



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
"SALVADOR ZUBIRÁN"

**HSP 72 ES UN BIOMARCADOR TEMPRANO DE DAÑO RENAL
AGUDO EN PACIENTES CRÍTICAMENTE ENFERMOS**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN NEFROLOGÍA Y METABOLISMO MINERAL

PRESENTA:

DR. OMAR ISRAEL SALAS NOLASCO

TUTORES DE TESIS:

DR. LUIS EDUARDO MORALES BUENROSTRO

DR. RICARDO CORREA ROTTER

MÉXICO, D.F.

AGOSTO DE 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dr. Luis Federico Uscanga Domínguez
Jefe de Enseñanza

Dr. Ricardo Correa Rotter
Jefe del Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral
Tutor de tesis

Dr. Luis Eduardo Morales Buenrostro
Tutor de Tesis
Departamento de Nefrología y
Metabolismo Mineral



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

TESIS

**HSP 72 ES UN BIOMARCADOR TEMPRANO DE DAÑO RENAL
AGUDO EN PACIENTES CRÍTICAMENTE ENFERMOS**

AGRADECIMIENTOS

A MARLENE MI ESPOSA, POR SU AMOR Y APOYO

A MIS PADRES, POR SU AMOR Y DEDICACIÓN

A LA VIDA

MÉXICO, D.F.

2011

ÍNDICE

RESUMEN	5
INTRODUCCIÓN Y MARCO TEÓRICO	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
JUSTIFICACIÓN.....	16
HIPÓTESIS.....	17
OBJETIVOS	18
PACIENTES Y MÉTODOS.....	19
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	24
RESULTADOS.....	25
DISCUSIÓN.....	30
CONCLUSIONES.....	33
BIBLIOGRAFÍA.....	34

RESUMEN

Antecedentes: El daño renal agudo (DRA) es causa de morbi-mortalidad elevada en unidades de cuidados intensivos (UCI). Se han propuesto diferentes biomarcadores urinarios para diagnóstico temprano en situaciones específicas como NGAL (Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin), KIM-1 (Kidney Injury Molecule type 1) e IL-18 (interleucina 18). Hsp72 forma parte de las proteínas de choque térmico cuya síntesis se incrementa a nivel renal en DRA y recientemente se ha demostrado que es un biomarcador temprano en animales y humanos.

Objetivos: Evaluar el rendimiento de Hsp72 comparado con KIM-1, NGAL e IL-18 como biomarcador en la identificación temprana de DRA en UCI.

Material y Métodos. Estudio prospectivo, analítico y observacional realizado en pacientes críticamente enfermos (falla de al menos 2 órganos) del INNSZ. Se midió Hsp72, KIM-1, NGAL e IL-18 por técnica de ELISA en orina del día 1, 5 y 10 de su estancia en terapia intensiva de los pacientes control y en aquellos que desarrollaron DRA diariamente desde 3 días antes y hasta 2 días después del desarrollo de DRA. Se realizaron curvas ROC para valorar especificidad y sensibilidad de los diferentes biomarcadores al día - 2 y - 1.

Resultados. Se incluyeron en el análisis 37 pacientes, 17 desarrollaron DRA y 20 controles. Comparado con el grupo control, los niveles de Hsp72 se elevaron de manera significativa desde 48 horas antes del desarrollo de DRA (con sensibilidad de 100% y especificidad de 90%); igualmente, KIM-1 mostró una elevación estadísticamente significativa al día -2 del DRA (con sensibilidad de 83 % y especificidad del 95 % para un nivel de corte de 16 ng/mL); NGAL presentó significancia estadística desde el día -2 del DRA (con sensibilidad del 83 % y especificidad del 90 % para un nivel de corte de 20000 pg/mL). En IL-18, la elevación también fue significativa a las 48 hrs previas al DRA, con sensibilidad del 92 % y especificidad del 100 % a un nivel de corte de 150 pg/mL.

Conclusiones. Hsp72 es un nuevo biomarcador que al igual que KIM-1, IL 18 y NGAL mostraron buena sensibilidad y especificidad para identificar 48 horas antes a pacientes que posteriormente desarrollaron DRA por criterios de AKIN.

1.- INTRODUCCIÓN

Marco teórico

DEFINICIÓN Y DIAGNÓSTICO: El Daño Renal Agudo (DRA), es un síndrome clínico caracterizado por deterioro súbito y sostenido de la función renal, con la consecuente retención de productos nitrogenados (urea y creatinina) y no nitrogenados (1). La primera descripción de DRA fue hecha por William Heberden en 1802 (2), con subsecuentes descripciones durante los grandes conflictos armados; sin embargo, fue hasta 1951 cuando Homer W. Smith introdujo el concepto de ARI (por sus siglas en inglés, Acute Renal Injury), actualmente llamado en español DRA; descrito desde un punto de vista bioquímico, con el incremento súbito de azoados. Desde entonces el DRA es un término genérico que dependiendo de la duración y gravedad, se acompaña de acidosis metabólica, hiperkalemia y cambios en el balance hidroelectrolítico (3).

A pesar de lo anterior, el concepto de DRA ha sido difícil de establecer, sobre todo si tomamos en cuenta que la hiperazoemia y la oliguria (dos marcadores cardinales de DRA), pueden representar patologías y al mismo tiempo, una respuesta normal a la hipovolemia (4). Aunque la producción de orina representa un índice funcional, la relación entre la producción de orina y la lesión histológica es compleja, ya que puede existir oliguria profunda con función tubular intacta (4).

Basado en lo anterior, una definición universal de DRA no ha podido consensarse, de hecho un estudio mostró más de 35 publicaciones relacionadas con diferentes definiciones de DRA (5).

Por lo anterior, los estudios epidemiológicos publicados así como las estrategias terapéuticas sugeridas han mostrado amplias variaciones clínicas (3, 4).

El grupo de expertos del grupo ADQI (por sus siglas en inglés, Acute Dialysis Quality Initiative), realizaron una revisión sistemática de la literatura disponible y propusieron los criterios de RIFLE (Risk, Injury, Failure, Loss y Endstage renal disease) con la intención de consensar una definición y clasificación operacional de la DRA, que permitiera su prevención y tratamiento, así como la estandarización en su estudio (Tabla 1).

Tabla 1.-Criterios de clasificación RIFLE de Daño Renal Agudo

Categoría	Creatinina sérica/TFG	Criterio por VU
RIFLE		
Riesgo (R)	Aumento \geq 150% / Disminución \geq 25%	VU < 0.5 ml/Kg/hr por 6 hrs.
Daño (I)	Aumento del 200-300% / Disminución \geq 50%	VU < 0.5 ml/Kg/hr por 12 hrs.
Falla (F)	Aumento \geq 300% ó creatinina \geq 4 mg/dl (aumento agudo de \geq 0.5 mg/dl).Disminución \geq 75% de la TFG.	VU < 0.3 ml/Kg/hr por 24 hrs o anuria por 12 hrs.
Pérdida (L)	DRA persistente = Pérdida completa de la función renal por más de 4 semanas. La necesidad de TSR por más de 4 semanas.	
ERCT (E)	La necesidad de TSR renal por más de 3 meses.	
TFG = Tasa de filtración glomerular; VU = Volumen urinario; DRA = Daño renal agudo; ERCT = Enfermedad renal crónica terminal; TSR = Terapia de sustitución renal.		

En el 2007 el grupo AKIN (por sus siglas en inglés, Acute Kidney Injury Network) propuso un nuevo sistema de clasificación para daño renal agudo, en el cual prácticamente realizan una reconfiguración de los criterios RIFLE previamente señalados, lo cual en comparación a la clasificación de RIFLE, aparentemente mejoraba la sensibilidad para predecir la mortalidad hospitalaria a las 24 y 48 horas (10).

Esta nueva clasificación, conocida como AKIN, divide a la población en tres estadios de gravedad, relacionados directamente con el incremento en las cifras de creatinina sérica e inversamente proporcional con la cuantificación del volumen urinario (Tabla 2).

EPIDEMIOLOGIA: En la actualidad, la falla renal aguda es un problema hospitalario, sobre todo en pacientes críticamente enfermos, ya que se relaciona con un incremento en la mortalidad (3). A pesar que en los últimos años ha habido un extenso avance en el conocimiento de la fisiopatología y del tratamiento dialítico y no dialítico, poco ha podido incidirse en la morbimortalidad hospitalaria de pacientes con DRA (5).

Tabla 2. Criterios de clasificación de AKIN para Daño Renal Agudo

Estadio	Creatinina	Gasto urinario
Estadio 1	Incremento ≥ 0.3mg/dl o incremento $\geq 150-200\%$ del valor basal	< 0.5ml/kg/hora > 6 hrs
Estadio 2	Incremento $> 200\%$ a 300% del valor basal	< 0.5ml/kg/hora > 12 hrs
Estadio 3	Incremento $> 300\%$ de la basal o ≥ 4.0mg/dl con incremento agudo de al menos 0.5mg/dl	0.3ml/kg/por 24 hrs o anuria por 12 hrs

Los estudios utilizando la clasificación AKIN (Tabla 2) muestran resultados novedosos ya que su aplicación, al tomar en cuenta incrementos mínimos en la cifras de creatinina sérica, aumenta la tasa de incidencia de DRA comparada con la incidencia utilizando los criterios RIFLE; por lo tanto en teoría esto último permitiría una detección más temprana de pacientes con DRA e incluso algunos autores señalan que su aplicación podría servir para modificar la mortalidad hospitalaria, situación que hasta ahora no sido completamente demostrada (6,7) Por lo tanto, el enfoque actual va dirigido a evaluar estrechamente a los pacientes que se encuentren en riesgo de DRA y lograr identificar estos al inició de la afección túbulo-glomerular y no cuando el daño ya está establecido debido a que en esa etapa las maniobras terapéuticas para minimizar el daño son prácticamente nulas. (9)

BIOMARCADORES: En años recientes múltiples líneas de investigación se han enfocado en la búsqueda de biomarcadores que tengan capacidad predictiva, diagnóstica y pronóstica de DRA (8). Entre los biomarcadores más extensamente evaluados se encuentran *Kidney Injure Molecule 1 (KIM-1)*, *Neutrophil Gelatinase associated lipocalin (NGAL)*, *Interleucina 18 (IL-18)*. (14)

Las características deseables de un biomarcador de DRA clínicamente aplicable incluyen: a) debe de ser no invasiva y fácil de realizar en un laboratorio clínico estándar, usando muestras accesibles como sangre u orina; b) debe ser medida de manera rápida y confiable usando una plataforma de ensayo estandarizada; c) debe de ser altamente sensible para facilitar detección temprana y con un amplio rango dinámico y valores de corte que permitan la estratificación de riesgo y d) debe ser altamente específica para DRA y permitir la identificación de subtipos de daño renal agudo y sus etiologías(14).

KIM-1 codifica una glicoproteína de membrana celular tipo I, la cual contiene en su porción extracelular un dominio de seis cisteínas similar a inmunoglobulina, así como un dominio característico rico en prolina, treonina y serina. Se ha encontrado que el RNA mensajero que codifica esta proteína, se encuentra sobre expresado en el túbulo proximal en respuesta a DRA en roedores y humanos. El primer estudio en modelo humano de KIM-1 publicado se realizó en el año 2002 y demostró que había una expresión notablemente aumentada de KIM-1 en especímenes de biopsia de riñón con diagnóstico de NTA (necrosis tubular aguda) y había niveles en orina elevados del ectodominio de KIM-1. Así se propone KIM-1 como biomarcador para diferenciar DRA secundario a lesión de

tipo isquémico de otras etiologías, como son azoemia prerrenal, enfermedad renal crónica y nefropatía por contraste (10).

NGAL: La Gelatinasa de Neutrófilo asociada a Lipocalina (NGAL por sus siglas en inglés), es una proteína de 25-Kda, la cual es expresada y secretada por hepatocitos, neutrófilos y células epiteliales renales durante inflamación y DRA. NGAL se encuentra sobre expresada dentro de las primeras 5 hrs después de daño renal isquémico en un modelo murino; además NGAL e IL-18 predicen en el día 0 la elevación de creatinina sérica en el periodo postrasplante y la presencia de función retardada del injerto, inclusive al ajustarlo para edad, sexo, raza, gasto urinario y tiempo de isquemia fría. Es importante señalar que NGAL se encuentra elevado en casos de nefropatía lúpica, enfermedad renal crónica preexistente e infecciones de vías urinarias, aunque a niveles mucho menores que en los casos de DRA. (11, 16)

Interleucina 18 (IL-18) es una citocina proinflamatoria que es inducida y unida al túbulo proximal, siendo detectada subsecuentemente en orina de modelos animales de DRA isquémico no así en modelos de IVU (infección de Vías urinarias), síndrome nefrótico, IRC o falla renal de tipo prerrenal. Existen datos que demuestran la elevación de IL-18 en orina hasta 2 días previos a la elevación de la creatinina sérica, en pacientes con DRA en la terapia intensiva. Sin embargo, se debe de tener en cuenta que existen patologías que también elevan los niveles de IL-18, como son endotoxemia, daño inmunológico y toxicidad por cisplatino (13).

Hsp72 es un biomarcador reciente propuesto por el grupo de Bobadilla y Cols (17) en un trabajo elegante. El fundamento de usar esta proteína está basado en el conocimiento que durante el DRA varios mecanismos son activados y llevados a una producción elevada, uno de estos mecanismos compensadores es la regulación a la alta de proteínas de choque térmico (18) lo cual ayuda a restaurar la homeostasis celular. Estas proteínas tienen un peso molecular entre 10 a 150 kDa y son codificadas por diferentes genes. La subfamilia Hsp70 está compuesta de cuatro isoformas: HSc70, la isoforma inducible Hsp72, mHsp75 y Grp78. Hsp72 es expresada en respuesta a estrés celular y su inducción puede ser tanta como un 15% de la proteína celular total (19).

Diversos estudios han demostrado que Hsp72 está regulada a la alta en daño tubular después de lesión renal isquémica o tóxica (20-26). Dado que Hsp72 es inducida en los túbulos renales durante DRA y que los detritos celulares son llevados al espacio urinario; el grupo de la Dra. Bobadilla propuso que los niveles de Hsp72 en orina podrían servir como un biomarcador temprano para detectar, monitorizar y/o estratificar DRA, demostrando en su estudio experimental (17) que Hsp72 es un biomarcador temprano en DRA en ratas con isquemia reperusión e igualmente en 5 pacientes con DRA demostrado por AKIN, así mismo este grupo probó si el biomarcador era capaz de detectar diferentes grados de daño renal correlacionándolos con histología en el grupo experimental y en grupos de ratas que se disminuía los daños con espironolactona, en ambos casos Hsp72 demostró muy buena correlación.

Basados en lo anterior, en el presente estudio se evaluaron a todos los pacientes hospitalizados críticamente enfermos con función renal normal a su ingreso (MDRD \geq 60 ml/min/1.73 m² SC), en el periodo comprendido entre el 1 de marzo de 2010 al 30 de mayo de 2010. Se detectó la presencia de DRA utilizando los criterios AKIN para conocer su distribución en los distintos grados de DRA en nuestra población. Así mismo se recolectó muestras de orina de los pacientes incluidos en el estudio, con el fin de cuantificar en los que desarrollaron daño renal agudo niveles en orina de KIM-1, NGAL, IL-18 y Hsp72; para establecer si Hsp72 puede detectar de manera temprana DRA en una población heterogénea críticamente enferma.

2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El DRA es un problema de salud reconocido en pacientes hospitalizados de unidades de cuidados intensivos y hospitalizados en otras áreas. A pesar de los avances en el conocimiento de la fisiopatología y de las modalidades terapéuticas, no ha podido reducirse la morbimortalidad hospitalaria, ya que no se cuenta con herramientas diagnósticas que detecten de manera temprana el daño.

3.- JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, el DRA es un problema hospitalario, sobre todo en pacientes críticamente enfermos ya que se relaciona con un incremento en la mortalidad. A pesar que en los últimos años ha habido un extenso avance en el conocimiento de la fisiopatología y del tratamiento no dialítico y dialítico, poco ha podido incidirse en la morbimortalidad hospitalaria. Como medida de abordaje diagnóstico de este problema, se han publicado criterios diagnósticos que definen el DRA temprano; sin embargo la tendencia es buscar mejores herramientas bioquímicas que puedan diagnosticar más tempranamente, estratificar y predecir a poblaciones heterogéneas con DRA con el fin de contar con más y mejores instrumentos.

Los biomarcadores urinarios forman parte de este grupo de herramientas como son KIM-1, NGAL e IL8 y varios más en desarrollo. Hsp72 mostró ser un biomarcador temprano y con muy buena correlación entre su elevación y el grado de lesión renal en un estudio experimental llevado a cabo en nuestro Instituto, por lo tanto nosotros proponemos que puede ser un biomarcador temprano para el diagnóstico de DRA temprano en pacientes críticamente enfermos; el demostrar su utilidad aportaría un nuevo biomarcador que nos permitirá diagnosticar tempranamente el daño renal agudo y un futuro poder investigar su utilidad en su capacidad de estratificación y pronóstico.

El Instituto cuenta con una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) y áreas críticas en el Servicio de Urgencias donde se atienden múltiples pacientes críticamente enfermos y con comorbilidades heterogéneas, tanto quirúrgicas como médicas; por otra parte se cuenta con un grupo de investigadores con experiencia

en biomarcadores urinarios así como un modelo experimental donde se ha demostrado Hsp72 como un biomarcador de DRA. Por lo anterior consideramos de gran trascendencia para el Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral y para el Instituto, demostrar la utilidad de Hsp72 como un biomarcador temprano que sea de ayuda para el diagnóstico de pacientes con DRA en las áreas críticas.

4.- HIPÓTESIS

Hsp72 es un biomarcador temprano de DRA en una población heterogénea de pacientes críticamente enfermos igual que KIM-1, NGAL e IL-18.

5.- OBJETIVOS

Objetivo primario:

Evaluar el rendimiento de Hsp72 comparado con KIM-1, NGAL e IL-18 como biomarcador en la identificación temprana de DRA en pacientes críticamente enfermos atendidos en el área de Urgencias y UCI.

Objetivos específicos:

- 1.- Evaluar el comportamiento de KIM-1 en pacientes críticamente enfermos con y sin DRA
- 2.- Evaluar el comportamiento de NGAL en pacientes críticamente enfermos con y sin DRA
- 3.- Evaluar el comportamiento de IL-18 en pacientes críticamente enfermos con y sin DRA
- 4.- Evaluar el comportamiento de Hsp72 en pacientes críticamente enfermos con y sin DRA

Objetivo secundario:

- 1) .- Describir el comportamiento de Hsp72, KIM-1, NGAL e IL-18 posterior al diagnóstico de DRA por criterios de AKIN
- 2) .- Identificar la mortalidad en pacientes con y sin DRA.

6.- MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Diseño del estudio:

Estudio de cohorte, observacional, prolectivo, longitudinal.

6.2 Población estudio:

Se evaluaron a todos los pacientes hospitalizados críticamente enfermos con función renal normal a su ingreso, en el periodo comprendido entre el 1 de marzo al 30 de mayo del 2010.

6.3 Métodos:

Descripción de la maniobra:

Se evaluaron a todos los pacientes hospitalizados críticamente enfermos con función renal normal a su ingreso (MDRD \geq 60 ml/min/1.73 m² SC), en el periodo comprendido entre el 1 de marzo de 2010 al 30 de mayo de 2010. De los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión se recolectaron y almacenaron 6 ml de orina en viales a -70° C; así como también se registró creatinina sérica y volumen urinario diariamente. Se detectó la presencia de DRA utilizando los criterios AKIN para conocer su distribución en los distintos grados de daño renal agudo en nuestra población. Durante el seguimiento de esta cohorte de pacientes se identificaron dos grupos de pacientes; aquellos que desarrollaron DRA por criterios de AKIN y aquellos que no desarrollaron DRA que fueron considerados como controles. A los pacientes que desarrollaron DRA se le continuó recolectando orina diariamente hasta su egreso o muerte en las áreas

críticas. Los pacientes controles (sin DRA) se les recolectó muestra de orina hasta su egreso a la terapia intensiva.

Al terminar el estudio se tomaron muestras del banco de muestras urinarias del grupo control de los días 1, 5 y 10 (considerando el día 1 como el día de su ingreso a la unidad de cuidados críticos). A los pacientes que desarrollaron DRA se les analizó la muestra de orina congelada como sigue: del día del diagnóstico de DRA y los días -1,-2-3 del diagnóstico y los días +1 y +2 posterior al diagnóstico.

Se realizó medición de KIM-1, NGAL, IL-18 y Hsp72 por medio de técnica de ELISA con Kits comerciales. Todos los procedimientos fueron realizados de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. Para Hsp72 se utilizó un Kit comercial altamente sensible (Assay Designs EKS-715, MI, USA). Se realizó lectura de muestras control y de los casos por densidad óptica a 450 nm en un lector de placas y se comparó con una curva estándar generada de concentraciones conocidas de HSP72 en un rango de 0.1 a 12.5 ng/ml.

6.4 Criterios de selección:

Criterios de Inclusión:

- 1.- Pacientes mayores de 18 años que ingresaron al área de urgencias o terapia intensiva
- 2.- Pacientes sin evidencia clínica o de laboratorio de enfermedad renal.
- 3.- Pacientes con presencia de 2 o más fallas orgánicas.
- 4.- Pacientes que aceptaran la participación en el estudio y que firmaran él o su responsable la carta de consentimiento informado.

Criterios de exclusión

- 1.- Pacientes que a su ingreso presentaron criterios diagnósticos de DRA o que se encontraran en terapia sustitutiva renal.
- 2.- Aquellos que no desearon participar en el estudio

Criterios de Eliminación

- 1.- Pacientes que no contaran con al menos una muestra previa y una muestra posterior de orina congelada al diagnóstico de DRA por AKIN

6.5 Variables de estudio:

Dependiente

Diagnóstico de DRA.

Independientes

Se tomaron en cuenta edad, género, causa de ingreso al Instituto, comorbilidades (a su ingreso a Urgencias o UCI), laboratorios a su ingreso, durante su seguimiento en su permanencia dentro de las áreas ya mencionadas, durante el DRA y al momento del egreso del paciente en UCI los cuales se describen a continuación.

Definición operacional de variables

Variable	Definición	Tipo	Escala
DRA	De acuerdo a criterios AKIN	Nominal	Dicotómica Presente o ausente
Edad	Edad del (la) paciente al momento del ingreso a UCI	Continua	Años
Género	Sexo del (la) paciente	Nominal	Dicotómico Hombre o Mujer
Comorbilidades	La presencia de una o más enfermedades además del trastorno primario	Nominal	Dicotómica Presente o ausente
Hipertensión arterial sistémica	2 tomas de presión arterial en momentos diferentes con cifras mayor a 140/90 mm Hg o consumo de fármacos antihipertensivos.	Nominal	Dicotómica Presente o ausente
Diabetes Mellitus	Glucosa en ayuno >126 mg, muestra al azar >200 mg/dl y con sintomatología o curva de tolerancia oral a la glucosa mayor a 200 mg/dL a las 2 horas.	Nominal	Dicotómica Presente o ausente
Dislipidemia	Condición clínica de alteración del metabolismo de lípidos según clasificación ATP III	Nominal	Dicotómica Presente o ausente

Obesidad	índice de masa corporal >27 kg/m ²	Nominal	Dicotómica Presente o ausente
Lupus Eritematoso Sistémico	Definido por los criterios de clasificación de la Asociación Americana de Reumatología	Nominal	Dicotómica Presente o Ausente
Presión arterial media	Resultado de calcular presión arterial sistólica menos la diastólica entre 3 y esto restado a la presión arterial diastólica.	Continua	mm Hg
Laboratorio al ingreso	Estudios de laboratorio tomados el día del ingreso a la unidad de cuidados intensivos	Cuantitativa	Continua
Laboratorios al egreso	Estudios de laboratorio tomados el día de el egreso de la unidad de cuidados intensivos	Cuantitativa	Continua
Presión arterial	Presión que ejerce la sangre contra la pared de las arterias	Continua	mmHg
Frecuencia cardiaca	Número de latidos del corazón por unidad de tiempo	Continua	Latidos por minuto
Temperatura	Magnitud referida a las nociones comunes de calor o frío	Continua	Grados centígrados
Presión venosa central	Presión de la sangre en la vena cava torácica y aproximación de la presión auricular derecha	Continua	mm H ₂ O

Ventilación mecánica	Utilización de un dispositivo artificial para ayudar al paciente a respirar	Nominal	Dicotómica Presente o ausente
Uso de nefrotóxicos	Uso de fármacos con capacidad de deteriorar la función renal	Nominal	Dicotómica Presente o ausente
Uso de aminas vasoactivas	Uso de fármacos con capacidad de incrementar la presión arterial	Nominal	Dicotómica Presente o ausente
Paciente Críticamente Enfermo	Presencia de dos o más fallas orgánicas	Nominal	Dicotómica Presente o ausente

6.6 Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva dependiendo de la distribución de variables. Para las variables continuas, se utilizó promedio y desviación estándar, para las variables nominales u ordinales dicotómicas se empleó número de casos (n) y porcentajes (%). Se usó χ^2 de Pearson con corrección de Yates. Se realizaron curvas ROC para identificar sensibilidad y especificidad al día -2 y -1 para KIM-1, NGAL, IL-18 y Hsp72. Se consideró significativa una $p < 0.05$.

7.- RESULTADOS

Características demográficas: En la cohorte estudiada se encontraron 37 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, 17 desarrollaron DRA y 20 no la desarrollaron y fueron considerados como controles. En la Tabla 1 se describen las características de la población en estudio, las cuales al compararlas entre los pacientes con y sin DRA, ninguna mostró significancia estadística; sin embargo es importante destacar la presencia de mayor mortalidad en pacientes con DRA, así como también más de la mitad de los pacientes presentaban choque séptico y un predominio de obesos en los pacientes que desarrollaron DRA.

Características	Total N=37 (%)	Con DRA N=17 (%)	Sin DRA N=20 (%)	Valor p
Edad Media \pm DE	51.6 \pm 20.2	54.5 \pm 22.5	49.2 \pm 18.2	0.428
Sexo Masculino	20 (54.1)	12 (70.6)	8 (40.0)	0.126
Mortalidad	15 (40.5)	8 (47.1)	7 (35.0)	0.683
Motivo de ingreso a UCI				
- Choque Séptico o Sepsis Grave	20 (55.6)	11 (64.7)	9 (47.4)	0.386
- PO Qx Cardiovascular	5 (13.9)	2 (11.8)	3 (15.8)	0.845
- Neurológicas	4 (11.1)	2 (11.8)	2 (10.5)	0.720
- PO No Cardiovascular	3 (8.3)	1 (5.9)	2 (10.5)	0.883
- Otras Causas	4 (11.1)	1 (5.9)	3 (15.8)	0.720
Hx Hipertensión Arterial	6 (16.2)	2 (11.8)	4 (20.0)	0.667
Hx de Diabetes	9 (24.3)	4 (23.5)	5 (25.0)	1.000
Hx de Cáncer	9 (24.3)	4 (23.5)	5 (25.0)	1.000
LEG-SAFS	4 (10.8)	2 (11.8)	2 (10.0)	1.000
Obesidad al Ingreso	5 (13.5)	4 (23.5)	1 (5.0)	0.159

Tabla 1. Características demográficas de la población estudiada

KIM-1: Al analizar el comportamiento en la expresión urinaria de KIM-1 en esta población, observamos elevación estadísticamente significativa 48 hrs previas al diagnóstico de DRA por criterios de AKIN; comparado con la media de los niveles expresados al día 1, 5 y 10 en los pacientes sin DRA (Figura 1 A); mostrando con un nivel de corte de 16 ng/mL al día -2 una sensibilidad de 83 % y especificidad de 95 % (Figura 1 B); lo cual mejora al 100 % al día -1, con un valor de corte de 26 ng/mL (Figura 1 C). Se observa que al día + 2 aún permanece elevado respecto al grupo control.

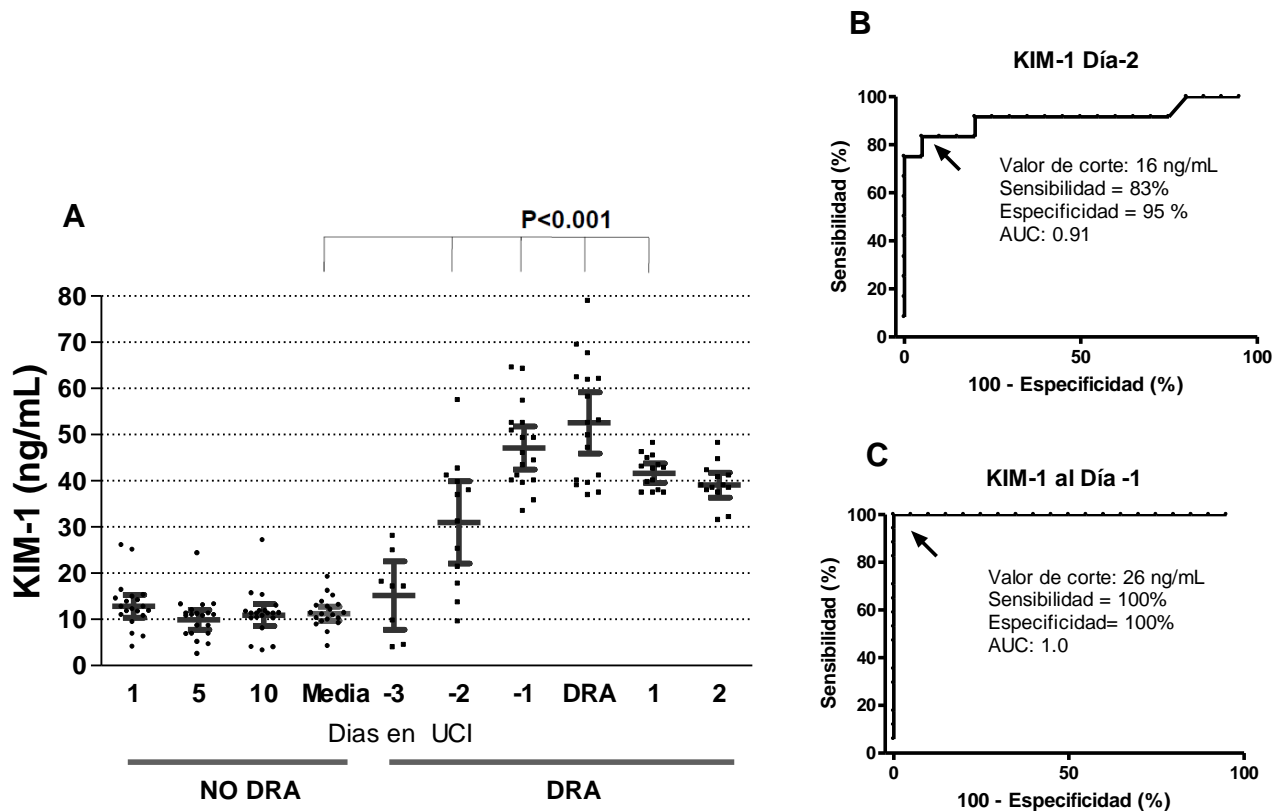


Figura 1: A. Comportamiento de KIM-1 en orina de pacientes críticamente enfermos con y sin daño renal agudo (DRA) diagnosticados por criterios de AKIN. B y C. Curvas ROC para buscar sensibilidad y especificidad al día -2 y -1 con un valor de corte a 16 y 26 ng/mL respectivamente. (AUC= Area Under the Curve).

NGAL: El Biomarcador urinario NGAL mostró elevación con diferencia estadística significativa desde el día -3 del diagnóstico de DRA por criterios de AKIN comparado con el grupo sin DRA; así mismo se observa que al día +2 aún permanece elevado respecto al grupo control (Figura 2 A). Con un nivel de corte de 20,000 pg/mL, al día -2 muestra una sensibilidad del 83 % y especificidad de 90 % (Figura 2 B) y al día -1 sensibilidad del 88 % y especificidad del 90 %; para el diagnóstico de DRA (Figura 2 C).

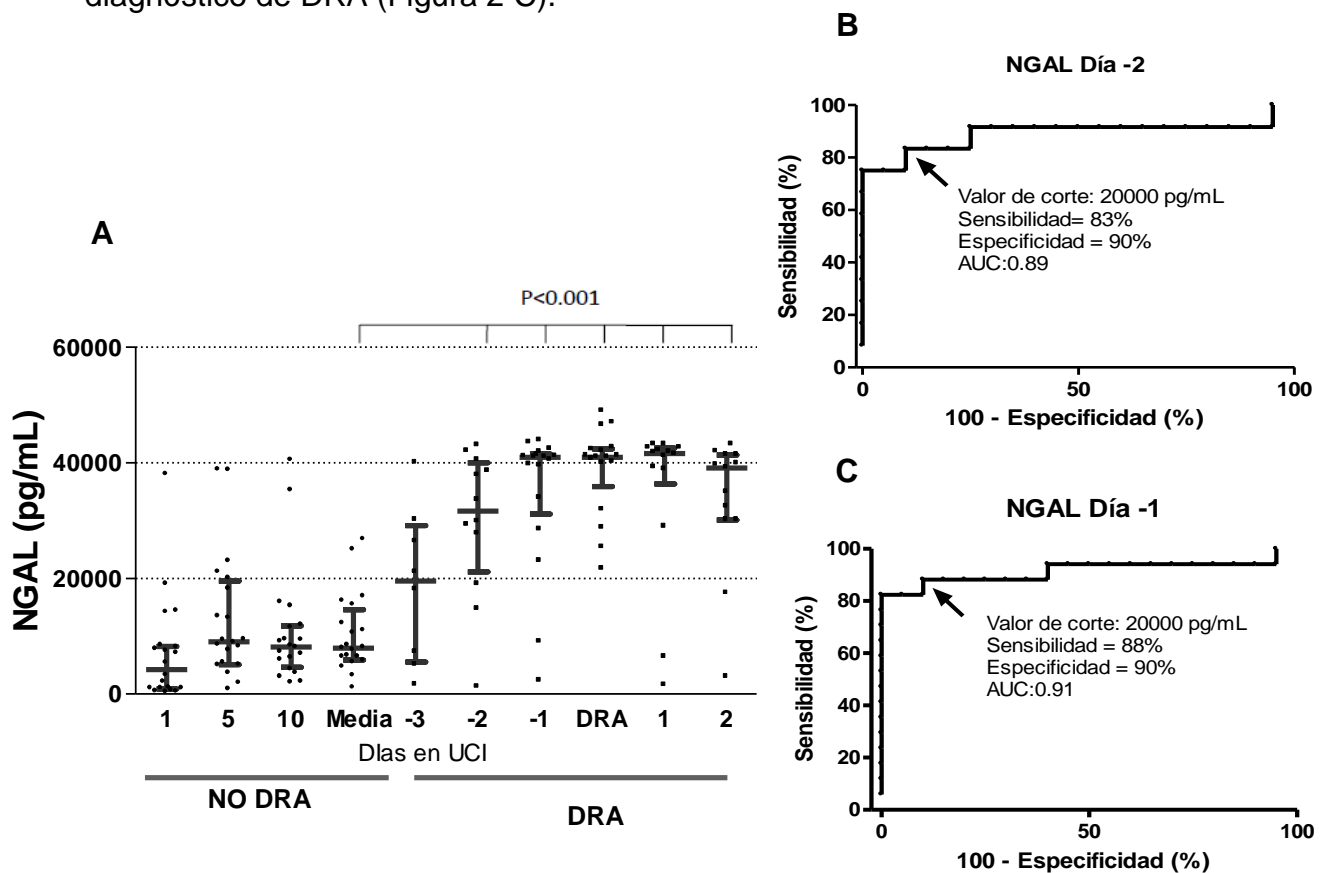


Figura 2: A. Comportamiento de NGAL en orina de pacientes críticamente enfermos con y sin daño renal agudo (DRA) diagnosticados por criterios de AKIN. B y C. Curvas ROC para buscar sensibilidad y especificidad al día -2 y -1 con un valor de corte a 20, 000 pg/mL. (AUC= Area Under the Curve).

IL-18: Respecto a este biomarcador mostró elevación en orina comparada con el grupo sin DRA, obteniendo valores con significancia estadística desde el día - 2 del diagnóstico por criterios de AKIN. Su comportamiento en los días posteriores al diagnóstico muestra una franca disminución de los valores y al día + 2 retornando casi a valores del grupo control (Figura 3 A). Con un valor de corte de 150 pg/mL al día -2, se encontró sensibilidad del 92 % y especificidad de 100 % (Figura 3 B) y al día -1 con un valor de corte de 120 pg/mL, sensibilidad el 88 % y especificidad del 95 % (Figura 3 C) para el diagnóstico temprano de DRA.

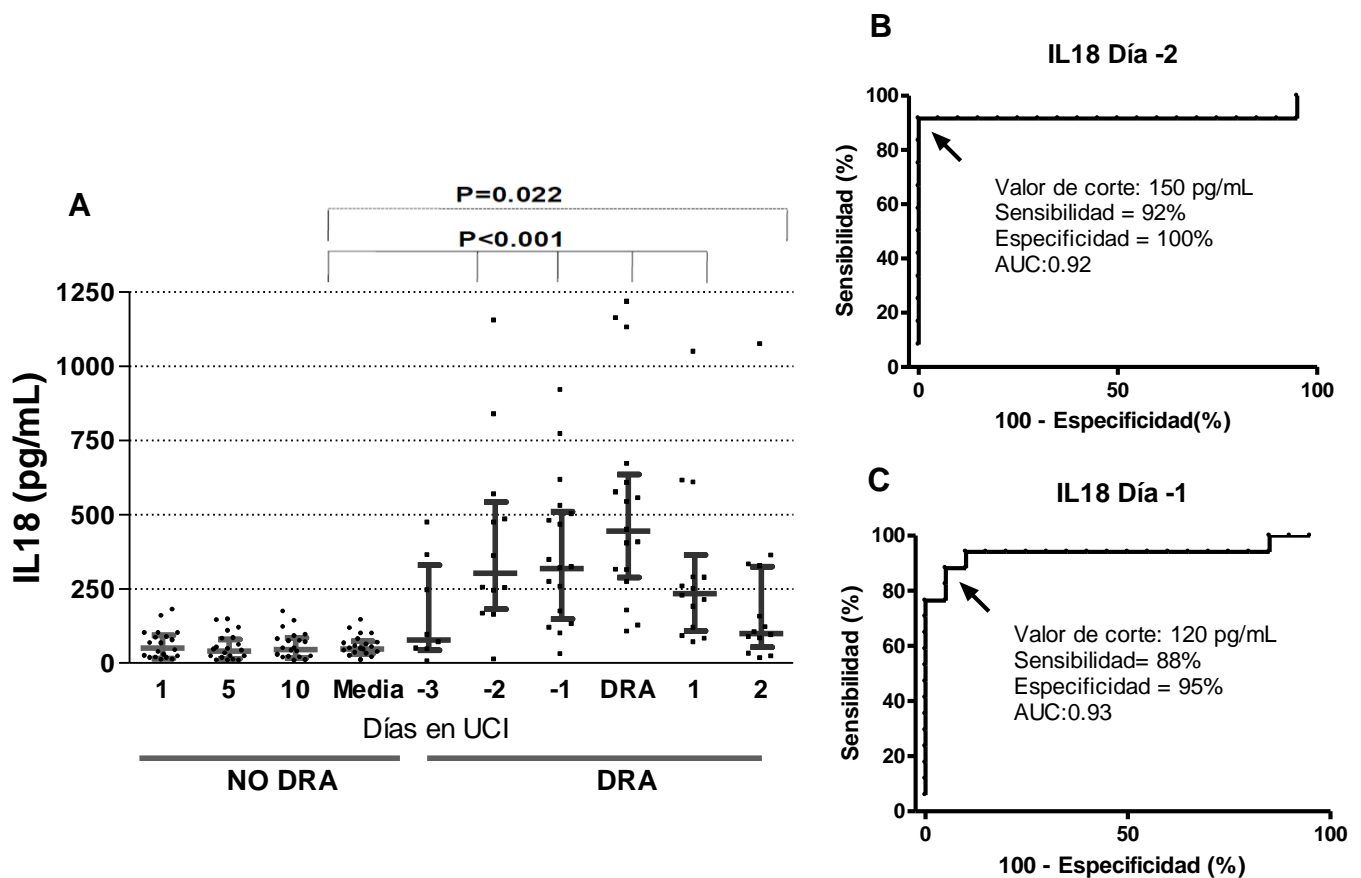


Figura 3: **A.** Comportamiento de IL-18 en orina de pacientes críticamente enfermos con y sin daño renal agudo (DRA) diagnosticados por criterios de AKIN. **B y C.** Curvas ROC para buscar sensibilidad y especificidad al día -2 y -1 con un valor de corte a 150 y 120 pg/mL respectivamente. (AUC= Area Under the Curve).

HSP72: El biomarcador nuevo evaluado en este estudio también presentó elevación en sus niveles urinarios respecto al grupo sin DRA lo cual fue capaz de detectar de manera temprana DRA desde el día -2 con significancia estadística. Su comportamiento posterior al diagnóstico muestra un descenso en los valores desde el día +1 continuando con el día +2 (Figura 4 A). En las curvas ROC al día -2 con un valor de corte de 0.5 ng/mL presentó sensibilidad de 100% y especificidad de 90% (Figura 4 B); al día -1 con un valor de corte de 1.0 ng/mL se encontró una sensibilidad del 94 % y especificidad del 100% (Figura 4 C) para el diagnóstico de DRA.

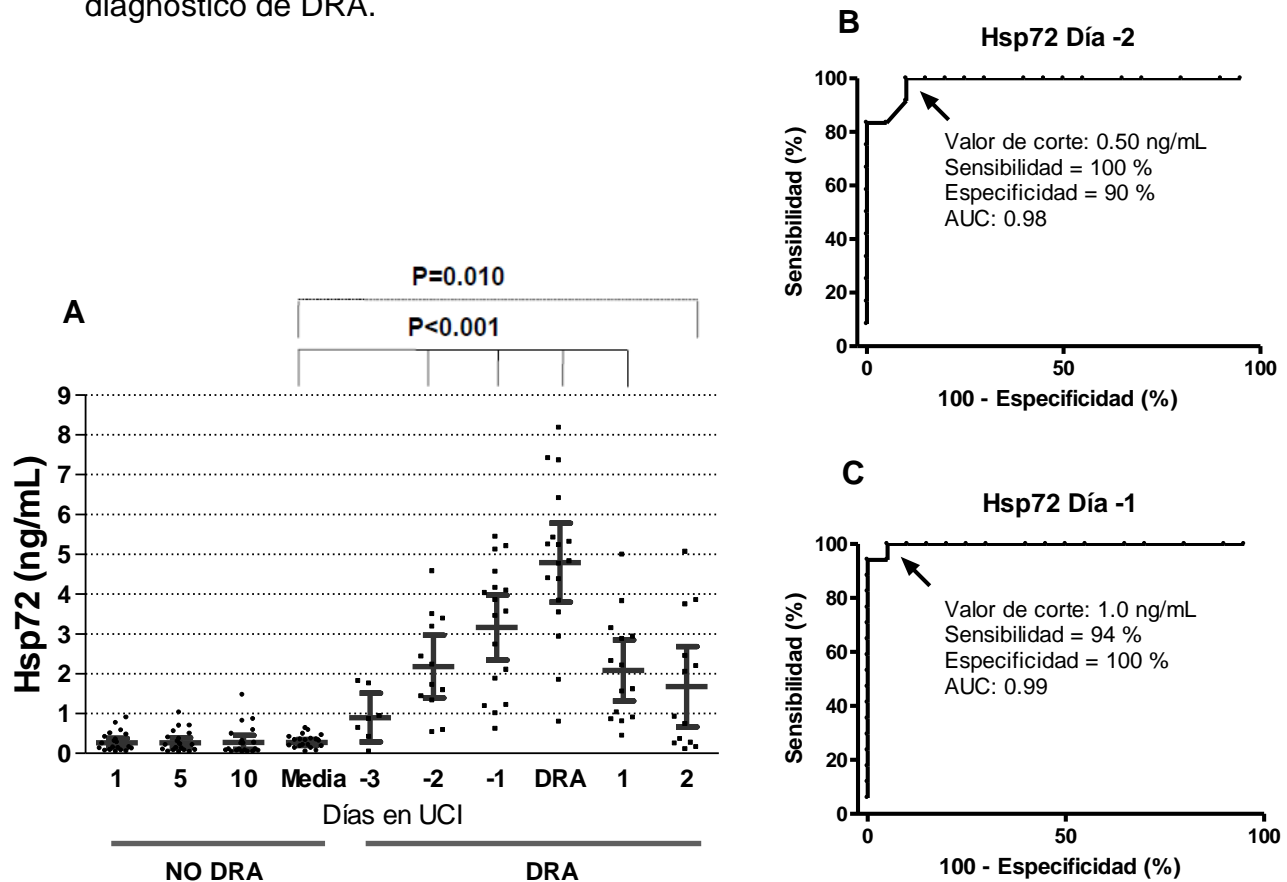


Figura 4: A. Comportamiento de Hsp72 en orina de pacientes críticamente enfermos con y sin daño renal agudo (DRA) diagnosticados por criterios de AKIN. B y C. Curvas ROC para buscar sensibilidad y especificidad al día -2 y -1 con un valor de corte de 0.5 y 1.0 ng/mL respectivamente. (AUC= Area Under the Curve).

8. DISCUSIÓN

En este estudio, al igual que lo informado previamente en pacientes críticos y DRA se observó mayor mortalidad que en los pacientes que desarrollaron DRA (47.1 % vs 35 %, respectivamente); es importante destacar que en el análisis estadístico no se observó significancia estadística, lo cual está probablemente asociado al tamaño de la muestra. Debido al tipo de pacientes evaluados en nuestra institución, la mayoría de los pacientes incluidos en el estudio presentaban como causa de ingreso choque séptico (55.6 %), así como un predominio de obesidad en los pacientes que presentaron DRA, siendo este último dato concordante con lo reportado en la literatura, tomando en cuenta que los pacientes obesos requieren de parámetros de ventilación más elevados, ocasionando teóricamente mayor elevación de citoquinas con efecto nocivo a nivel renal, con la consecuente mayor riesgo de presentar DRA. (1, 2)

Al evaluar el desempeño de Hsp72 comparada con los otros biomarcadores evaluados en el presente estudio (KIM, NGAL e IL-18) se observa que, al igual que éstos, es capaz de detectar tempranamente DRA, como lo habíamos predicho, con una sensibilidad y especificidad muy alta desde 48 hrs antes que los criterios de diagnósticos actuales por AKIN logran establecer el diagnóstico de DRA. Este hecho, demostrado en una población heterogénea, pone de manifiesto su valor como una nueva herramienta en el diagnóstico de DRA concordante con lo previamente reportado en el estudio experimental; donde se encontró una correlación de $r^2= 0.89$ con la cantidad de Hsp72 encontrada en la orina y el porcentaje de daño tubular. (17)

El comportamiento de Hsp72 en días posteriores al diagnóstico de DRA es muy semejante a lo documentado en estudios de daño experimental, ya que se eleva al momento del diagnóstico pero muestra una tendencia clara a disminuir rápidamente, situación también observada en IL-18; pero que no se observa en KIM-1 y NGAL. Este comportamiento post diagnóstico refleja un potencial campo de investigación con el fin de instaurar pronóstico de recuperación o falla de acuerdo a los niveles encontrados pre y post diagnóstico; también permite como en el modelo experimental de Hsp72 evaluar una maniobra de prevención y/o disminución de DRA que llevado a la clínica nos permitiría actuar de manera temprana con maniobras que disminuyan el mismo. Lo encontrado en Hsp72 tiene plausibilidad biológica ya que la síntesis de estas proteínas se sintetizan a la alta en los momentos en los que se detecta daño celular, lo cual llevado a la clínica nos refleja que aquellas agresiones que no se perpetúan deberían disminuir los valores de dicha proteína de choque, lo cual juega un papel importante en la vigilancia de las medidas instauradas para disminuir el grado de DRA.

KIM 1, IL-18 y NGAL tienen una sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de DRA por arriba del 85% desde 2 días antes de que sea haya manifestado el DRA por medio de los criterios actualmente utilizados y basados en AKIN (creatinina sérica y volumen urinario). Es importante mencionar que KIM 1 e IL-18 mostraron mejor sensibilidad y especificidad, comparado con lo obtenido en el análisis de NGAL.

El diagnóstico más temprano por los biomarcadores urinarios estudiados en el presente trabajo, en comparación con la creatinina sérica, marcador clásicamente utilizado en la clínica y eje de las clasificaciones en uso como AKIN, puede ser explicado debido a que la creatinina sérica es un marcador influenciado por diversos factores extra renales y además porque se eleva ante la presencia de daño tisular renal más avanzado, generalmente cuando el DRA tiene al menos 48 horas de iniciado.

Nuestro estudio es el primero en evaluar la capacidad de predecir DRA en una muestra heterogénea de pacientes críticamente enfermos y en poner a prueba Hsp72 en situaciones de contexto clínico real; lo cual representa una población de alta frecuencia de presentación en la clínica. Recordemos que existen múltiples estudios en la literatura que han asociado la presencia de DRA con el aumento en la morbimortalidad a corto, mediano y largo plazo, siendo el factor principal asociado, la detección tardía del insulto renal, lo cual refleja el daño tisular cuando este ya está establecido. Este estudio cumple en demostrar que Hsp72, en el ámbito clínico es capaz de responder mejor incluso que los indicadores tradicionales (creatinina sérica y diuresis) para un diagnóstico temprano de DRA. Sin embargo nuestro estudio no puede ser utilizado para estratificar o para predecir desenlace, lo cual deberá ser estudiado en una cohorte de pacientes planeada para tal fin.

9. CONCLUSIONES:

En una población heterogénea de pacientes críticamente enfermos Hsp72 es capaz de realizar un diagnóstico temprano de DRA con una sensibilidad y especificidad muy alta, KIM-1, NGAL e IL-18 igualmente mostraron buena sensibilidad y especificidad para identificar 48 hrs antes a pacientes que posteriormente desarrollaron DRA por criterios de AKIN. Igualmente, este estudio demuestra la utilidad de Hsp72 como una nueva herramienta diagnóstica en DRA.

Será necesario evaluar estos biomarcadores en una segunda muestra de pacientes críticamente enfermos, con el fin de validar la reproducibilidad de la sensibilidad y especificidad reportada en este estudio basado en los valores de corte propuestos. Así mismo, será también importante evaluar una cohorte con fines de estratificación y pronóstico.

Finalmente, la tendencia es utilizar un conjunto de biomarcadores para la detección temprana y no solo un biomarcador, por lo cual en el futuro se espera utilizar un método diagnóstico simple a manera de “tiras reactivas”, con el fin de agregarse a los instrumentos de diagnóstico y predicción del campo del DRA.

10.- BIBLIOGRAFÍA

1. Chertow GM, Burdick E, Honour M, Bonventre JV, Bates DW. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 3365–3370.
2. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. Acute Renal Failure: definition, outcome, measures, animals models, fluid therapy, and information technology needs: the second international consensus conference of the acute dialysis quality initiative (ADQI) group. *Crit Care* 2004; 8: R204-12.
3. Hoste EA, Schurgers M. Epidemiology of acute kidney injury: how big is the problem? *Crit Care Med* 2008; 36: S146–S151.
4. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, et al. Acute Kidney Injury Network (AKIN): report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007; 11: R 31.
5. Cruz DN, Ricci Z, Ronco C. Clinical review: RIFLE and AKIN-time for reappraisal. *Crit Care* 2009; 13: 211.
6. Barrantes F. Acute Kidney Injury criteria predict outcomes of critically ill patients. *Crit Care Med* 2008; 36: 1397–1403.
7. Ostermann M, Chang R. Riyadh ICU Program Users Group Correlation between the AKI classification and outcome. *Crit Care* 2008; 12: R144-149.
8. Bagshaw SM, George C, Bellomo R. ANZICS Database Management Committee. A comparison of the RIFLE and AKIN criteria for acute kidney injury in critically ill patients. *Nephrol Dial Transplant* 2008, 23: 1569–1574.

9. Kellum JA, Mehta RL, Levin A, et al. Acute Kidney Injury Network (AKIN). Development of a clinical research agenda for acute kidney injury using an international, interdisciplinary, Three-Step Modified Delphi Process. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 887-894.
10. Bonventre JV. Kidney Injury Molecule – 1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 3265–3268.
11. Devarajan P. NGAL in acute kidney injury: from serendipity to utility. *Am J Kidney Dis* 2008; 52: 395-399.
12. Villa P, Jiménez M, Soriano MC, Manzanares J, Casasnovas P. Serum Cystatin C concentration as a marker of acute renal dysfunction in critically ill patients. *Crit Care* 2005; 9: R139-43.
13. Parikh CR, Abraham E, Ancukiewicz M, Edelstein CL. Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality in the intensive care unit. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 3046–3052.
14. Parikh CR, Devarajan P. New biomarkers of acute kidney injury. *Crit. Care Med* 2008; 36: S159-65.
15. Ronco C, Bellomo R, Kellum JA. Acute Kidney Injury. *Contrib Nephrol* 2007; 156: 203–212.
16. Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new marker of kidney disease. *Scand J Clin Lab Invest* 2008; 241: 89-94.
17. Barrera-Chimal J, Pérez-Villalva R, Cortés-González C, Ojeda-Cervantes M, Gamba G, Morales-Buenrostro LE, Bobadilla NA. Hsp72 is an early and sensitive biomarker to detect acute kidney injury. *EMBO Mol Med* 2011; 3: 5-20.

18. Csermely P, Soti C, Blatch GL. Chaperones as parts of cellular networks. *Adv Exp Med Biol* 2007; 594: 55-63.
19. Fan CY, Lee S, Cyr DM. Mechanisms for regulation of Hsp70 function by Hsp40 cell stress. *Chaperones* 2003; 8: 309-316.
20. Hernandez-Pando R, Pedraza-Chaverri J, Orozco-Estevez H, et al. . Histological and subcellular distribution of 65 and 70 kD heat shock proteins in experimental nephrotoxic injury. *Exp Toxicol Pathol* 1995; 47: 501-508.
21. Kelly KJ. Stress response proteins and renal ischemia. *Minerva Urol Nefrol* 2002; 54: 81-91.
22. Kelly KJ, Baird NR, Greene AL. Induction of stress response proteins and experimental renal ischemia/reperfusion. *Kidney Int* 2001; 59: 1798-1802.
23. Molinas SM, Rosso M, Wayllace NZ, et al. Heat shock protein 70 induction and its urinary excretion in a model of acetaminophen nephrotoxicity. *Pediatr Nephrol* 2010; 25: 1245-1253.
24. Mueller T, Bidmon B, Pichler P, et al. Urinary heat shock protein-72 excretion in clinical and experimental renal ischemia. *Pediatr Nephrol* 2003; 18: 97-99.
25. Turman MA, Rosenfeld SL. Heat shock protein 70 overexpression protects LLC-PK1 tubular cells from heat shock but not hypoxia. *Kidney Int* 1999; 55: 189-197.
26. Zhipeng W, Li L, Qibing M, Linna L, Yuhua R, Rong Z. Increased expression of heat shock protein (HSP)72 in a human proximal tubular cell line (HK-2) with gentamicin-induced injury. *J Toxicol Sci* 2006; 31: 61-70.