al ingreso; TRR, Terapia de Reemplazo Renal; SAPS II, *Simplified Acute Physiology Score II*; sCr, Creatinina Plasmática; SOFA, *Sequential Organ Failure Assessment Score*.

	ÍNDICE [TIMP-2]·[IGFBP7] en $((\text{ng/mL})^2 / 1000)$			
	$\leq 0,3$ (n=38)	0,31 – 2 (n=40)	>2 (n=20)	p
Variables demográficas				
Edad (años)	53 \pm 18,4	54 \pm 16,7	62 \pm 15,0	NS
Sexo (hombres) (n=65)	21 (55,3%)	30 (75%)	14 (70%)	NS
Función renal previa y durante el ingreso				
ERC previa (30-60 mL/min/1,73m ²)	4 (10,5%)	0 (0%)	2 (10%)	NS
sCr previa al ingreso ($\mu\text{mol/L}$)	84 \pm 31,9	72 \pm 28,5	85 \pm 34,9	NS
eGFR previa al ingreso (mL/min) (n=86)	117 \pm 60,1 (n=31)	123 \pm 48,1 (n=35)	79 \pm 40,9 (n=20)	0,008

DRA en UCI (n=49)	9 (23,7%)	22 (55%)	18 (90%)	<0,001
AKIN \geq 2 en UCI (n=31)	4 (10,5%)	13 (32,5%)	14 (70%)	<0,001
Características en UCI				
Sepsis al ingreso (n=40)	11 (29%)	18 (45%)	11 (55%)	NS
Shock (n=35)	11 (29%)	12 (30%)	12 (60%)	0,039
VARIABLES CLÍNICAS DE GRAVEDAD Y EVENTOS ADVERSOS				
SAPS II	35 \pm 15,4	34 \pm 17,4	49 \pm 21,1	0,004
APACHE II	16 \pm 8,7	15 \pm 7,5	17 \pm 8,8	NS
SOFA al ingreso	7 \pm 3,5	7 \pm 3,9	8 \pm 3,8	NS
TRR en menos de 48h	0 (0%)	3 (7,5%)	2 (10%)	NS
Ventilación mecánica (n=79)	32 (84,2%)	32 (80%)	15 (75%)	NS
Días estancia en ICU	8,6 \pm 9,1	15,6 \pm 20,1	7,0 \pm 5,3	0,036
Días estancia hospitalaria	24,6 \pm 25,9	24,9 \pm 28,9	19,2 \pm 12,5	NS
Mortalidad en ICU	4 (10,5%)	4 (10%)	2 (10%)	NS
Mortalidad a 28 días	6 (15,8%)	4 (10%)	2 (10%)	NS
Mortalidad a 90 días	6 (15,8%)	5 (12,5%)	2 (10%)	NS

5.6.2. ESTUDIO MULTIVARIANTE

Se realizó un estudio de regresión logística para el pronóstico de DRA durante el ingreso en UCI y para DRA AKIN \geq 2, incluyendo todas las variables que eran clínicamente relevantes y resultaron estadísticamente significativas en el desarrollo de DRA en el estudio descriptivo univariante. Puesto que la n del estudio era próxima a 100 casos, era recomendable no incluir más de 10 variables. Las covariables incluidas en el estudio de regresión logística fueron: edad, presencia de sepsis, shock, hepatopatía, SDRA secundario, SAPS II, SOFA al ingreso en UCI y la concentración más elevada de [TIMP-2]-[IGFBP7] en las

primeras 12 horas. Si bien todas las escalas de gravedad comentadas en este estudio incluyen la sCr en su puntuación, se decidió no incluir la concentración plasmática de sCr al ingreso como covariable en el modelo ya que biológicamente no está relacionada con la síntesis de TIMP-2 ni IGFBP7, y ello supondría un añadido sesgo de confusión.

El estudio de regresión logística dio como resultado varios modelos (**Tabla 13**):

- Para el diagnóstico de DRA, se obtuvieron 4 modelos:
 - Un primer modelo donde solamente participaba el peor índice [TIMP-2]·[IGFBP7] en las primeras 12 horas de ingreso. En él, el valor más elevado del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] en las 12 horas posteriores al ingreso mostraba una OR de 3,15 (intervalo de confianza (IC) 95% 1,60 a 6,17, $p=0,001$) para la predicción de DRA.
 - El segundo modelo se ajustaba por la puntuación SOFA al ingreso. En este caso, la OR del peor índice [TIMP-2]·[IGFBP7] en las primeras 12 horas de ingreso fue 3,71 (IC 95% 1,79 – 7,68, $p=0,001$).
 - Un tercer modelo ajustaba el índice [TIMP-2]·[IGFBP7] por las variables SOFA al ingreso y hepatopatía. La OR del índice más elevado [TIMP-2]·[IGFBP7] para el diagnóstico de DRA fue 3,82 (IC 95% 1,82-7,99, $p<0,001$).
 - Por último, un cuarto modelo ajustaba a su vez por la presencia de SDRA secundario. En este caso, el peor valor del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] en las primeras 12 horas de ingreso presentaba un OR 3,82 (IC 95% 1,78-8,20, $p=0,001$).

- Para predecir DRA grave AKIN ≥ 2 , se obtuvieron dos modelos:
 - Un modelo principal, donde el peor índice [TIMP-2]·[IGFBP7] durante las primeras 12 horas de ingreso mostraba una OR 1,85 (IC 95% 1,33 a 2,57, $p=0,001$).

- Un segundo modelo que ajustaba el índice [TIMP-2]·[IGFBP7] por la puntuación SOFA al ingreso. En este segundo caso la OR para la predicción de AKIN ≥ 2 fue 1,84 (IC 95% 1,28 – 2,62, $p=0,017$).

Tabla 13. Modelos de regresión logística y odds ratio para la predicción de disfunción renal aguda y AKIN ≥ 2 .

Abreviaturas: IC 95%, intervalo de confianza del 95%; p , valor de significación estadística; SOFA, *Sequential Organ Failure Assessment Score*.

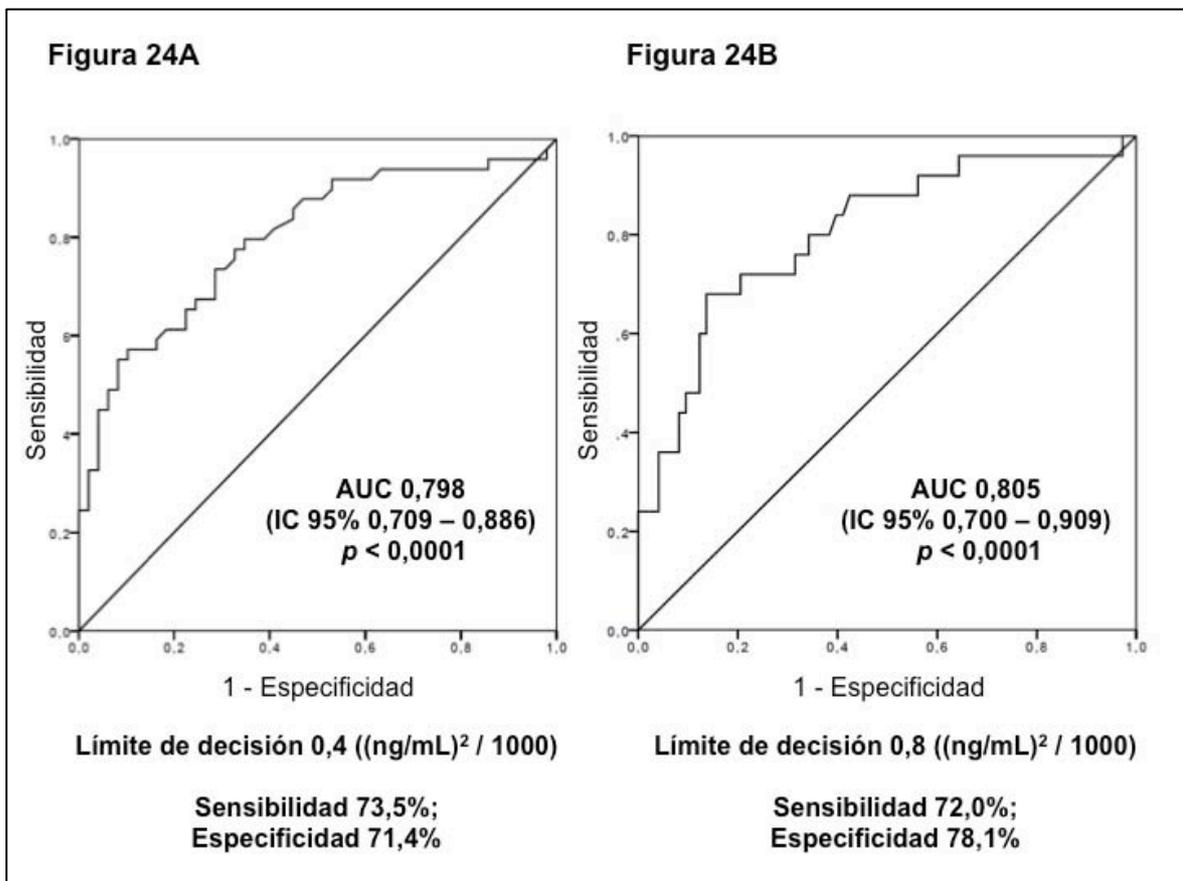
MODELO	VARIABLES INCLUIDAS EN EL MODELO	ODDS RATIO PREDICCIÓN DE DRA	ODDS RATIO PREDICCIÓN AKIN ≥ 2
1	Peor valor del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] en primeras 12 horas	3,15 (IC 95% 1,60 - 6,17) $p=0,001$	1,85 (IC 95% 1,33 - 2,57) $p=0,001$
2	+ SOFA al ingreso	3,71 (IC 95% 1,79 - 7,68) $p=0,001$	1,84 (IC 95% 1,28 - 2,62) $p=0,017$
3	+ hepatopatía	3,82 (IC 95% 1,82 - 7,99) $p<0,001$	
4	+ SDRA secundario	3,82 (IC 95% 1,78 - 8,20) $p=0,001$	

5.6.3. ESTUDIO MEDIANTE CURVA ROC

Se calculó la curva ROC para la predicción de DRA mediante el índice [TIMP-2]·[IGFBP7] más elevado en las primeras 12 horas de ingreso (**Figura 24**). La AUC de la curva ROC fue 0,798 (IC 95% 0,709 – 0,886), con una sensibilidad del 73,5% y una especificidad del 71,4% ($p < 0,0001$). Para la predicción de DRA AKIN ≥ 2 la AUC era 0,805 (IC 95% 0,700 – 0,909, $P < 0,0001$).

Figura 24. Curva ROC del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] para la predicción de DRA (Figura 24A) y DRA AKIN ≥ 2 (Figura 24B) en las primeras 12 horas de ingreso.

Abreviaturas: AUC, área bajo la curva ROC; DRA, Disfunción Renal Aguda.



A partir de las tablas ROC de sensibilidad y especificidad del índice TIMP-2 e IGFBP7, se valoró los mejores límites de decisión para la detección de DRA y AKIN ≥ 2 para la cohorte. A diferencia de los límites de decisión publicados en estudios previos, el límite de decisión en $0,4 \text{ ((ng/mL)}^2/1000)$ ofrecía una sensibilidad y especificidad balanceadas para el diagnóstico de DRA, en este caso, del 74% y 71% respectivamente. Para el diagnóstico de AKIN ≥ 2 , el límite de decisión en $0,8 \text{ ((ng/mL)}^2/1000)$ presentaba una sensibilidad del 72% y una especificidad del 78%.

Se reclasificaron los pacientes en función de los nuevos límites de decisión del índice $[\text{TIMP-2}] \cdot [\text{IGFBP7}]$ (**Tabla 14**). Los pacientes con índices $>0,8 \text{ ((ng/mL)}^2/1000)$ tenían mayor edad. Con los límites de decisión obtenidos en el estudio, los tres subgrupos no presentaban diferencias en la sCr basal, en la eGFR mediante la ecuación de Cockcroft-Gault, la estancia en UCI u hospitalaria. La incidencia de shock fue mayor en el subgrupo de pacientes con índices $>0,8 \text{ ((ng/mL)}^2/1000)$, aunque dicha diferencia alcanzaba marginalmente la significación estadística ($p=0,053$).

Mediante los límites de decisión previamente publicados, se descartaba el requerimiento de TRR en 38 pacientes (subgrupo con índices $\leq 0,3 \text{ ((ng/mL)}^2/1000)$). Por el contrario, mediante los nuevos límites de decisión se descartaba el requerimiento de TRR en 63 pacientes (procedentes de los subgrupos con índices $\leq 0,4$ y $0,41-0,8 \text{ ((ng/mL)}^2/1000)$), ya que todos los pacientes que requirieron TRR presentaban un índice $>0,8 \text{ ((ng/mL)}^2/1000)$ ($p=0,007$). Por este motivo, en comparación con los límites de decisión previos, el límite de decisión en $0,8 \text{ ((ng/mL)}^2/1000)$ permitió identificar de forma adicional a 25 pacientes que no requirieron TRR.

Tabla 14. Características de la cohorte en función de los distintos límites de decisión clínica del índice [TIMP-2].[IGFBP7] descritos por el fabricante o hallados en el estudio.

Se especifica el número de casos por variable cuya n no sea 98. Valores expresados en porcentaje (por fila) o media \pm desviación estándar. NS: sin significación estadística. *p*: valor de significación estadística. Abreviaturas: APACHE II, *Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II*; DRA, *Disfunción Renal Aguda al ingreso*; TRR, *Terapia de Reemplazo Renal*; SAPS II, *Simplified Acute Physiology Score II*; sCr, *Creatinina Plasmática*; SOFA, *Sequential Organ Failure Assessment Score*.

ÍNDICE [TIMP-2].[IGFBP7] en ((ng/mL) ² / 1000)								
	≤ 0,3 (n=38)	0,31 – 2 (n=40)	> 2 (n=20)	<i>p</i>	≤ 0,4 (n=47)	0,41 – 0,8 (n=16)	> 0,8 (n=35)	<i>p</i>
Variables demográficas								
Edad (años)	53 \pm 18,4	54 \pm 16,7	62 \pm 15,0	NS	52 \pm 18,5	52 \pm 18,4	61 \pm 13,7	0,043
Sexo (hombres) (n=65)	21 (55,3%)	30 (75%)	14 (70%)	NS	29 (61,7%)	12 (75%)	24 (68,6%)	NS
Función renal previa y durante el ingreso								
ERC previa (30-60 mL/min/1,73m ²)	4 (10,5%)	0 (0%)	2 (10%)	NS	4 (8,5%)	0 (0%)	2 (5,7%)	NS
sCr previa al ingreso (μ mol/L)	84 \pm 31,9	72 \pm 28,5	85 \pm 34,9	NS	83 \pm 30,1	66 \pm 33,3	80 \pm 32,0	NS
eGFR previa al ingreso (mL/min) (n=86)	117 \pm 60,1 (n=31)	123 \pm 48,1 (n=35)	79 \pm 40,9 (n=20)	0,008	112 \pm 55,4 (n=39)	128 \pm 54,1 (n=12)	103 \pm 52,7 (n=35)	NS
DRA en UCI (n=49)	9 (23,7%)	22 (55%)	18 (90%)	<0,001	13 (27,7%)	8 (50%)	28 (80%)	<0,001

AKIN \geq 2 en UCI (n=31)	4 (10,5%)	13 (32,5%)	14 (70%)	<0,001	6 (12,8%)	3 (18,8%)	22 (62,9%)	<0,001
Características en UCI								
Sepsis al ingreso (n=40)	11 (29%)	18 (45%)	11 (55%)	NS	16 (34%)	8 (50%)	16 (45,7%)	NS
Shock (n=35)	11 (29%)	12 (30%)	12 (60%)	0,039	13 (27,7%)	4 (25%)	18 (51,4%)	0,053
Variables clínicas de gravedad y eventos adversos								
SAPS II	35 \pm 15,4	34 \pm 17,4	49 \pm 21,1	0,004	35 \pm 16,2	28 \pm 11,9	44 \pm 21,1	0,006
APACHE II	16 \pm 8,7	15 \pm 7,5	17 \pm 8,8	NS	15 \pm 8,2	13 \pm 6,0	18 \pm 8,8	NS
SOFA al ingreso	7 \pm 3,5	7 \pm 3,9	8 \pm 3,8	NS	7 \pm 3,8	7 \pm 3,7	8 \pm 3,5	NS
TRR en menos de 48h	0 (0%)	3 (7,5%)	2 (10%)	NS	0 (0%)	0 (0%)	5 (14,3%)	0,007
Ventilación mecánica (n=79)	32 (84,2%)	32 (80%)	15 (75%)	NS	39 (83%)	13 (81,3%)	27 (77,1%)	NS
Días estancia en ICU	8,6 \pm 9,1	15,6 \pm 20,1	7,0 \pm 5,3	0,036	8,8 \pm 8,7	12,6 \pm 15,8	13,6 \pm 19,6	NS
Días estancia hospitalaria	24,6 \pm 25,9	24,9 \pm 28,9	19,2 \pm 12,5	NS	23,6 \pm 24,9	20,8 \pm 16,1	24,9 \pm 28,7	NS
Mortalidad en ICU	4 (10,5%)	4 (10%)	2 (10%)	NS	4 (8,5%)	1 (6,3%)	5 (14,3%)	NS
Mortalidad a 28 días	6 (15,8%)	4 (10%)	2 (10%)	NS	6 (12,8%)	1 (6,3%)	5 (14,3%)	NS
Mortalidad a 90 días	6 (15,8%)	5 (12,5%)	2 (10%)	NS	7 (14,9%)	1 (6,3%)	5 (14,3%)	NS

También se evaluaron los VPP y VPN para ambos conjuntos de límites (el del estudio y el del fabricante) (**Tabla 15**). Para el límite de decisión más bajo en 0,3 ((ng/mL)²/1000) en la predicción de cualquier grado de DRA, el VPP fue 64,5% y su VPN 75%; en cambio, el límite inferior en 0,4 ((ng/mL)²/1000) mostraba un VPP 70,6% y VPN 72,3%. Para la predicción de AKIN ≥2, el límite de decisión recomendado de 2,0 ((ng/mL)²/1000) mostró un VPP del 70% y un VPN 78,2%. El nuevo límite de decisión superior en 0,8 ((ng/mL)²/1000) tenía un VPP 62,9% y VPN 85,7%. En resumen, ambos conjuntos de límites de decisión coincidían en mostrar mejor VPN que VPP, sobretodo para el diagnóstico de AKIN ≥2. Aunque los límites de decisión identificaban por igual la DRA y AKIN ≥2, el propuesto en el presente estudio en 0,8 ((ng/mL)²/1000) fue capaz de clasificar a todos los pacientes que finalmente necesitaron TRR ($p=0,007$), con un VPN del 100%.

Tabla 15. Valores predictivos positivos (VPP) y valores predictivos negativos (VPN) de los límites de decisión aportados por el fabricante y los descritos en la cohorte del estudio para el diagnóstico de disfunción renal aguda, AKIN ≥2 y requerimiento de técnicas de reemplazo renal.

Para el diagnóstico de DRA, se usaron los límites de decisión de bajo riesgo de DRA tanto del fabricante como los descritos en el presente estudio, es decir, valores del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] de 0,3 ó 0,4 ((ng/mL)²/1000), respectivamente. Sin embargo, tanto para el diagnóstico de AKIN ≥2 como para el pronóstico de requerimiento de TRR, se usaron los límites de decisión superiores, es decir, de >2 ((ng/mL)²/1000) según el fabricante, y >0,8 ((ng/mL)²/1000) descrito en el presente estudio.

		Límites de decisión del fabricante	Límites de decisión del estudio
DRA	VPP	64,5%	70,6%
	VPN	75%	72,3%
DRA AKIN ≥2	VPP	70%	62,9%
	VPN	78,2%	85,7%
TRR	VPP	10%	14,3%
	VPN	96,2%	100%

Abreviaturas: AKIN ≥ 2 , Disfunción renal aguda de gravedad ≥ 2 según la clasificación AKIN; DRA, Disfunción Renal Aguda; TRR, Terapia de Reemplazo Renal, VPN, Valor Predictivo Negativo; VPP, Valor Predictivo Positivo.

6. DISCUSIÓN

6.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

La presente tesis describe dos nuevos biomarcadores en una población seleccionada libre de la mayoría de los factores de riesgo para el desarrollo de DRA(133). La mayoría de estudios que han analizado la utilidad de biomarcadores en UCI, tanto clásicos como novedosos, se han desarrollado en poblaciones no seleccionadas. En consecuencia, el número de pacientes que presentan distintos grados de disfunción renal subyacente fue variable, aunque en general elevado. En el trabajo se conocía la eGFR previa de la población reclutada en un 87,8% de los sujetos. Ello aseguró que la incidencia de ERC preingreso detectable fuera realmente muy baja, y la población, desde el punto de vista de la función renal, muy homogénea. Debido a la baja prevalencia de ERC en la cohorte reclutada (6,1%) y, que de hallarse, los pacientes tenían una eGFR >30mL/min, los pacientes con albuminuria >1,25 g/L (rango que puede influenciar en las concentraciones de TIMP-2 e IGFBP7) fueron excluidos del estudio.

Por otra parte, la DRA es una complicación de muchos ingresos hospitalarios de causa no-renal (134)(135). Se estima que la incidencia de DRA adquirida en el hospital es alrededor del 7% (136). Idealmente, para identificar las características de un nuevo biomarcador de DRA éste debiera ser estudiado en sujetos que desarrollan la DRA desde la previa normalidad.

En el presente estudio se emplearon criterios de inclusión muy selectivos, excluyendo a pacientes cuya evolución previa al ingreso fuera superior a 48 horas. Este criterio tan riguroso se implantó para evitar el efecto de enfermedades muy evolucionadas sobre la función renal. Como consecuencia de los criterios

selectivos para la inclusión y exclusión de pacientes, la población reclutada en el estudio podía ser menos representativa de una población convencional en UCI y el tamaño muestral ser poco amplio. Sin embargo, el diseño del estudio redujo de forma notable la confusión producida por los factores de riesgo intrahospitalarios para el desarrollo de DRA, como los nefrotóxicos, la reducción del flujo renal o la sepsis nosocomial. En consecuencia, la población de estudio fue muy homogénea y permitía extraer conclusiones sobre la relación de los nuevos biomarcadores y la función renal.

En el estudio descriptivo de la población, ninguno de los fármacos utilizados preingreso modificaba las concentraciones de TIMP-2 o IGFBP7. Se observó una incidencia elevada de pacientes con hepatopatía crónica en el subgrupo que presentó DRA. Los pacientes que presentaron DRA fueron de edad más avanzada, presentaron más shock y concentraciones plasmáticas más elevadas de lactato. Ucchino *et al* publicaron un estudio multicéntrico describiendo los factores de riesgo para el desarrollo de DRA en UCI (6). El síndrome hepatorrenal fue un factor de riesgo presente en un 5,7% de los pacientes, y uno de los factores más relevantes tras la presencia de shock, hipovolemia y la administración de nefrotóxicos. Nuestro estudio no fue diseñado específicamente para el registro de variables de función hepática. No obstante, debido a los criterios de inclusión y exclusión, ningún de los 16 pacientes con hepatopatía había sido recientemente hospitalizado, y solamente uno de ellos tenía ERC (con eGFR 30-60 mL/min); en consecuencia, el estudio no incluyó pacientes con hepatopatía crónica avanzada o terminal, en cuyo caso la presencia de síndrome hepatorrenal es esperable.

6.2. DISFUNCIÓN RENAL AGUDA

En el presente trabajo, la clasificación AKIN diagnosticaba a más pacientes con DRA leve que la clasificación RIFLE. Los estudios de Chertow (35) y Lassnigg (36) apuntaban los mismos resultados y los asociaban a mayor mortalidad y días de hospitalización. En consecuencia se decidió usar la clasificación AKIN para la definición de DRA en el resto del trabajo. La incidencia de DRA al ingreso en la cohorte fue del 44,9%, y aumentó a un 50% a lo largo del ingreso en UCI. El 31,5% de los pacientes con DRA desarrollaron AKIN ≥ 2 .

Los pacientes con DRA o sepsis mostraron puntuaciones elevadas de las escalas de gravedad SAPS II, APACHE II y SOFA. También tuvieron estancias en la UCI y hospitalarias más prolongadas, si bien las diferencias no alcanzaron la significación estadística. La tasa de mortalidad fue baja, sin observarse diferencias estadísticas entre subgrupos. La baja mortalidad puede ser explicada parcialmente por nuestros criterios de exclusión, que incluía a pacientes sin estancias previas en el hospital y con una esperanza de vida prevista superior a las 48 horas. En concreto se excluyó a:

- Los pacientes con DRA anúrica al ingreso, en cuyo caso se espera un mal *outcome* secundario a DRA (137)(138).
- Nuestro estudio solamente reclutó pacientes en los que su estancia mínima en UCI se esperaba que alcanzase al menos los dos días. Ello causó la exclusión de pacientes extremadamente graves e inestables. En este subgrupo de pacientes se espera una mortalidad mucho más elevada y a corto plazo, inferior a 24h. No obstante, las puntuaciones elevadas de SAPS II, APACHE II y SOFA que obtuvimos en nuestro estudio permiten asegurar que nuestra cohorte de pacientes era representativa de una cohorte de pacientes críticos.
- Por otro lado, tampoco reclutamos pacientes previamente hospitalizados. En un subanálisis del estudio PICARD (139), se evaluó la relación entre la DRA y

la sepsis en 618 pacientes. Los pacientes que presentaron sepsis tanto antes como después del diagnóstico de DRA tenían una mortalidad más elevada (48% y 44% respectivamente) en comparación con los pacientes que no presentaron sepsis (21%). En este estudio, los pacientes que presentaron sepsis después de ser diagnosticados de DRA tenían una estancia hospitalaria más larga y requirieron más diálisis.

La sepsis es una enfermedad común en los pacientes críticos(1). Los pacientes fueron diagnosticados de sepsis y shock séptico, tanto con las definiciones de consenso de Levy *et al.*(1) como la más reciente de Opal *et al.*(47). En el presente trabajo, el 40,8% de los pacientes reclutados presentaban sepsis a su llegada a la UCI, y el eGFR del subgrupo era significativamente menor que el de los pacientes sin sepsis. Además, los pacientes sépticos presentaron una incidencia mayor de DRA AKIN ≥ 2 durante la estancia en UCI. La teoría unificada para el desarrollo de DRA asociada a sepsis postulada por el grupo de Gómez(51), puede explicar porque algunos pacientes críticos presentan DRA en estados hiperdinámicos y/o estados sin hipotensión asociada. La sepsis desencadena inflamación, estrés oxidativo y promueve disfunción microvascular; todos estos procesos pueden participar en el desarrollo de DRA. Por su parte, la DRA aumenta las concentraciones plasmáticas de citocinas, particularmente las producidas por monocitos(140). A su vez, las citocinas actúan como factores de riesgo para el desarrollo de DRA. Así pues, la DRA y la sepsis son factores de riesgo recíprocos.

Asimismo se hallaron valores elevados de PCR tanto en las subpoblaciones con sepsis o DRA ($p < 0,001$ y $p = 0,031$ respectivamente), muy probablemente como reactante de fase aguda. Como se mencionó con anterioridad, la lactacidemia en los pacientes con DRA fue significativamente más elevada, pero comparable entre sí al categorizar las subpoblaciones en función de la sepsis. Ello quizá se deba en parte a una mayor incidencia de pacientes en shock y shock séptico en el subgrupo de pacientes con DRA, si bien estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

6.3. BIOMARCADORES DE DISFUNCIÓN RENAL AGUDA: CREATININA PLASMÁTICA Y TIMP-2 E IGFBP7

En el estudio, la concentración sCr al ingreso en UCI fue más elevada tanto en los pacientes que presentaron DRA como sepsis. Además, en los pacientes con DRA la sCr no sólo permaneció elevada sino que siguió aumentado en TP1 y TP2, hecho que concuerda con su metabolismo.

Por el contrario, los valores del índice compuesto por [TIMP-2]·[IGFBP7] solamente eran más elevados en el subgrupo que presentó DRA, y no en aquellos con sepsis. Además, no se encontraron diferencias significativas en los valores del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] en TP0 y TP1. Conceptualmente el análisis seriado de un biomarcador en un corto intervalo de tiempo podría reducir su variabilidad intrínseca e incrementar su capacidad diagnóstica y/o pronóstica. En el presente trabajo se realizaron dos determinaciones del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] por paciente, una inicial al ingreso y una segunda determinación hasta 12 horas después. Al respecto, Meersch (127)(141) publicó recientemente dos estudios en pacientes postoperados de cirugía cardíaca. El primero de sus estudios se centró en pacientes adultos mientras que el segundo incluyó a niños con cardiopatía congénita. Entre sus resultados destacaba que [TIMP-2]·[IGFBP7] incrementaba más rápido que el resto de biomarcadores renales, con un valor máximo a las 4 horas después de la cirugía. El índice [TIMP-2]·[IGFBP7] decrecía en la determinación a las 24 horas, aunque seguía siendo significativamente más elevado en aquellos pacientes que presentaron DRA post *by-pass* cardíaco. En el primero de los estudios basado en población adulta, la concentración más elevada del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] tenía una AUC de la curva ROC de 0,84 (sensibilidad 92%, especificidad 81%) para el diagnóstico de DRA en las primeras 24 horas. Como en el estudio de Meersch, en el presente trabajo las determinaciones seriadas de [TIMP-2]·[IGFBP7] no mejoraron la predicción de DRA; asimismo, el peor valor del índice fue igualmente útil para el diagnóstico de DRA. Éste es un hallazgo relevante, ya que podría simplificar el manejo clínico a pie de cama. De hecho, una determinación única durante las primeras 12 horas de ingreso cuando sea más conveniente tanto para el paciente como para los

profesionales a su cuidado, no sólo simplificaría su manejo sino que también reduciría costes. No obstante, dada la especificidad de la cohorte del estudio, esta recomendación es por ahora solamente aplicable a la población analizada, y debería comprobarse su validez en poblaciones alternativas.

6.3.1. INDEPENDENCIA DE TIMP-2 E IGFBP7 DE LA SEPSIS

El subgrupo de pacientes sépticos presentó mayor incidencia de DRA (60% vs 34,5%, $p=0,013$) y AKIN ≥ 2 (40% vs 15,5%, $p=0,009$). Como citamos anteriormente, la DRA y la sepsis son factores de riesgo recíprocos.

En la literatura, el NGAL y la cistatina C son dos de los más ampliamente descritos nuevos biomarcadores de DRA. Una de sus principales limitaciones es que ambos biomarcadores aumentan sus concentraciones en presencia de sepsis (99)(100)(142). Recientemente Bell *et al.*(143) publicó un estudio donde se evaluaron los valores de [TIMP-2]·[IGFBP7], cistatina C y NGAL en 94 pacientes críticos no seleccionados. Las concentraciones de cistatina C y NGAL aumentaban en concurrencia con la sepsis, mientras que el índice compuesto por TIMP-2 e IGFBP7 fue independiente. En el mismo trabajo, ni el índice [TIMP-2]·[IGFBP7], cistatina C o NGAL fueron buenos predictores de DRA, con AUC entre 0,35 y 0,51. No obstante, destacaba que la incidencia de DRA en su cohorte, y en consecuencia el número de pacientes con DRA estudiados, era notablemente menor a la de nuestro trabajo (20% en el trabajo de Bell vs. 50% en nuestra población). En concordancia con parte de los hallazgos del grupo de Bell, en el presente estudio el índice [TIMP-2]·[IGFBP7] fue independiente a la sepsis, sin que el momento de su determinación tampoco influyese en sus valores. Éste es un hecho clínicamente relevante comparado con cistatina C, NGAL e incluso sCr, tanto por su independencia de la sepsis como por su precocidad respecto a sCr. En la cohorte del presente trabajo, a su ingreso en UCI tanto los pacientes con DRA como aquellos con sepsis presentaban concentraciones más elevadas de sCr, por lo que a priori serían indistinguibles.

6.3.2. CAPACIDAD PREDICTIVA DE DISFUNCIÓN RENAL AGUDA DEL ÍNDICE [TIMP-2]·[IGFBP7] Y SUS LÍMITES DE DECISIÓN

El estudio del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] como herramienta pronóstica de DRA se basó en la definición de DRA mediante la clasificación AKIN por dos razones. En primer lugar, se buscaba la mayor sensibilidad posible, y en nuestra cohorte la clasificación AKIN fue capaz de identificar más pacientes con DRA. En segundo lugar, en la literatura la clasificación AKIN presenta mejor asociación a eventos adversos que la escala de RIFLE (35)(36).

En la evaluación de la AUC de la curva ROC del índice [TIMP-2]·[IGFBP7], estos biomarcadores se mostraron buenos predictores para el diagnóstico de DRA y AKIN ≥ 2 (AUC 0,798 y 0,805, respectivamente). Estos resultados están en concordancia con los recientemente descritos en la literatura (124)(126)(127)(144)(145), a excepción del citado trabajo de Bell(143). Los pacientes con índices [TIMP-2]·[IGFBP7] elevados presentaron un riesgo 3,15 y 1,85 veces superior para el desarrollo de DRA y AKIN ≥ 2 respectivamente. Teniendo en cuenta los modelos de regresión hallados en el presente trabajo, en pacientes clínicamente graves con hepatopatía pre-ingreso, el riesgo de presentar DRA se incrementaba 3,82 veces.

El estudio Sapphire(124) describió valores del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] $\leq 0,3$, $0,31-2$ y >2 ((ng/mL)²/1000) como los límites de decisión recomendables para identificar los pacientes sin riesgo de DRA, con riesgo elevado y muy elevado de DRA(124). A posteriori, el estudio Opal(146), realizado en seis hospitales norteamericanos previamente no incluidos en el estudio Sapphire, aportaba los mismos límites de decisión. Por el contrario, en la presente cohorte los mejores límites de decisión clínica para identificar el riesgo de DRA calculados con la curva ROC fueron 0,4 y 0,8 ((ng/mL)²/1000), definiendo tres categorías: $\leq 0,4$, $0,41-0,8$ y $>0,8$ ((ng/mL)²/1000) para diferenciar pacientes con bajo, alto o muy alto riesgo para el desarrollo de DRA, respectivamente.

El límite inferior en 0,4 ((ng/mL)²/1000) fue cercano al propuesto por los estudios Sapphire y Opal; el valor ha sido aceptado por la FDA en la aprobación del método Nephrocheck[®] Test para su uso(131). En consecuencia, valores por debajo de dicho límite podrían ser útiles en la toma de decisiones clínicas como, por ejemplo, la indicación de procedimientos que requieran la administración de nefrotóxicos (como algunos contrastes endovenosos) o para evitar el uso precoz de TRR en pacientes oligúricos. En el estudio actual se observó un buen poder predictivo negativo para los límites de decisión calculados. En comparación con el límite superior sugerido en los estudios Sapphire y Opal, el límite superior descrito en el estudio de 0,8 ((ng/mL)²/1000) tenía un VPN del 85,7% para excluir los pacientes con riesgo muy elevado de presentar DRA, y un VPN del 100% para descartar la necesidad de reemplazo renal. Aunque en el presente trabajo la incidencia de TRR fue baja, era equiparable a la descrita en estudios con grandes cohortes de pacientes críticos(137), por lo que nuestro hallazgo es clínicamente relevante.

6.4. PRINCIPALES HALLAZGOS CLÍNICOS DE INTERÉS

El hallazgo más importante del estudio y objetivo principal de esta tesis fue mostrar que el índice combinado de [TIMP-2]·[IGFBP7] es un biomarcador útil para predecir la DRA en las primeras 12 horas de ingreso en pacientes críticos, independientemente de la presencia concomitante de sepsis. Estos biomarcadores fueron útiles para diferenciar entre aquellos pacientes con o sin DRA, y entre aquellos con DRA leve y DRA grave. En el estudio, [TIMP-2]·[IGFBP7] fue capaz de detectar DRA con una AUC de 0,798 y DRA grave con una AUC de 0,805.

Además de pronosticar la DRA, valores elevados de [TIMP-2]·[IGFBP7] se asociaron con mayor riesgo de presentar cualquier grado de DRA y AKIN ≥ 2 . El índice [TIMP-2]·[IGFBP7] guardaba un patrón incremental para estadios de mayor gravedad de DRA. Este resultado está en concordancia con otros recientemente publicados(124)(144).

Otro hallazgo clínicamente relevante es que el valor límite de 0,8 ((ng/mL)²/1000) obtenido mediante curva ROC mostró un VPN 100% para el requerimiento de TRR. Los límites de decisión del fabricante permitían descartar el requerimiento de TRR en un 38,8% de la cohorte. Sin embargo, el límite de decisión en 0,8 ((ng/mL)²/1000) aumentó dicho porcentaje al 64,3%, identificando a 25 pacientes adicionales que no necesitarían TRR. Así, además de su capacidad pronóstica de DRA, estos biomarcadores también podían descartar la necesidad de inicio de reemplazo renal en una proporción clínicamente significativa al evaluarse en las primeras 12 horas de ingreso en UCI.

6.5. LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO

El presente estudio presenta algunas limitaciones que pueden haber influido en los resultados. Respecto al diseño del estudio, la población reclutada fue limitada, debido a los estrictos criterios de inclusión y solamente se reclutaron pacientes en dos centros. Tampoco se realizó el seguimiento de la función renal de los pacientes una vez dados de alta de la UCI. Así pues, no se puede conocer la incidencia de ERC secundaria en la cohorte estudiada.

En oposición a las limitaciones, el estudio presenta algunas fortalezas que dan valor a los resultados obtenidos.

La principal fortaleza del estudio es la rigurosa selección de pacientes que, si bien ha limitado considerablemente el número de efectivos, ha disminuido el efecto de varios de los factores de riesgo para el desarrollo de DRA *de novo*. Así, los resultados obtenidos aportan una información más clara de la progresión del *continuum* de la DRA partiendo de una función renal lo menos alterada posible.

Otra ventaja del estudio es que su diseño se ajustó a la práctica clínica diaria, lo que no sólo facilitó la adherencia del estudio a su propio protocolo, sino también su reproducibilidad en otras poblaciones o centros asistenciales.

Finalmente, el estudio proporciona datos valiosos en la subpoblación de pacientes críticos admitidos desde los departamentos de atención urgente que sugieren el desarrollo de estudios clínicos donde evaluar el índice [TIMP-2]·[IGFBP7] como herramienta adyuvante para descartar precozmente el requerimiento de TRR.

7. CONCLUSIONES

- El principal hallazgo del estudio es que el índice compuesto de los biomarcadores TIMP-2 e IGFBP7 analizados en las 12 horas iniciales de ingreso en la UCI, predice la DRA en pacientes críticos con independencia de la existencia de sepsis. A mayores valores del índice TIMP-2 e IGFBP7, mayor riesgo de presentar DRA y de que ésta sea de mayor gravedad.
- En el presente trabajo se ha demostrado que las determinaciones seriadas del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] en las primeras 12 horas de ingreso en la UCI no mejoraron la capacidad pronóstica para identificar pacientes que desarrollaron DRA.
- En la cohorte de pacientes analizados, un valor límite del índice [TIMP-2]·[IGFBP7] inferior a 0,8 ((ng/mL)²/1000) identifica un 25,5% adicional de pacientes que no requieren depuración extrarrenal en comparación con los límites de decisión previamente descritos en la literatura. El límite de decisión en 0,8 ((ng/mL)²/1000) se asocia a un VPN del 100% para pronosticar la necesidad de TRR.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med.* 2003;31(4):1250–6.
2. Bagshaw SM, Uchino S, Bellomo R, Morimatsu H, Morgera S, Schetz M, et al. Septic acute kidney injury in critically ill patients: clinical characteristics and outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007;2(11):431–9.
3. Lopes JA, Jorge S, Resina C, Santos C, Pereira A, Neves J, et al. Acute renal failure in patients with sepsis. *Crit Care.* 2007;11:411.
4. Plataki M, Kashani K, Cabello-Garza J, Maldonado F, Kashyap R, Kor DJ, et al. Predictors of acute kidney injury in septic shock patients: an observational cohort study. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6:1744–51.
5. Bagshaw SM, Lapinsky S, Dial S, Arabi Y, Dodek P, Wood G, et al. Acute kidney injury in septic shock: Clinical outcomes and impact of duration of hypotension prior to initiation of antimicrobial therapy. *Intensive Care Med.* 2009;35:871–81.
6. Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig, Morimatsu H, Morgera, et al. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA.* 2005;294(7):813–8.
7. Opper M, Engel C, Brunkhorst F-M, Bogatsch H, Reinhart K, Frei U, et al. Acute renal failure in patients with severe sepsis and septic shock--a significant independent risk factor for mortality: results from the German Prevalence Study. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23(3):904–9.
8. Bellomo R, Ronco C, Kellum J a, Mehta RL, Palevsky P. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit care.* 2004;8(4):R204–12.
9. Mehta RL, Kellum J a, Shah S V, Molitoris B a, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care.* 2007;11(2):R31.
10. KDIGO Group, Kellum J a, Lameire N, Aspelin P, Barsoum RS, Burdmann E a, et al. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney Int Suppl.* 2012;2:1–138.
11. Rifai N, Gillette M a, Carr S a. Protein biomarker discovery and validation: the long and uncertain path to clinical utility. *Nat Biotechnol.* 2006;24(8):971–83.
12. Otto GP, Busch M, Sossdorf M, Claus R a. Impact of sepsis-associated cytokine

- storm on plasma NGAL during acute kidney injury in a model of polymicrobial sepsis. *Crit Care*. 2013;17(2):419.
13. Eknoyan G. Emergence of the concept of acute kidney injury. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2008;15(3):308–13.
 14. Sullivan LP, Grantham JJ. *Physiology of the kidney*. Philadelphia: Lea & Febiger; 1982.
 15. Pitts RF. *Physiology of the Kidney and Body Fluids: an introductory text*. Chicago: Year Book Medical Publishers; 1974.
 16. Yip K, Marsh D. $[Ca^{2+}]_i$ in rat afferent arteriole during constriction measured with confocal fluorescence microscopy. *Am J Physiol*. 1996;271(95, F1004-F1011).
 17. Wagner A, Hosltein-Rathlou N, Marsh D. Endothelial Ca^{2+} in afferent arterioles during myogenic activity. *Am J Physiol*. 1996;270(f170-8).
 18. Kon V, Harris R, Ichikawa I. A regulatory role for large vessels in organ circulation. *J Clin Invest*. 1990;85:1728–33.
 19. Hricik D, Browning P, Kopelman R, Goorno W, Madias N, Dzau V. Captopril-Induced Functional Renal Insufficiency in Patients with Bilateral Renal-Artery Stenoses or Renal-Artery Stenosis in a Solitary Kidney. *N Engl J Med*. 1983;308:373–6.
 20. Hricik DE, Dunn MJ. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor-Induced Renal Failure: Causes, Consequences, and Diagnostic Uses. *J Am Soc Nephrol*. 1990;1:845–58.
 21. Abuelo JG. Normotensive ischemic acute renal failure. *N Engl J Med*. 2007;357(8):797–805.
 22. Smith H. *The kidney: structure and function in health and disease*. New York: Oxford University Press; 1951.
 23. Brenner B, Rector F. *The kidney (4th edition)*. Philadelphia: WB Saunders; 1991.
 24. Dunn B, Anderson S, Brenner B. The hemodynamic basis of progressive renal disease. *Semin Nephrol*. 1986;6(2):122–38.
 25. Brenner B, Rector F. *The kidney (6th edition)*. Philadelphia: Saunders; 2000.
 26. Cruz DN, Borgan I, Perazella M a., Bonello M, de Cal M, Corradi V, et al. North East Italian Prospective Hospital Renal Outcome Survey on Acute Kidney Injury (NEiPHROS-AKI): Targeting the problem with the RIFLE criteria. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2007;2(3):418–25.
 27. Wlodzimirow K a, Abu-Hanna A, Slabbekoorn M, Chamuleau RA, Schultz MJ, Bouman CS. A comparison of RIFLE with and without urine output criteria for acute kidney injury in critically ill patients. *Crit Care*. 2012;16(5):R200.
 28. Cockcroft D, Gault M. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephrology*. 1976;16(1):31–41.

29. The Modification of Diet in Renal Disease Study: design, methods, and results from the feasibility study. *Am J Kidney Dis.* 1992;20(1):18–33.
30. Levey AS, Greene T, Beck GJ, Caggiula AW, Kusek JW, Hunsicker LG, et al. Dietary Protein Restriction and the Progression of Chronic Renal Disease: What Have All of the Results of the MDRD Study Shown? *J Am Soc Nephrol.* 1999;10(11):2426–39.
31. Matsushita K, Mahmoodi BK, Woodward M, Emberson JR, Jafar TH, Jee SH, et al. Comparison of risk prediction using the CKD-EPI equation and the MDRD study equation for estimated glomerular filtration rate. *JAMA.* 2012;307(18):1941–51.
32. Mehta RL. Acute Renal Failure Definitions and Classification: Time for Change? *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(8):2178–87.
33. Sutton T a., Fisher CJ, Molitoris B a. Microvascular endothelial injury and dysfunction during ischemic acute renal failure. *Kidney Int.* 2002;62(5):1539–49.
34. Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Stephen L, Longo DL, Jameson JL, et al. *Harrison's Principles of Internal Medicine (16th edition).* McGraw Hill Medical; 2005.
35. Chertow GM, Burdick E, Honour M, Bonventre J V, Bates DW. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. *J Am Soc Nephrol.* 2005 Nov;16(11):3365–70.
36. Lassnigg A, Schmidlin D, Mouhieddine M, Bachmann LM, Druml W, Bauer P, et al. Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15(6):1597–605.
37. Pickering JW, Endre ZH. GFR shot by RIFLE: errors in staging acute kidney injury. *Lancet.* Elsevier Ltd; 2009;373(9672):1318–9.
38. Zappitelli M, Parikh CR, Akcan-Arikan A, Washburn KK, Moffett BS, Goldstein SL. Ascertainment and epidemiology of acute kidney injury varies with definition interpretation. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3(4):948–54.
39. Lopes J, Fernandes P, Jorge S, Gonçalves S, Alvarez A, Costa e Silva Z, et al. Acute kidney injury in intensive care unit patients: a comparison between the RIFLE and the Acute Kidney Injury Network classifications. *Crit Care.* 2008;12(4):R110.
40. Waikar SS, Betensky R a., Bonventre J V. Creatinine as the gold standard for kidney injury biomarker studies. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24(11):3263–5.
41. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001;29(7):1303–10.
42. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med.* 2008; 296-327 p.
43. Linde-Zwirble WT, Angus DC. Severe sepsis epidemiology: sampling, selection, and society. *Crit Care.* 2004;8(4):222–6.

44. Angus DC (Pitt), van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*. 2013;369(9):840–51.
45. Funk D, Parrillo J, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin*. 2009;25(1):83–101.
46. Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International pediatric sepsis consensus conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med*. 2005;6(1):2–8.
47. Opal SM, Rubenfeld GD, Poll T Van Der, Vincent J, Angus DC. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA J Am Med Assoc*. 2016;315(8):801–10.
48. Hotchkiss RS, Karl IE. The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. *N Engl J Med*. 2003;348(2):138–50.
49. Hotchkiss RS, Nicholson DW. Apoptosis and caspases regulate death and inflammation in sepsis. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(11):813–22.
50. Russell J a. Management of sepsis. *N Engl J Med*. 2006;355:1699–713.
51. Gomez H, Ince C, De Backer D, Pickkers P, Payen D, Hotchkiss J, et al. A unified theory of sepsis-induced acute kidney injury: inflammation, microcirculatory dysfunction, bioenergetics, and the tubular cell adaptation to injury. *Shock*. 2014;41(1):3–11.
52. Singer PM, De Santis V, Vitale D, Jeffcoate W. Multiorgan failure is an adaptive, endocrine-mediated, metabolic response to overwhelming systemic inflammation. *Lancet*. 2004;364(9433):545–8.
53. Lerolle N, Nochy D, Guérot E, Bruneval P, Fagon J-Y, Diehl J-L, et al. Histopathology of septic shock induced acute kidney injury: apoptosis and leukocytic infiltration. *Intensive Care Med*. 2010;36(3):471–8.
54. Brenner M, Schaer GL MD. Detection of renal blood flow abnormalities in septic and critically ill patients using a newly designed indwelling termodilution renal vein catheter. *Chest*. 1990;98:170–9.
55. May CN, Ishikawa K, Wan L, Williams J, Wellard RM, Pell GS, et al. Renal bioenergetics during early gram-negative mammalian sepsis and angiotensin II infusion. *Intensive Care Med*. 2012;38(5):886–93.
56. Pettilä V, Bellomo R. Understanding acute kidney injury in sepsis. *Intensive Care Med*. 2014;40(7):1018–20.
57. Gupta A, Rhodes GJ, Berg DT, Gerlitz B, Molitoris B a, Grinnell BW. Activated protein C ameliorates LPS-induced acute kidney injury and downregulates renal iNOS and angiotensin 2. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;293(1):F245–54.
58. Cunha FQ, Assreuy J, Moss DW, Rees D, Leal LM, Moncada S, et al. Differential induction of nitric oxide synthase in various organs of the mouse during endotoxaemia: role of TNF-alpha and IL-1-beta. *Immunology*. 1994;81(2):211–5.
59. Trzeciak S, Cinel I, Dellinger P, Shapiro NI, Arnold RC, Parrillo JE, et al.

- Resuscitating the Microcirculation in Sepsis: The Central Role of Nitric Oxide, Emerging Concepts for Novel Therapies, and Challenges for Clinical Trials. *Acad Emerg Med*. 2008;15(5):399–413.
60. Green DR, Galluzzi L, Kroemer G. Mitochondria and the autophagy-inflammation-cell death axis in organismal aging. *Science*. 2011;333(6046):1109–12.
 61. Soni SS, Ronco C, Katz N, Cruz DN. Early diagnosis of acute kidney injury: the promise of novel biomarkers. *Blood Purif*. 2009;28(3):165–74.
 62. Murray PT, Devarajan P, Levey AS, Eckardt KU, Bonventre J V, Lombardi R, et al. A framework and key research questions in AKI diagnosis and staging in different environments. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3(3):864–8.
 63. Pons B, Lautrette A, Oziel J, Dellamonica J, Vermesch R, Ezingard E, et al. Diagnostic accuracy of early urinary index changes in differentiating transient from persistent acute kidney injury in critically ill patients: multicenter cohort study. *Crit Care*. BioMed Central Ltd; 2013;17(2):R56.
 64. Bagshaw SM, Langenberg C, Bellomo R. Urinary biochemistry and microscopy in septic acute renal failure: a systematic review. *Am J Kidney Dis*. 2006;48(5):695–705.
 65. Bagshaw SM, Bennett M, Devarajan P, Bellomo R. Urine biochemistry in septic and non-septic acute kidney injury: a prospective observational study. *J Crit Care*. 2013;28(4):371–8.
 66. Moore E, Bellomo R, Nichol A. Biomarkers of acute kidney injury in anesthesia, intensive care and major surgery: from the bench to clinical research to clinical practice. *Minerva Anesthesiol*. 2010;76(6):425–40.
 67. Alyass A, Turcotte M, Meyre D. From big data analysis to personalized medicine for all: challenges and opportunities. *BMC Medical Genomics*; 2015;8(1):33.
 68. Wanichthanarak K, Fahrman JF, Grapov D. Genomic, Proteomic and Metabolomic Data Integration Strategies. *Biomark Insights*. 2015;10(s4):1–6.
 69. Smith MPW, Banks RE, Wood SL, Lewington AJP, Selby PJ. Application of proteomic analysis to the study of renal diseases. *Nat Rev Nephrol*. 2009;5(12):701–12.
 70. Ho J, Dart A, Rigatto C. Proteomics in acute kidney injury--current status and future promise. *Pediatr Nephrol*. 2014 Feb;29(2):163–71.
 71. Weiss RH, Kim K. Metabolomics in the study of kidney diseases. *Nat Rev Nephrol*. 2012;8(1):22–33.
 72. Portilla D, Schnackenberg L, Beger RD. Metabolomics as an extension of proteomic analysis: study of acute kidney injury. *Semin Nephrol*. 2007;27(6):609–20.
 73. Chen R, Snyder M. Promise of personalized omics to precision medicine. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2013;5(1):73–82.
 74. Bonventre J V, Vaidya VS, Schmouder R, Feig P, Dieterle F. Next-generation

- biomarkers for detecting kidney toxicity. *Nat Biotechnol.* 2010;28(5):436–40.
75. Ostermann M, Philips BJ, Forni LG. Clinical review: Biomarkers of acute kidney injury: where are we now? *Crit Care.* 2012;16:233.
 76. Dharnidharka V, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of acute kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2002;40(2):221–6.
 77. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Hüsing J, Göring F, Pietruck F, Janssen O, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int.* 2004;66(3):1115–22.
 78. Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, Hillege HL, De Zeeuw D, Curhan GC, et al. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int.* 2004;65(4):1416–21.
 79. Bagshaw SM, Bellomo R. Cystatin C in acute kidney injury. *Curr Opin Crit Care.* 2010;16(6):533–9.
 80. Nejat M, Pickering JW, Walker RJ, Endre ZH. Rapid detection of acute kidney injury by plasma cystatin C in the intensive care unit. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25:3283–9.
 81. Wald R, Liangos O, Perianayagam MC, Kolyada A, Herget-Rosenthal S, Mazer CD, et al. Plasma cystatin C and acute kidney injury after cardiopulmonary bypass. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(8):1373–9.
 82. Spahillari A, Parikh CR, Sint K, Koyner JL, Patel UD, Edelstein CL, et al. Serum cystatin C- versus creatinine-based definitions of acute kidney injury following cardiac surgery: a prospective cohort study. *Am J Kidney Dis.* 2012;60(6):922–9.
 83. Nejat M, Pickering JW, Walker RJ, Westhuyzen J, Shaw GM, Frampton CM, et al. Urinary cystatin C is diagnostic of acute kidney injury and sepsis, and predicts mortality in the intensive care unit. *Crit Care.* 2010;14(3):R85.
 84. Wellwood J, Ellis B, Price R, Hammond K, Thompson A, Jones N. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activities in patients with renal disease. *Br Med J.* 1975;8:408–11.
 85. Meyer BR, Fischbein A, Rosenman K, Lerman Y, Drayer DE, Reidenberg MM. Increased urinary enzyme excretion in workers exposed to nephrotoxic chemicals. *Am J Med.* 1984;76(6):989–98.
 86. Koyner JL, Bennett MR, Worcester EM, Ma Q, Raman J, Kasza KE, et al. Urinary cystatin C as an early biomarker of acute kidney injury following adult cardiothoracic surgery. *Kidney Int.* 2009;74(8):1059–69.
 87. Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS, Han WK, Wald R, Tighiouart H, et al. Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(3):904–12.
 88. Doi K, Negishi K, Ishizu T, Katagiri D, Fujita T, Matsubara T, et al. Evaluation of

- new acute kidney injury biomarkers in a mixed intensive care unit. *Crit Care Med.* 2011;39(11):2464–9.
89. Ichimura T, Bonventre J V., Bailly V, Wei H, Hession C a., Cate RL, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *J Biol Chem.* 1998;273(7):4135–42.
 90. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre J V. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): A novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int.* 2002;62(1):237–44.
 91. Mishra J. Identification of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin as a Novel Early Urinary Biomarker for Ischemic Renal Injury. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(10):2534–43.
 92. Mcllroy DR, Wagener G, Lee HT. Biomarkers of Acute Kidney Injury. *Anaesthesiology.* 2010;112:998–1004.
 93. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet.* 2005;365(9466):1231–8.
 94. Haase-Fielitz A, Bellomo R, Devarajan P, Story D, Matalanis G, Dragun D, et al. Novel and conventional serum biomarkers predicting acute kidney injury in adult cardiac surgery--a prospective cohort study. *Crit Care Med.* 2009;37(2):553–60.
 95. Clerico A, Galli C, Fortunato A, Ronco C. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as biomarker of acute kidney injury: a review of the laboratory characteristics and clinical evidences. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50(9):1505–17.
 96. Vanmassenhove J, Vanholder R, Nagler E, Van Biesen W. Urinary and serum biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury: an in-depth review of the literature. *Nephrol Dial Transplant.* 2013;28(2):254–73.
 97. Cruz DN, de Cal M, Garzotto F, Perazella M a, Lentini P, Corradi V, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early biomarker for acute kidney injury in an adult ICU population. *Intensive Care Med.* 2010;36(3):444–51.
 98. Makris K, Markou N, Evodia E, Dimopoulou E, Drakopoulos I, Ntetsika K, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as an early marker of acute kidney injury in critically ill multiple trauma patients. *Clin Chem Lab Med.* 2009;47(1):79–82.
 99. Wheeler DS, Devarajan P, Ma Q, Harmon K, Monaco M, Cvijanovich N, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury in critically ill children with septic shock. *Crit Care Med.* 2008;36(4):1297–303.
 100. Mårtensson J, Bell M, Oldner A, Xu S, Venge P, Martling C-R, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocaline in adult septic patients with and without acute kidney injury. *Intensive Care Med.* 2010;36(8):1333–40.
 101. Shapiro NI, Trzeciak S, Hollander JE, Birkhahn R, Otero R, Osborn TM, et al. A

- prospective, multicenter derivation of a biomarker panel to assess risk of organ dysfunction, shock, and death in emergency department patients with suspected sepsis. *Crit Care Med.* 2009;37(1):96–104.
102. Haase M, Bellomo R, Devarajan P, Schlattmann P, Haase-Fielitz A. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am J kidney Dis.* 2009;54(6):1012–24.
 103. Kùmpers P, Hafer C, Lukasz A, Lichtinghagen R, Brand K, Fliser D, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin at inception of renal replacement therapy predicts survival in critically ill patients with acute kidney injury. *Crit Care.* 2010;14(1):R9.
 104. Bonventre J, Yang L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *J Clin Investig.* 2011;121(11):4210–21.
 105. Witzgall R, Brown D, Schwarz C, Bonventre J V. Localization of Proliferating Cell Nuclear Antigen , Vimentin , c-Fos , and Clusterin in the Postischemic Kidney. *J Clin Invest.* 1994;93:2175–88.
 106. Seo D-W, Li H, Guedez L, Wingfield PT, Diaz T, Salloum R, et al. TIMP-2 mediated inhibition of angiogenesis: an MMP-independent mechanism. *Cell.* 2003;114(2):171–80.
 107. Nguyen M. Human endothelial gelatinases and angiogenesis. *Int J Biochem Cell Biol.* 2001;33(10):960–70.
 108. Shapiro S, Khodalev O, Bitterman H, Auslender R, Lahat N. Different activation forms of MMP-2 oppositely affect the fate of endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2010;298(4):C942–51.
 109. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 2003;92(8):827–39.
 110. Akaogi K, Okabe Y, Sato J, Nagashima Y, Yasumitsu H, Sugahara K, et al. Specific accumulation of tumor-derived adhesion factor in tumor blood vessels and in capillary tube-like structures of cultured vascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(16):8384–9.
 111. Oh Y, Nagalla SR, Yamanaka Y, Kim H, Wilson E, Rosenfeld RG. Synthesis and Characterization of Insulin-like Growth Factor-binding Protein 7 (IGFBP7). *Biochemistry.* 1996;1:30322–5.
 112. Ahmed S, Yamamoto K, Sato Y, Ogawa T, Herrmann A, Higashi S, et al. Proteolytic processing of IGFBP-related protein-1 (TAF/angiomodulin/mac25) modulates its biological activity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;310(2):612–8.
 113. Tamura K, Hashimoto K, Suzuki K, Yoshie M, Kutsukake M, Sakurai T. Insulin-like growth factor binding protein-7 (IGFBP7) blocks vascular endothelial cell growth factor (VEGF)-induced angiogenesis in human vascular endothelial cells. *Eur J Pharmacol.* 2009;610(1-3):61–7.

114. Darr A, Klochendler A, Isaac S, Eden A. Loss of IGFBP7 expression and persistent AKT activation contribute to SMARCB1/Snf5-mediated tumorigenesis. *Oncogene*. 2013;33(23):1–9.
115. Wajapeyee N, Serra RW, Zhu X, Mahalingam M, Green MR. Oncogenic BRAF induces senescence and apoptosis through pathways mediated by the secreted protein IGFBP7. *Cell*. 2008;132(3):363–74.
116. Benatar T, Yang W, Amemiya Y, Evdokimova V, Kahn H, Holloway C, et al. IGFBP7 reduces breast tumor growth by induction of senescence and apoptosis pathways. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;133:563–73.
117. Seo D-W, Li H, Qu C-K, Oh J, Kim Y-S, Diaz T, et al. Shp-1 mediates the antiproliferative activity of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in human microvascular endothelial cells. *J Biol Chem*. 2006;281(6):3711–21.
118. Boonstra J, Post JA. Molecular events associated with reactive oxygen species and cell cycle progression in mammalian cells. *Gene*. 2004;337:1–13.
119. Klein T, Bischoff R. Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases. *Amino Acids*. 2011;41(2):271–90.
120. Price PM, Safirstein RL, Megyesi J. The cell cycle and acute kidney injury. *Kidney Int*. 2009;76(6):604–13.
121. Yang Q-H, Liu D-W, Long Y, Liu H-Z, Chai W-Z, Wang X-T. Acute renal failure during sepsis: potential role of cell cycle regulation. *J Infect*. 2009;58(6):459–64.
122. Ferenbach DA, Bonventre J V. Mechanisms of maladaptive repair after AKI leading to accelerated kidney ageing and CKD. *Nat Rev Nephrol*. 2015;11(5):264–76.
123. Canaud G, Bonventre J. Cell cycle arrest and the evolution of chronic kidney disease from acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant*. 2015;30(4):575–83.
124. Kashani K, Al-Khafaji A, Ardiles T, Artigas A, Bagshaw SM, Bell M, et al. Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury. *Crit Care*. 2013;17(1):R25.
125. Aregger F, Uehlinger DE, Witowski J, Brunisholz R a, Hunziker P, Frey FJ, et al. Identification of IGFBP-7 by urinary proteomics as a novel prognostic marker in early acute kidney injury. *Kidney Int*. 2014;85(4):909–19.
126. Bihorac A, Chawla LS, Shaw AD, Al-Khafaji A, Davison DL, DeMuth GE, et al. Validation of cell-cycle arrest biomarkers for acute kidney injury using clinical adjudication. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;189(8):932–9.
127. Meersch M, Schmidt C, Van Aken H, Martens S, Rossaint J, Singbartl K, et al. Urinary TIMP-2 and IGFBP7 as early biomarkers of acute kidney injury and renal recovery following cardiac surgery. *PLoS One*. 2014;9(3):e93460.
128. Knaus A, Draper A, Wagner P, Zimmerman E, Bastos G, Lotring T, et al. The APACHE III prognostic system. *Chest*. 1991;100:1619–36.
129. Le Gall J-R. A New Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) Based on a European/North American Multicenter Study. *JAMA*. 1993;270(24):2957.

130. Vincent J, Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter P, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on “sepsis-related problems” of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med.* 1998;26(11):1793–800.
131. FDA. Evaluation of Automatic Class III Designation for Nephrocheck Test System. 2014. [Última consulta 3 de abril 2016] Disponible en: http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/den130031.pdf
132. Metz CE. Basic principles of ROC analysis. *Semin Nucl Med.* 1978;8(4):283–98.
133. Bienholz A, Wilde B, Kribben A. From the nephrologist’s point of view: diversity of causes and clinical features of acute kidney injury. *Clin Kidney J.* 2015;8(4):405–14.
134. Hou S, Bushinsky D, Wish J, Cohen J, Harrington J. Hospital-acquired renal insufficiency: a prospective study. *Am J Med.* 1983;74(2):243–8.
135. Wang HE, Muntner P, Chertow GM, Warnock DG. Acute kidney injury and mortality in hospitalized patients. *Am J Nephrol.* 2012 Jan;35(4):349–55.
136. Nash K, Hafeez A, Hou S. Hospital-acquired renal insufficiency. *Am J Kidney Dis.* 2002;39(5):930–6.
137. Metnitz PGH, Krenn CG, Steltzer H, Lang T, Ploder J, Lenz K, et al. Effect of acute renal failure requiring renal replacement therapy on outcome in critically ill patients. *Crit Care Med.* 2002;30(9):2051–8.
138. Hoste E a J, Schurgers M. Epidemiology of acute kidney injury: how big is the problem? *Crit Care Med.* 2008;36(4 Suppl):S146–51.
139. Mehta RL, Bouchard J, Soroko SB, Ikizler TA, Paganini EP, Chertow GM, et al. Sepsis as a cause and consequence of acute kidney injury: Program to Improve Care in Acute Renal Disease. *Intensive Care Med.* 2011;37(2):241–8.
140. Himmelfarb J, Le P, Klenzak J, Freedman S, McMenamin ME, Ikizler TA. Impaired monocyte cytokine production in critically ill patients with acute renal failure. *Kidney Int.* 2004;66:2354–60.
141. Stege D, Meersch M, Schmidt C, Aken H Van, Rossaint J, Go D, et al. Validation of Cell-Cycle Arrest Biomarkers for Acute Kidney Injury after Pediatric Cardiac Surgery. 2014;9(10).
142. Bagshaw SM, Bennett M, Haase M, Haase-Fielitz A, Egi M, Morimatsu H, et al. Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in septic versus non-septic acute kidney injury in critical illness. *Intensive Care Med.* 2010;36(3):452–61.
143. Bell M, Larsson A, Venge P, Bellomo R, Mårtensson J. Assessment of Cell-Cycle Arrest Biomarkers to Predict Early and Delayed Acute Kidney Injury. *Dis Markers.* 2015;2015:1–9.
144. Yamashita T, Doi K, Hamasaki Y, Matsubara T, Ishii T, Yahagi N, et al. Evaluation of urinary tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in acute kidney injury: a

- prospective observational study. *Crit Care*. 2014;18(6):1–9.
145. Gocze I, Koch M, Renner P, Zeman F, Graf BM, Dahlke MH, et al. Urinary biomarkers TIMP-2 and IGFBP7 early predict acute kidney injury after major surgery. *PLoS One*. 2015;10(3):e0120863.
 146. Hoste E a. J, McCullough P a., Kashani K, Chawla LS, Joannidis M, Shaw a. D, et al. Derivation and validation of cutoffs for clinical use of cell cycle arrest biomarkers. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(11):2054–61.

9. ANEXOS

9.1. DICTAMEN FAVORABLE DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

 HOSPITAL DE LA SANTA CREU I SANT PAU UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA		Sant Antoni Ma Claret, 167 · 08025 Barcelona Tel. 93 291 90 00 · Fax 93 291 94 27 e-mail: santpau@santpau.cat www.santpau.cat	
Barcelona, a 11 de Abril de 2014			
Dr. Antoni Betbesé Medicina Intensiva			
TÍTULO: TIMP-2 (Urine tissue inhibitor of metalloproteinases-2), IGFBP-7 (Insuline-like growth factor-binding protein-7) for the early detection of acute kidney injury in critically ill patients			
Ref. HSCSP: 11/105 (OBS)	CÓDIGO LAB: HBSP-NPC-2011-84	EUDRA CT: NO PROCEDE	PROMOTOR: INSTITUT DE RECERCA
CEIC REFERENCIA: NO PROCEDE		IP: Dr. A. BETBESÉ / MEDICINA INTENSIVA	
Adjunto le envío la resolución del Comité Ético de Investigación Clínica, sobre la Modificación Relevante nº1, del estudio de referencia, en su reunión 08/04/2014.			
Atentamente,			
			
Vanesa Mansilla Secretaria CEIC - HSCSP			
Fundació del Centre d'Estudis de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau - NIF G 99.786.984 CSSE Consorci Sanitari de Barcelona 4000751			

DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Doña Milagros Alonso Martínez, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica de la Fundació de Gestió Sanitària del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona,

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la **modificación** propuesta por el promotor, al estudio observacional:

TÍTULO: TIMP-2 (Urine tissue inhibitor of metalloproteinases-2), IGFBP-7 (Insuline-like growth factor-binding protein-7) for the early detection of acute kidney injury in critically ill patitents		
PROMOTOR: INSTITUT DE RECERCA HSCSP		
CÓDIGO	Nº EudraCT	Ref. HSCSP
HBSP-NPC-2011-84	NO PROCEDE	11/105 (OBS)

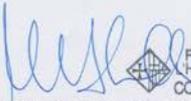
Consistente en:

MODIFICACIÓN Nº1:

- Protocolo, versión 2, de Abril de 2014

Y emite: **INFORME FAVORABLE**

Lo que firmo en Barcelona, a 9 de Abril de 2014.


 FUNDACIÓ DE GESTIÓ SANITÀRIA DE
HOSPITAL DE LA SANTA CREU I SANT PAU
COMITÉ ÈTIC D'INVESTIGACIÓ CLÍNICA
Dra. Milagros Alonso Martínez

9.2. HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

HOJA DE INFORMACIÓN - ESTUDIO

Proyecto de investigación: **NGAL (NEUTROPHIL GELATINASE-ASSOCIATED LIPOCALIN), TIMP-2 (URINE TISSUE INHIBITOR OF METALLOPROTEINASES-2) E IGFPB-7 (INSULINE-LIKE GROWTH FACTOR-BINDING PROTEIN-7) EN PACIENTES CRÍTICOS. UTILIDAD PARA EL DIAGNÓSTICO DEL FRACASO RENAL AGUDO y EL PRONÓSTICO DE LA SUPERVIVENCIA**

El estudio en el que le proponemos formar parte es un estudio que trata de buscar un marcador biológico (en la sangre o en la orina) capaz de detectar de una forma precoz la posibilidad de desarrollar un problema de riñón durante su estancia en la Unidad de Cuidados Intensivos.

El marcador biológico que va a ser objeto de estudio se llaman NGAL y [TIMP-2].[IGFPB-7].

El NGAL y [TIMP-2].[IGFPB-7] en un análisis de sangre o de orina puede alertar de que una presunta enfermedad que aún no se ha producido acabe desarrollándose. Esto tiene mucho interés ya que de esta manera cabe la posibilidad de tratar esa enfermedad cuando todavía no ha dado la cara y poder, así, evitar que se acabe complicando durante su estancia en la UCI.

Para ello es necesario, realizar una extracción de unos 5 mililitros de sangre y de orina en el momento de su ingreso en la UCI. Dicha cantidad es muy inferior a cualquier análisis rutinario de sangre y orina que se haya realizado usted como control en su empresa o como solicitud por parte de su médico al realizarle un chequeo. Además de realizar estos análisis, se recogerá información clínica sobre su evolución en la UCI. Toda la información será recogida de forma anónima, de acuerdo a la ley vigente en España (Ley Orgánica LOPD 15/1999).

Su negativa a permitir que las muestras biológicas sean utilizadas para investigación biomédica no modificará la actitud terapéutica ni la atención que recibirá del equipo asistencial hacia su persona. De la misma manera, la aceptación a dicha solicitud tampoco variará la actitud terapéutica o atención que recibirá.

Le informamos que el hecho de firmar el presente consentimiento, no le impide retirarlo en el momento que quiera y sin tener que dar ningún tipo de explicaciones al respecto.

9.3. CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO - ESTUDIO

Yo (nombre del familiar o allegado).....
con DNI nº con relación con el paciente
..... accedo a que (nombre del paciente)
....., entre a formar parte del Estudio
titulado **NGAL (NEUTROPHIL GELATINASE-ASSOCIATED LIPOCALIN), TIMP-2 (URINE
TISSUE INHIBITOR OF METALLOPROTEINASES-2) E IGFBP-7 (INSULINE-LIKE GROWTH
FACTOR-BINDING PROTEIN-7) EN PACIENTES CRÍTICOS. UTILIDAD PARA EL
DIAGNÓSTICO DEL FRACASO RENAL AGUDO y EL PRONÓSTICO DE LA
SUPERVIVENCIA**, propuesto por el Doctor (nombre del médico que propone el
estudio).....

Tras hablar con el Dr. (nombre del médico que propone el estudio)
..... :

1. He podido leer la hoja de información.
2. He comprendido la metodología del estudio.
3. He podido hacer preguntas y he recibido respuestas satisfactorias.

Asimismo soy consciente que puedo renunciar a permanecer en el estudio:

1. Cuando quiera.
2. Sin tener que dar explicaciones.
3. Sin que ello comporte cambios en el tratamiento del paciente.

Barcelona, a de de

Firma del Familiar o Allegado

Firma del médico

