

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas

Marcelo Bentancor Lontra

**COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE LEUCINA EM PACIENTES
COM E SEM APENDICITE**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós Graduação em
Medicina: Ciências Cirúrgicas para
obtenção do Título de Mestre em
Medicina: Cirurgia

Orientador: Prof. Dr. Leandro Totti Cavazzola
Co-orientador: Prof Dr Ricardo Francalacci Savaris

2020

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas

Marcelo Bentancor Lontra

**COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE LEUCINA EM PACIENTES
COM E SEM APENDICITE**

Orientadores: Prof. Dr. Leandro Totti Cavazzola
Prof. Dr. Ricardo Francalacci Savaris

2020

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio

Grande do Sul e aprovada em Nível de Mestrado no dia 1 de Março de 2020 por Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Antônio Carlos Weston (UFCSPA)

Prof. Dr. Oly Campos Corleta (UFRGS)

Prof. Dr. Plínio Carlos Baú (PUCRS)

Prof. Dr. Valentino Antônio Magno (UFRGS)

CIP - Catalogação na Publicação

Lontra, Marcelo Bentancor

COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE LEUCINA EM PACIENTES COM E SEM APENDICITE / Marcelo Bentancor Lontra. -- 2020.

52 f.

Orientador: Leandro Totti Cavazzola.

Coorientador: Ricardo Francalacci Savaris.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Apendicite aguda. 2. Biomarcadores. 3. Glicoproteína-1-Alfa-2 Leucina enriquecida. 4. Ensaio de Imunoabsorção Enzimática . I. Cavazzola, Leandro Totti, orient. II. Savaris, Ricardo Francalacci, coorient. III. Título.

DEDICATÓRIA

À minha esposa Mariana, que sempre esteve, de maneira incondicional, ao meu lado. Principalmente nos momentos mais difíceis com eterna paciência, amor e companheirismo.

Aos meus pais Maria Esther e Paulo Sérgio, que estiveram presentes em todos momentos importantes da minha longa trajetória acadêmica.

Ao meu filho, Martin, que é indubitavelmente uma das maiores alegrias que a vida me trouxe.

AGRADECIMENTOS

À minha esposa Mariana e a meu filho Martin que, sem sombra de dúvida, são a minha razão de viver.

Aos meus pais, Maria Esther e Paulo Sérgio pelo suporte familiar incondicional e pela lição de vida que sempre me deram.

Aos meus orientadores, Prof Dr Leandro Totti Cavazzola e Prof Dr Ricardo Francalacci Savaris pela paciência, dedicação e disseminação de conhecimentos que foram indispensáveis para elaboração deste trabalho.

Ao estudante de Medicina Jackson Maissiat, aluno exemplar em todos os aspectos, que teve uma participação ímpar no desenvolvimento deste estudo.

“O bom médico trata a doença;
O grande médico trata o paciente
que tem a doença.”

Sir William Osler

Lista de Abreviaturas

AA – Apendicite Aguda

LRG1 – Glicoproteína-1-Alfa-2 Leucina enriquecida

TC – Tomografia Computadorizada

US – Ultrassonografia

RNM - Ressonância Nuclear Magnética

T - Tesla

PCR - Proteína C Reativa

ELISA – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

IV - Intravenoso(a)

Abstract

Background: Acute appendicitis (AA) is the first cause of emergency surgery. Leucine-Rich Alpha-2-Glycoprotein 1 (LRG1) has been shown to be a potential biomarker in cases of AA in children, but there are conflicting results for its use in adults. The objective of this study is to compare the mean plasma values of LRG1 in patients with acute abdomen with and without appendicitis

Methods: This case-control study was conducted prospectively at the emergency room (ER) of Hospital de Clínicas de Porto Alegre, between March 1st, 2011 and December 31st, 2012. Patients with recente abdominal pain, aged 14-70 years who attended the ER were included in the study. Blood samples were drawn at the initial consultation. Those who were submitted to surgery and had a pathology report of AA were considered as cases. Those without a need of surgery and treated for other conditions, e.g., pelvic inflammatory disease, were considered as controls. Follow-up in controls was made up to 30 days. LRG1 plasma mean values were measured using ELISA kit and compared between groups.

Results: A total of 28 participants, 14 cases with acute appendicitis and 14 controls, were included. The median (range) values of leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1 level in the group with appendicitis and control group were 8.8 ng/ml (5.5 to 31) and 11 (4.6 to 108) ng/ml, respectively (Mann-Whitney test $P=0.26$).

Conclusion: serum leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1 levels were not useful in diagnosing Acute Appendicitis in patients with acute abdominal pain.

Keywords: acute appendicitis, leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1, biomarkers

SUMÁRIO

Introdução	10
Revisão Bibliográfica	11
Aspectos epidemiológicos	11
Aspectos clínicos da apendicite	12
Etiologia da apendicite	14
Exames complementares	15
Ultrassonografia	16
Tomografia Computadorizada	17
Ressonância Nuclear Magnética	19
Marcadores sanguíneos	21
Leucograma	22
Proteína-C Reativa	22
Bilirrubina	22
Interleucina-6	23
Serotonina Urinária (5-HIAA)	23
Leucina	24
Localização do Gene LRG1 e alias	24
Estrutura Proteica e localização	24
LRG1 para o diagnóstico de apendicite aguda	25
Objetivos	33
Artigo em Inglês	34
Artigo em Português	42

Introdução

Apendicite é a principal causa de cirurgia na Emergência dos Estados Unidos, com cerca de 250.000 casos por ano (Owings and Kozak. 1998), sendo que a incidência aumenta em 0,5 casos/100.000 pessoas/a cada aumento de ano de vida (Anderson et al. 2012).

O diagnóstico dessa condição necessita, muitas vezes, de métodos de imagem e dosagens sanguíneas para elucidar os achados clínicos encontrados na história e exame clínico dos pacientes.

A história e o exame clínico oferecem uma acurácia limitada para casos de abdômen agudo (Navarro Fernández et al. 2009), e tem uma ampla variação de razão de probabilidades, de acordo com diferentes estudos (Wagner 1996).

Apesar das descrições clássicas dos sinais e dos sintomas da apendicite em adultos, a razão de probabilidades (likelihood ratio-LR) desses sinais e sintomas não ultrapassa 3, com exceção da dor em fossa ilíaca direita, a qual tem uma LR entre 7,3 a 8,4 (Wagner 1996)

Além disso, verifica-se que existe uma variação entre os sinais e sintomas descritos entre adultos e crianças (Snyder et al. 2018).

Os exames de imagem, como a tomografia computadorizada (TC) e a ultra-sonografia (US) apresentam razão de probabilidades maiores, mas requerem o uso de aparelhos e pessoal especializado (Swenson et al. 2018), sendo que a TC emite radiação ionizante.

Nesse sentido, o uso de testes laboratoriais no sangue periférico e na urina vem sendo utilizado como métodos alternativos para auxiliar no diagnóstico de apendicite (Unvenir and Karcioğlu 2011; Rainer et al. 2017; Sumanth and Surgery 2020).

A glicoproteína leucina 1 (*leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1*; LRG1) tem-se demonstrado como um teste urinário potencialmente útil para o diagnóstico de apendicite (Kentsis et al. 2012). Os estudos sobre a LRG1 têm sido realizados principalmente em crianças.

A presente dissertação irá rever os principais métodos de imagem e os atuais marcadores sanguíneos e urinários para a apendicite, sendo que a maior ênfase será na LRG1, motivo desta dissertação.

Revisão Bibliográfica

A apendicite aguda é uma das emergências abdominais mais comuns em todo o mundo e a sua causa permanece pouco compreendida. Poucos avanços foram realizados, nas últimas décadas, para se obter um diagnóstico pré-operatório seguro, o que o torna um desafio (Bhangu et al. 2015). A história e o exame clínico constituem a base para o diagnóstico, enquanto que os exames de imagem e laboratoriais são os métodos auxiliares.

Aspectos epidemiológicos

Apendicite é a principal causa de cirurgia na Emergência dos Estados Unidos, com cerca de 250.000 casos por ano (Owings and Kozak 1998), sendo que a incidência aumenta em 0,5 casos/100.000 pessoas/a cada aumento de ano de vida (Anderson et al. 2012).

Nos Estados Unidos, a incidência é de 8,6% em homens e 6,7% em mulheres, com uma incidência anual de 9,38 casos por 100.000 habitantes, sendo estimado que 326.000 cirurgias por apendicite foram realizadas em 2007 (Buckius et al. 2012).

Na Suécia, a incidência aumenta com a idade, chegando a 2,5% aos 18 anos, sendo maior em meninos, quando comparado com meninas.

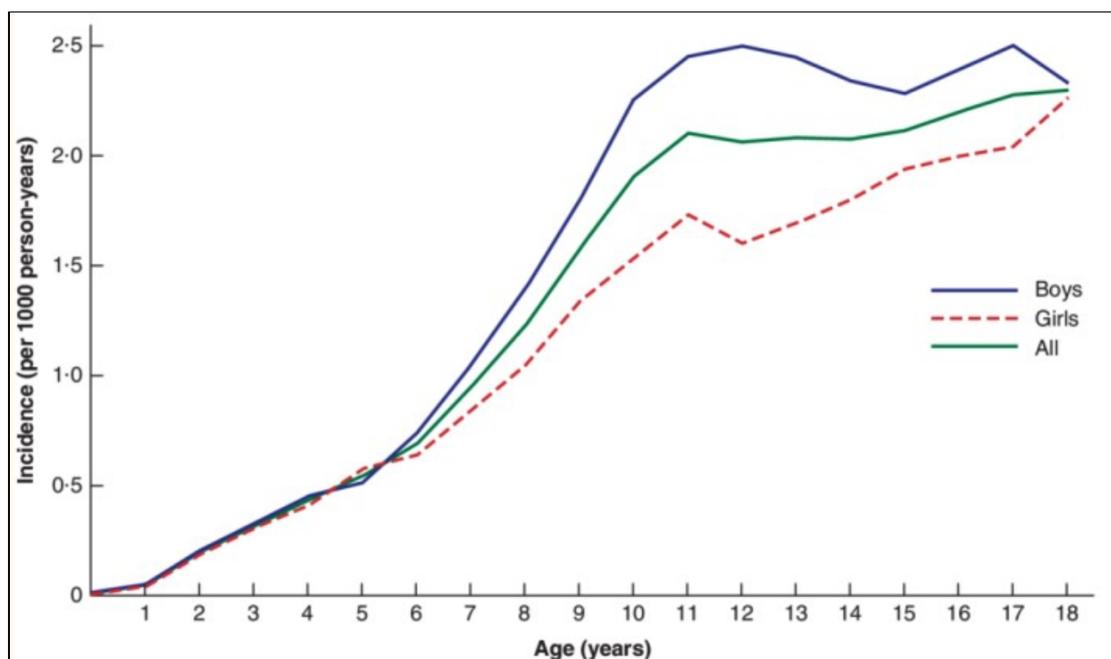


Figura 1. Incidência de apendicite por idade (“age”) e sexo entre crianças suecas entre 2001 e 2014. (Omling et al. 2019).

No Brasil, foram registrados 120.888 casos de internações por apendicite (DATASUS 2019).

Aspectos clínicos da apendicite

Apesar dos clássicos sinais/sintomas em adultos, a razão de probabilidades (LR - do inglês likelihood ratio) destes não passa de 3, exceto pela dor em fossa ilíaca direita que tem uma LR de 8,4 (Ebell 2008).

Tabela 1. Sumário das características do exame clínico para Apendicite Aguda de acordo com Wagner et al, 1996.

Sinais/Sintomas	Sensibilidade	Especificidade	RV+ (95% IC)	RV- (95% IC)
Dor QID	0.81	0.53	7.31-8.46	0-0.28
Dor Migratória	0.64	0.82	3.18 (2.41-4.21)	0.50
Dor pré-vômito	1.00	0.64	2.76 (1.94-3.94)	NA
Sinal do Psoas	0.16	0.95	2.38 (1.21-4.67)	0.90 (0.83-0.98)
Febre	0.67	0.79	1.94 (1.63-2.32)	0.58 (0.51-0.67)
Dor à descompressão	0.63	0.69	1.10-6.30	0-0.86
Rigidez abdominal	0.74	0.57	1.65-1.78	0-0.54
Sem dor similar prévia	0.81	0.41	1.50 (1.36-1.66)	0.323 (0.246-0.424)
Sensibilidade retal	0.41	0.77	0.86-5.34	0.36-1.15
Anorexia	0.68	0.36	1.27 (1.16-1.38)	0.64 (0.54-0.75)
Náusea	0.58	0.37	0.69-1.20	0.70-0.84
Vômito	0.51	0.45	0.92 (0.8201.04)	1.12 (0.95-1.33)

RV = razão de verossimilhança.

NA = não se aplica.

Erros diagnósticos variam entre 12 a 42% (Graffeo and Counselman 1996). As consequências na demora do diagnóstico de apendicite podem resultar em graves consequências, como abscesso, perfurações ou fístulas, as quais aumentam a morbi-mortalidade (Humes and Simpson 2006). Dessas complicações, as principais costumam ser os abscessos intra-abdominais pré operatórios e pélvicos que ocorrem em 3,8% dos pacientes. Além disso, a

cirurgia imediata está associada com aumento da morbidade (uma razão de probabilidades de 3,3) e risco de ressecção ileocecal desnecessária - uma taxa de recorrência é ~7,4% (Andersson and Petzold 2007). A AA possui uma mortalidade entre 0,09-0,24%, alcançando até 1-4% em países em desenvolvimento (Bhangu et al. 2015).

Etiologia da apendicite

Como causa primária de apendicite, é proposto principalmente a teoria obstrutiva (Birnbbaum and Wilson 2000). Isto costuma ocorrer por fecalitos, hiperplasia linfóide ou compactação de material; raramente por parasitas ou tumores. Apesar de alguns agentes infecciosos serem conhecidos como gatilho do processo inflamatório do apêndice cecal ou mesmo serem associados com AA, isso ainda segue sem ser totalmente entendido. Então, teorias recentes têm focado em fatores genéticos e ambientais.

Apesar de nenhum gene ter sido identificado, o risco de apendicite é até 3 vezes maior em pessoas com histórico familiar positivo para AA (Ergul 2007). Fatores ambientais também podem ter sua contribuição, desde que estudos têm demonstrado a predominância de incidência de casos durante o verão. Também, mulheres gestantes costumam ter risco reduzido para AA (o menor risco é durante o terceiro trimestre - apesar do quadro ser um desafio diagnóstico nestes casos) (Zingone et al. 2015). Além disso, a influência da etnia mostra que pacientes não-caucasianos possuem taxas de incidência menores quando comparados à população caucasiana (Anderson et al. 2012).

O microbioma da AA costuma ter grande crescimento de população bacteriana. Organismos aeróbicos predominam em casos incipientes, enquanto infecção mista é mais comum em casos mais tardios (Lau et al. 1984). Alguns organismos que estão normalmente envolvidos em apendicite perfurada são *Escherichia coli*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides fragilis*, e *Pseudomonas species* (Bennion et al. 1990). A patogênese normalmente ocorre por uma bactéria intraluminal que invade a parede do apêndice, propagando um exsudato neutrofílico. A partir disso, um influxo de neutrófilos causa uma reação fibropurulenta na superfície serosa, irritando o peritônio parietal circundante (Kumar et al. 2007). Isso resulta numa estimulação de

nervos somáticos, causando dor no local da irritação peritoneal (Greenfield and Mulholland 2006).

A classificação mais comum de diagnóstico de AA é o escore Alvarado, o qual é um escore baseado em sintomas, sinais e achados laboratoriais comumente presentes em quadros de AA (Alvarado 1986). Este escore tem um total de 10 pontos a serem considerados, contando 2 pontos tanto para dor em quadrante inferior direito do abdome, como para leucocitose e contando 1 ponto para cada um dos seguintes: migração da dor, anorexia, náusea-vômitos, dor à descompressão, elevação da temperatura ou desvio para a esquerda no leucograma. De forma geral, pacientes que marcarem 6 ou mais pontos nesse escore possuem possibilidade considerável de estarem com um quadro de AA. Além disso, há também outras classificações que costumam ser utilizadas para o diagnóstico por imagem ou por anatomopatológico (AP) (Garst et al. 2013).

Exames complementares

A fim de prevenir as complicações em casos de AA, exames complementares como testes laboratoriais (hemograma/contagem de leucócitos/desvio à esquerda - aplicados no escore de Alvarado; ou outros marcadores biológicos de pesquisas atuais), ressonância nuclear magnética (RNM - menos utilizada que outros exames de imagem), tomografia computadorizada (TC) e o ultrassom (US) têm sido muito úteis e promissores. Destes dois últimos citados, há relatos de resultados com acurácia ~95% (Gaitini et al. 2008; Humes and Simpson 2006). Quando esses testes estão disponíveis, os médicos precisam decidir se o benefício da TC é maior que o custo e o risco associado à irradiação (Wan et al. 2009).

Apesar da alta acurácia de exames como a TC, eles costumam ter algumas limitações: alto custo e aumento no tempo de espera em unidades de emergência (Lin et al. 2008; Frei et al. 2008). Portanto, o uso padronizado destes exames como a TC em pacientes com suspeita de diagnóstico de apendicite pode tornar-se dispensável. Uma vez que a avaliação clínica combinada com resultados de exames laboratoriais são suficientes para o

diagnóstico e possuem um baixo custo e um menor tempo de espera comparado aos exames de imagem.

Baseado nisso, alguns autores são contra o uso da TC no diagnóstico de apendicite (Chiang et al. 2008). Uma vez que, por exemplo, um estudo retrospectivo mostrou que a TC (e outros exames mais avançados) não aprimoram o diagnóstico no contexto de emergência (Lin et al. 2008).

Apesar de tal informação, em centros mais especializados, de maneira geral, os exames de imagem seguem sendo utilizados na avaliação dos casos de abdôme agudo para o diagnóstico de apendicite (Swenson et al. 2018). Sendo esses exames a ultra-sonografia (US), a tomografia computadorizada (TC) e a ressonância nuclear magnética (RNM).

Ultrassonografia

A ultrassonografia tem sido considerada como a primeira linha de imagem para avaliar pacientes gestantes com suspeita de apendicite ou em locais com recursos limitados. Uma vez confirmado um caso de apendicite por ultrassonografia, não haveria necessidade de solicitar uma TC (Sartelli et al. 2017).

O uso da Ultrassonografia como ferramenta diagnóstica na avaliação pré-operatória de pacientes com sinais e sintomas sugestivos de apendicite aguda varia consideravelmente. Intervalos das variáveis são os seguintes: taxa de pacientes que não foram à apendicectomia variam de 4.4% a 28.2%; sensibilidade 21,0% a 95.7%; especificidade 71.4% a 97.9%; valor preditivo positivo 41.2% a 94%; valor preditivo negativo 49% a 89.6% (Piyarom et al. 2014; Boonstra et al. 2015). Quando relatado, a visualização do apêndice cecal varia de 35% (Stewart et al. 2012) a 52.9% com diferença entre sexos de 65% em homens e 51.1 em mulheres (Kaewlai et al. 2015). Um estudo demonstrou um grupo que consistia em incompleta ou não visualização do apêndice cecal em 81.4% do total da população em estudo (Lourenco et al. 2016).

Análises de subgrupos foram feitas em vários estudos. A comparação de Ultrassonografia positiva versus equívoca para apendicite aguda no que diz respeito a sensibilidade e ao valor preditivo positivo (IC 95%) foi de 48.4% (35.8-61.3) e 83.8% (68.0-93.8) para o grupo positivo e 21.0% (9.0-38.9) e

41.2% (18.5-67.0) para o grupo equívoco, respectivamente (Lourenco et al. 2016). Análise dos resultados de pacientes do sexo masculino versus sexo feminino (Al-Ajerami. 2012) em sensibilidade, especificidade e taxas de falso-positivos foram de 95.7%, 88.2% e 6.2% em homens, e 84.6%, 71.4% e 35.5 em mulheres. Este estudo também demonstrou diferenças significativas em não obesos e obesos homens e mulheres com falso diagnóstico (falso-positivo + falso-negativo) de 6.2% versus 34.4% ($p < .001$) em homens e 38.5% versus 46.2% ($p < .001$) em mulheres, respectivamente. Avaliação de várias características de pacientes resultaram em três com diferença significativa. O subgrupo do índice de massa corpórea < 22 , índice de dor > 6 e Escore de Alvarado > 6 gerou uma probabilidade de visualização do apêndice de 2.3, 2.9 e 3.8 vezes maior com a ultrassonografia respectivamente (Kaewlai et al. 2015).

Tomografia Computadorizada

A TC é um método de exame por imagem que utiliza séries de incidências de raios X, de diferentes ângulos, e processa esses dados para gerar imagens em cortes transversais do corpo, com capacidade de fazer imagens em 3D. A TC de abdome e pelve tem sido utilizada desde a década de 1980 para avaliar pacientes com suspeita de apendicite aguda (Balthazar et al. 1986). Com o avanço tecnológico, com os cortes ou detectores múltiplos, tal exame é adquirido em poucos segundos a partir do posicionamento correto do paciente. A abordagem mais comum é para visualizar toda a cavidade abdominal e pélvica através de finas secções (≤ 5 mm), mas protocolos focando no abdômen inferior ou na pelve também são utilizados, visando reduzir a exposição à radiação (Brown 2008).

A TC de abdome e pelve pode ser realizada tanto sem quanto com contraste. Neste método, há 3 opções do uso do contraste, sendo as vias intravenosa (IV), oral ou ambas. Cada uma dessas formas de obtenção de imagem possui vantagens e desvantagens. No caso da via oral, o exame pode demorar horas e é desconfortável para o paciente, podendo induzir a náusea e vômitos, o que ocasiona em atraso no diagnóstico. A via IV é geralmente realizada em pacientes sem perda da função renal o que também pode custar mais tempo à resolução do caso. Além disso, tanto a via oral

quanto IV podem induzir a reações alérgicas de diversas intensidades, podendo ocasionar em risco iminente ao paciente. Ainda, o método sem contraste pode ser realizado mais rapidamente, mas pode limitar a identificação de algumas patologias específicas (Soucy et al. 2019).

Uma revisão sistemática trouxe informações atualizadas aos médicos emergencistas acerca da necessidade de utilizar contraste na TC em casos suspeitos de AA. A administração do contraste por via oral não é necessária quando for realizada uma TC de abdômen inferior ou de pelve. Além disso, a TC de abdome e pelve sem contraste possui excelentes características para a avaliação de AA. Não há evidência mostrando superioridade na avaliação de AA da TC com contraste, frente à sem contraste - entretanto, a literatura atual concorda na indicação do método com contraste. Portanto, se o método por via IV não é facilmente acessível em um tempo hábil, o método sem contraste tem uma excelente acurácia para detectar tal patologia (Soucy et al. 2019).

Uma revisão sistemática da Cochrane demonstrou que a TC possui sensibilidade de 95% (0.93-0.96 IC 95%) e especificidade de 94% (0.92-0.95 IC 95%). As probabilidades pós-teste para AA da TC como um todo, com percentis de prevalência de 25%, 50% e 75% nos estudos incluídos, foram de 88% (0.85-0.90 IC 95%), 92% (0.90-0.94 IC 95%) e 96% (95% IC= 94 a 96 IC 95%) respectivamente, para os resultados positivos, e de 2% (0.02-0.03 IC 95%), 4% (0.03-0.05 IC 95%) e 7% (0.05-0.09 IC 95%) respectivamente, para os resultados negativos. Quando utilizado o contraste via IV, a sensibilidade foi de 96% (IC 95%) e a especificidade foi de 93% (IC 95%). As probabilidades pós-teste neste caso com os mesmos perfis de prevalência foram de 87% (0.82-0.90 IC 95%), 91% (0.88-0.94 IC 95%) e 95% (0.93-0.96 IC 95%) respectivamente, para os resultados positivos, e de 2% (0.01-0.04 IC 95%), 3% (0.02-0.06 IC 95%) e 6% (0.03-0.1 IC 95%) respectivamente, para os resultados negativos (Rud et al. 2011).

Apesar da alta acurácia da TC, esses métodos têm as suas limitações por serem de alto custo e por aumentarem o tempo de espera na emergência (Lin et al., 2008; Frei et al., 2008). O uso rotineiro da TC em pacientes com

suspeita de apendicite não é necessário.

Tabela 2. Comparação entre US e CT em casos suspeitos de Apendicite (Hardin et al. 1999).

	Ultrassom	Tomografia Computadorizada
Sensibilidade	85%	90-100%
Especificidade	92%	95-97%
Uso	- Avaliar pacientes com suspeita diagnóstica para apendicite	- Avaliar pacientes com suspeita diagnóstica para apendicite
Vantagens	- Seguro - Relativamente barato - Pode descartar patologias pélvicas em pacientes femininas - Melhor para crianças	- Maior acurácia - Melhor identificação de achados inflamatórios - Melhor identificação de apêndice normal
Desvantagens	- Operador dependente - Dificuldade de análise frente a gases na imagem - Dor	- Alto custo - Radiação ionizante - Administração de contraste

Ressonância Nuclear Magnética

Existe uma variabilidade nas técnicas empregadas e avaliadas por grupos de pesquisa em relação a Ressonância Nuclear Magnética (RNM). A qualidade técnica pode também ser prejudicada no cenário agudo em função da necessidade do paciente permanecer imóvel durante a realização do exame. Um estudo retrospectivo de uma única instituição de 403 pacientes com idades entre 3 e 49 anos utilizando sistemas 1.5T e 3.0T calculou a sensibilidade e a especificidade para detecção de apendicite aguda pela RNM e encontrou o valor de 97.0% (IC 95%: 89.6%-99.6%) e 99.4% (IC 95%: 97.9-99.9%), respectivamente. Os exames foram realizados sem contraste

intravenoso (IV). O tempo médio do exame para este estudo foi de 14 minutos. Não foi detectada diferença significativa na análise do subgrupo de pacientes pediátricos e gestantes (Petkovska et al. 2016). Um estudo prospectivo diagnóstico de 468 pacientes com idades entre 7 e 59 anos avaliou a performance da sequência ultra-rápida “*HASTE*” (*half-fourier acquisition single-shot turbo spin echo*) com 1.5T para diagnóstico de Apendicite Aguda. A sensibilidade e especificidade foram relatadas tais quais: 98% (IC 95%) e 92% (IC 95%), respectivamente quando comparadas a visualização direta n=90). As sequências *HASTE* axial e coronal foram adquiridas com um tempo reportado <2 minutos (Byott and Harris. 2016). Dois estudos avaliaram a capacidade diagnóstica da performance da RNM e da experiência do interpretador. Um estudo prospectivo de centro único de 52 pacientes com idades entre 18 e 88 anos calculou a sensibilidade e a especificidade para detectar apendicite aguda. Para interpretadores experientes estes foram 85% e 97% respectivamente. A sensibilidade e a especificidade para os menos experientes foram de 77% e 79%, respectivamente.

A RNM foi realizada em um aparelho de 1.5T sem e com a administração de contraste IV e Buscopam para diminuir a peristalse (Heverhagen et al. 2012). O segundo estudo, prospectivo, multicêntrico que avaliou a acurácia diagnóstica foi realizado para determinar a concordância interobservador entre radiologistas especialistas em RNM e não especialistas. O estudo incluiu 223 pacientes que tinham idades maiores ou iguais a 18 anos de idade. Imagens foram realizadas em um aparelho de 1.5T sem contraste IV. A sensibilidade para detectar apendicite aguda para radiologistas não especialistas foi de 89% (IC 95%: 84%-93%) comparado aos radiologistas especialistas que foi de 97% (IC 95%: 0.91%-0.99%). A especificidade para não especialistas foi de 83% (IC 95%: 77%-88%) comparado aos especialistas que foi de 93% (IC 95%: 87%-97%). O valor preditivo positivo para não especialistas foi de 86% (IC 95%: 81%-90%) comparado aos especialistas que foi de 94% (IC 95%: 88%-97%). O valor preditivo negativo para não especialistas foi de 88%, (IC 95%: 82%-91%) comparado aos especialistas que foi de 96% (IC 95%: 90%-98%). A

concordância interobservador expressa pelo coeficiente Kappa Cohen foi de 0.71 (IC 95%: 0.73-0.84) consistente com uma boa (mas não excelente) concordância (Leeuwenburgh et al. 2014).

Dois estudos prospectivos multicêntricos avaliaram também a performance da RNM. O primeiro, um estudo prospectivo de 230 pacientes foi conduzido para comparar a RNM com a Ultrassonografia com a estratégia da opção de Tomografia Computadorizada (TC). A sensibilidade e a especificidade para a RNM foram de 97% e 93%, respectivamente. Estes valores foram similares aos da Ultrassonografia com a opção de TC. Não ocorreram mudanças estatisticamente significativas na sensibilidade e na especificidade na análise do subgrupo das pacientes do sexo masculino e do sexo feminino. O protocolo da RNM incluiu imagens ponderadas com difusão sem sequências pós contraste realizadas em aparelhos de 1.5T (Leeuwenburgh et al. 2013). O segundo, um ensaio clínico prospectivo de 130 pacientes que tinham idades ≥ 18 anos foi realizado para determinar a acurácia da RNM (sistemas de 1.5T) comparada à Ultrassonografia com a opção de TC na diferenciação da apendicite simples versus apendicite perfurada. A sensibilidade e a especificidade da RNM para apendicite aguda perfurada foram de 57% (IC 95%: 39%-73%) e 86% (IC 95%: 77%-91%), respectivamente. Os valores preditivos positivos e negativos foram de 57% (IC 95%: 39%-73%) e 86% (IC 95%: 77%-91%). Estes valores não foram significativamente diferentes quando comparados à técnica de Ultrassonografia com a opção de TC (Leeuwenburgh et al. 2014).

Uma meta-análise de 30 estudos de 1997 até 2015 incluiu 2,665 pacientes pediátricos, adultos e gestantes. A sensibilidade e a especificidade para detecção de apendicite aguda pela RNM 96% (IC 95%: 95%-97%) e 96% (IC 95%: 95%-97%), respectivamente. Este estudo não encontrou diferença estatisticamente significativa para a acurácia do diagnóstico de apendicite aguda entre os estudos realizados sem contrastes versus com contraste IV (Duke et al. 2016). Não há literatura relevante comparando equipamentos de RNM com 1.5T versus 3.0T para detecção de Apendicite Aguda.

Marcadores sanguíneos

Como foi descrito previamente, a anamnese e exame físico combinados com exames laboratoriais são úteis e custo-efetivos para o diagnóstico de apendicite aguda, mas não apresentam uma alta acurácia. Apesar da disponibilidade da TC, os efeitos adversos da radiação estimulou a busca de biomarcadores para o diagnóstico de apendicite. A seguir, serão apresentados os biomarcadores mais comumente descritos na literatura.

Leucograma

O valor sérico da contagem leucocitária nos casos de AA tem sido extensivamente estudada. Afinal, frequentemente sua concentração está elevada nestes casos. Entretanto, tal contagem não é um marcador específico e está normalmente elevada em pacientes com outras condições inflamatórias incluídas como diagnósticos diferenciais clássicos da AA (Calder et al. 1995). Afinal, um ponto de corte $>10-12\ 000\ \text{cell}/\text{mm}^3$ consegue ter uma sensibilidade entre 65-85% e uma especificidade entre 32-82% (Andersson et al. 2004; Wu et al. 2012).

Proteína-C Reativa

PCR é uma proteína de fase aguda. Sua significância diagnóstica é amplamente baseada em suas propriedades cinéticas e sua utilidade como marcador para apendicite complicada/avançada. Seus níveis séricos elevam-se entre 8-12 horas após o início do processo inflamatório com um pico entre 24-48 horas, o qual é mais tardio que o pico da contagem leucocitária (Paajanen et al. 2002). Consequentemente, a PCR contribui pouco para um rápido diagnóstico. Seu ponto de corte costuma ser $>10\ \text{ml/L}$, o qual possui uma sensibilidade entre 65-85% e uma especificidade entre 59-73% (Andersson et al. 2004).

Bilirrubina

Este marcador não é normalmente associado com grande relevância como biomarcador em casos de AA. Entretanto, estudos prévios reportaram a hiperbilirrubinemia como um marcador com grande especificidade para

apendicite perforada. Os níveis séricos de bilirrubina em adultos na população submetida a cirurgias costumam ser elevados devido a problemas hepáticos e na vesícula biliar. A síndrome de Gilbert também pode causar um quadro de hiperbilirrubinemia idiopática, não-conjugada e isolada. Contudo, a prevalência desta síndrome é aproximadamente de 6%. Sendo consideravelmente abaixo da prevalência encontrada em apendicite simples (18,7%) e apendicite perforada (70,6%). Ainda, suas especificidade e sensibilidade para hiperbilirrubinemia na AA foram de 96% e 27%, respectivamente (D'Souza et al. 2013).

Procalcitonina

A procalcitonina é um precursor da calcitonina e é secretada principalmente pelas células C da glândula tireóide e células K pulmonares. Em indivíduos saudáveis, este marcador costuma ser indetectável (concentração sérica < 0.06 ng/ml). Contudo, quando o organismo sofre estímulo por endotoxinas e citocinas da resposta inflamatória, a procalcitonina é rapidamente produzida pela maioria dos tecidos parenquimais do corpo humano (Becker et al. 2004; Dandona et al. 1994). Diferente da PCR, a procalcitonina não responde a processos inflamatórios estéreis ou infecções virais (Assicot et al. 1993). Logo, esta característica a torna um bom biomarcador para diversas infecções, incluindo AA. Um estudo ainda demonstrou que a procalcitonina possui uma sensibilidade de 33 (21 a 47 - IC de 95%) e uma especificidade de 89 (78 a 95 - IC de 95%) (Yu et al. 2013).

Interleucina-6

Interleucina-6 (IL-6) é uma citocina responsável pela ativação da resposta inflamatória aguda. Um estudo prospectivo de 2011 com 280 pacientes com idade entre 3-18 anos, os quais apresentavam com quadro de suspeita de apendicite, mostrou que os níveis de IL-6 aumentam no tanto no início do quadro quanto no processo de redução do processo inflamatório (Kharbanda et al. 2011; Murphy et al. 2008). Na literatura também é possível encontrar alguns dados epidemiológicos da IL-6, como uma sensibilidade que

varia de 66-84 e uma especificidade que varia entre 31-49 (Shogilev et al. 2014).

Serotonina Urinária (5-HIAA)

A 5-hidroxitriptamina (5-HIAA ou serotonina urinária) é um mediador de vasoespasmo, o qual é produzido e estocado dentro das células enterocromafinas. Estas células estão presentes por todo o trato gastrointestinal, especialmente no apêndice cecal, onde produz mais de 95% dos níveis circulatórios deste marcador. Além disso, a 5-HIAA é liberada para a circulação durante processos inflamatório, sendo metabolizada pelas mono-oxidases hepáticas e excretada pela urina (Terzioglu et al 2006; Kema et al. 2000). Portanto, a análise dos níveis urinários deste marcador pode ajudar no diagnóstico precoce de AA. Sendo que há relatos na literatura da 5-HIAA ter uma especificidade de 81% e uma sensibilidade de 44% (Jangjoo et al. 2012).

Leucina

Localização do Gene LRG1 e alias

O gene da glicoproteína rica em leucina alfa 2 , em inglês *leucine-rich alpha-2-glycoprotein*, também conhecida como glicoproteína rica em leucina alfa (LRG) está localizada no braço longo do cromossomo 19p13.3 (O'Donnell et al. 2002).

Estrutura Proteica e localização

A LRG1 faz parte de uma família de proteínas-repetidoras de leucinas-enriquecidas que está envolvida com interações proteína-proteína, adesão celular e transdução celular. A LRG1 humana é composta por uma cadeia de polipeptídeo única com uma galactosamina e quatro oligossacarídeos de glucosamina anexados. Este polipeptídeo tem duas cadeias internas de ligações dissulfídicas e contém 312 aminoácidos, dos quais 66 são leucina. A sequência de aminoácido pode ser dividida exatamente em 13 segmentos de 24 resíduos cada, oito dos quais exibe um

padrão periódico de ocorrência da leucina, prolina e asparagina. O peso molecular não glicosilado da cadeia polipeptídica é de 34,970 kD (Takahashi et al. 1985).

A LRG1 possui 5 potenciais sítios de glicosilação; outro estudo demonstrou que o peso molecular da LRG1 varia de 44 a 55 kD com pontos isoelétricos variando de 4.52 a 4.72 (Hoogland et al. 2004), sugerindo ainda que podem ocorrer modificações. LRG1 possui uma concentração plasmática de 21-50µg/ml (Haupt and Baudner 1977). Ela é secretada por hepatócitos e por neutrófilos que sofrem diferenciação (Hoogland et al. 2004). Embora sua exata função seja desconhecida, ela está aumentada em pacientes com inflamação aguda e infecções bacterianas ([Shirai et al. 2009](#); [Bini et al. 1996](#)).

Ela pertence a uma família de proteínas repetidora enriquecida com leucina. Muitas delas estão envolvidas em interações proteína-proteína, transdução de sinais e adesão celular. A função biológica da LRG1 não é bem conhecida, mas recentemente estudos demonstraram que a LRG1 é expressa durante a diferenciação granulocítica e necessária para angiogênese patológica.

A função biológica da família LRG1 não é totalmente esclarecida, mas recentemente um grupo identificou-as como marcadores específicos para AA, uma vez que eles têm importante função na ativação e quimiotaxia de neutrófilos, sendo responsáveis pela mais importante cascata inflamatória na apendicite.

LRG1 para o diagnóstico de apendicite aguda

O uso da LRG1 para o diagnóstico de apendicite foi relatado pela primeira vez em 2010 (Kentsis et al. 2010). Esses autores utilizaram espectrometria de massa com sistema de Cromatografia Líquida de Alta Pressão na fase exploratória e Western blot na fase de validação. A validação foi realizada com amostras de urina de 67 crianças com dor abdominal; destas 67 crianças, 25 crianças tiveram um caso confirmado de apendicite. Uma análise da curva ROC revelou que o LRG1 tinha uma área abaixo da curva de 97% (Kentsis et al. 2010). Posteriormente, em um estudo prospectivo adequado, foi descoberto que os níveis séricos e urinários de

LRG1 eram mais altos em crianças com diagnóstico de apendicite (Kharbanda et al. 2012). Em 2012, relataram limitações nos testes urinários de ELISA, apesar da discriminação entre pacientes com e sem apendicite aguda; esses autores sugeriram que era necessário um ensaio urinário com um grau clínico para LRG1 (Kentsis et al. 2012). Em 2016, foi relatado na literatura que o LRG1 urinário, quando ajustado à desidratação, era um novo biomarcador promissor para apendicite em crianças (Salö et al. 2016). Em 2017, usando uma população adulta (> 18 anos) e um kit comercial ELISA para LRG1, um estudo uma diferença significativa nos níveis médios plasmáticos em pacientes com e sem apendicite. No entanto, após o uso da análise de regressão logística, os níveis plasmáticos de LRG1 não foram significativos para discriminar a apendicite aguda (Rainer et al. 2017).

Portanto, devido a variabilidade nos kits de ELISA, da escassez de dados sobre a expressão proteica da LRG1 no sangue de pacientes adultos com suspeita de apendicite, se faz necessário realizar novos estudos para pesquisar a utilidade dessa proteína no diagnóstico diferencial de casos com apendicite.

Referências da Revisão da Literatura

- ADDISS, D.G. et al. **The epidemiology of appendicitis and appendectomy in the United States.** American Journal of Epidemiology, v. 132, n. 5, p. 910-25, nov, 1990.
- AL-AJERAMI, Y. **Sensitivity and specificity of ultrasound in the diagnosis of acute appendicitis.** Eastern Mediterranean Health Journal, v. 18, n. 1, p. 66-9, jan, 2012.
- ALVARADO, A. **A practical score for the early diagnosis of acute appendicitis.** Annals of Emergency Medicine, v. 15, n. 5, p. 557-64, mai, 1986.
- ANDERSON, J.E. et al. **Examining a common disease with unknown etiology: trends in epidemiology and surgical management of appendicitis in California, 1995-2009.** World Journal of Surgery, v. 36, n. 12, p. 2787-94, dez, 2012.
- ANDERSSON, R.E. **Meta-analysis of the clinical and laboratory diagnosis of appendicitis.** The British Journal of Surgery, v. 91, n. 1, p. 28-37, jan, 2004.
- ANDERSSON, R.E.; PETZOLD, M.G. **Nonsurgical treatment of appendiceal abscess or phlegmon: a systematic review and meta-analysis.** Annals of Surgery, v. 246, n. 5, p. 741-8, nov, 2007.
- ASSICOT, M. et al. **High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection.** Lancet, v. 341, n. 8844, p. 515-8, fev, 1993.
- BALTHAZAR, E. J. **CT of appendicitis.** American Journal of Roentgenology, v. 147, n. 4, p. 705-10, out, 1986.
- BECKER, K.L. et al. **Procalcitonin and the calcitonin gene family of peptides in inflammation, infection, and sepsis: a journey from calcitonin back to its precursors.** The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, v. 89, n. 4, p. 1512-25, abr, 2004.
- BENNION, R.S. et al. **The bacteriology of gangrenous and perforated appendicitis--revisited.** Annals of surgery, v. 211, n. 2, p. 165-71, fev, 1990.
- BHANGU, A. et al. **Acute appendicitis: modern understanding of pathogenesis, diagnosis, and management.** Lancet, v. 386, n. 10000, p. 1278-87, set, 2015.

BICKELL, N.A. et al. **How time affects the risk of rupture in appendicitis.** Journal of The American College of Surgeons, v. 202, n. 3, p. 401-6, mar, 2006.

BIRNBAUM, B.A.; WILSON, S.R. **Appendicitis at the millennium.** Radiology, v. 215, n. 2, p. 337-48, mai, 2000.

BOONSTRA, P.A. et al. **Less negative appendectomies due to imaging in patients with suspected appendicitis.** Surgical Endoscopy, v. 29, n. 8, p. 2365-70, ago, 2015.

BROWN, M. A. **Imaging acute appendicitis.** Seminars in Ultrasound, CT and MR, v. 29, n. 5, p. 293-307, out, 2008.

BUCKIUS, M.T. et al. **Changing epidemiology of acute appendicitis in the United States: study period 1993-2008.** The Journal of Surgical Research, v. 175, n. 2, p. 185-190, jun, 2012.

BYOTT, S.; HARRIS, I. **Rapid acquisition axial and coronal T2 HASTE MR in the evaluation of acute abdominal pain.** European Journal of Radiology, v. 86, n. 1, p. 286-290, jan, 2016.

CARR, N.J. **The pathology of acute appendicitis.** Annals of Diagnostic Pathology, v. 4, n. 1, p. 46-58, fev, 2000.

CHIANG, D.T.; TAN, E.L.; BIRKS, D. **'To have...or not to have'. Should computed tomography and ultrasonography be implemented as a routine work-up for patients with suspected acute appendicitis in a regional hospital?** Annals of The Royal College of Surgeons of England, v. 90, n. 1, p. 17-21, jan, 2008.

CURTIS, J. et al. **Acute Appendicitis: Controversies in Diagnosis and Management.** Current Problems in Surgery, v. 50, n. 2, p. 54-86, fev, 2013.

D'SOUZA, N. et al. **Bilirubin; a diagnostic marker for appendicitis.** International Journal of Surgery, v. 11, n. 10, p. 1114-7, 2013.

DANDONA, P. et al. **Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects.** The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, v. 79, n. 6, p. 1605-8, dez, 1994.

DATASUS 2019. Disponível online para pesquisa direta em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/niuf.def>.

DEMIRCI, O.L. et al. **Value of Leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1 (LRG-1) on diagnosis of acute appendicitis in female patients with right lower-quadrant abdominal pain.** The Journal of the Pakistan Medical Association, v. 67, n. 9, p. 1383-86, set, 2017.

DUKE, E. et al. **A Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Performance of MRI for Evaluation of Acute Appendicitis.** American Journal of Roentgenology, v. 206, n. 3, p. 508-17, mar, 2016.p

DUNN, J.C.Y. **Appendicitis.** In: CORAN, A.G. et al. (Eds.). **Pediatric Surgery.** 7 ed. [S.I.]: Mosby, 2012.

EBELL, M.H. **Diagnosis of appendicitis: part 1. History and physical examination.** American Family Physician, v. 15;77, n. 6, p. 828-30, mar, 2008.

ERGUL, E. **Heredity and familial tendency of acute appendicitis.** Scandinavian Journal of Surgery, v. 96, n. 4, p. 290-2, dez, 2007.

FREI, S.P. et al. **Appendicitis outcomes with increasing computed tomographic scanning.** The American Journal of Emergency Medicine, v. 26, n. 1, p. 39-44, jan, 2008.

FREIFELD, A.G. et al. **Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the infectious diseases society of america.** Clinical Infectious Diseases: Infectious Diseases Society of America, v. 52, n. 4, p. 56-93, fev, 2011.

GAITINI, D. et al. **Diagnosing acute appendicitis in adults: accuracy of color Doppler sonography and MDCT compared with surgery and clinical follow-up.** American Journal of Roentgenology, v. 190, n. 5, p. 1300-6, mai, 2008.

GARST, G.C. et al. **Acute appendicitis: a disease severity score for the acute care surgeon.** The Journal of Trauma and Acute Care Surgery, v. 74, n. 1, p.32-6, jan, 2013.

GORTER, R.R. et al. **Diagnosis and management of acute appendicitis. EAES consensus development conference 2015.** Surgical Endoscopy, v. 30, n. 11, p. 4668-90, nov, 2016.

GRAFFEO, C.S.; COUNSELMAN, F.L. **Appendicitis.** Emergency Medicine Clinics of North America, v. 14, n. 4, p. 653-71, nov, 1996.

HARNOSS, J.C. et al. **Antibiotics Versus Surgical Therapy for Uncomplicated Appendicitis: Systematic Review and Meta-analysis of Controlled Trials.** Annals of Surgery, v. 265, n. 5, p. 889-900, may, 2017.

HAUPT, H.; BAUDNER, S. **[Isolation and characterization of an unknown, leucine-rich 3.1-S-alpha2-glycoprotein from human serum (author's transl)].** Hoppe-Seyler's Zeitschrift fur Physiologische Chemie, V. 358, n. 6, p. 639-46, jun, 1977.

HEVERHAGEN, J.T. et al. **Diagnostic accuracy of magnetic resonance imaging: a prospective evaluation of patients with suspected appendicitis (diamond).** Journal of Magnetic Resonance Imaging, v. 35, n. 3, p. 617-23, mar, 2012.

HOOGLAND, C. et al. **SWISS-2DPAGE, ten years later.** Proteomics, v. 4, n. 8, p. 2352-6, ago, 2004.

HUMES, D.J.; SIMPSON, J. **Acute appendicitis.** British Medical Journal, v. 9;333, n. 7567, p. 530-4, set, 2006.

JANGJOO, A. et al. **Is urinary 5-hydroxyindoleacetic acid helpful for early diagnosis of acute appendicitis?** The American Journal of Emergency Medicine, v. 30, n. 4, p. 540-4, mai, 2012.

KABIR, S.A. et al. **How to Diagnose an Acutely Inflamed Appendix; a Systematic Review of the Latest Evidence.** International Journal of Surgery, v. 40, p. 155-62, abr, 2017.

KAWELAI, R. et al. **Body mass index, pain score and Alvarado score are useful predictors of appendix visualization at ultrasound in adults.** Ultrasound in Medicine & Biology, v. 41, n. 6, p. 1605-11, jun, 2015.

KEMA, I.P. et al. **Clinical chemistry of serotonin and metabolites.** Journal of Chromatography. B, Biomedical Sciences and Applications, v. 747, n. 1-2, p. 33-48, set, 2000.

KENTSIS, A. et al. **Detection and diagnostic value of urine leucine-rich α -2-glycoprotein in children with suspected acute appendicitis.** Annals of Emergency Medicine, v. 60, n. 1, p. 78-83, jul, 2012.

KENTSIS, A. et al. **Discovery and validation of urine markers of acute pediatric appendicitis using high-accuracy mass spectrometry.** Annals of Emergency Medicine, v. 55, n. 1, p. 62-70, jan, 2010.

KHARBANDA, A.B. et al. **Discriminative accuracy of novel and traditional biomarkers in children with suspected appendicitis adjusted for duration of abdominal pain.** Academic Emergency Medicine: official journal of the Society for Academic Emergency Medicine, v. 18, n. 6, p. 567-74, jun, 2011.

KHARBANDA, A.B. et al. **Novel serum and urine markers for pediatric appendicitis.** Academic Emergency Medicine: Official Journal of the Society for Academic Emergency Medicine, v. 19, n. 1, p 56-62, jan, 2012.

KHARBANDA, A.B. et al. **Validation and refinement of a prediction rule to identify children at low risk for acute appendicitis.** Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine, v. 166, n. 8, p. 738-44, ago, 2012.

KUMAR, V. et al. **Robbins and Cotran pathologic basis of disease.** 8th ed. Filadélfia: Elsevier, 2007.

LAU, W.Y. et al. **The bacteriology and septic complication of patients with appendicitis.** Annals of Surgery, v. 200, n. 5, p. 576-81, nov, 1984.

LAZAR, J. et al. **Greenfield's Surgery: Scientific Principles and Practice.** 4th ed. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

LEEUWENBURGH, M.M. et al. **Accuracy and interobserver agreement between MR-nonexpert radiologists and MR-experts in reading MRI for suspected appendicitis.** European Journal of Radiology, v. 83, n. 1, p. 103-10, jan, 2014.

LEEUWENBURGH, M.M. et al. **Accuracy of MRI compared with ultrasound imaging and selective use of CT to discriminate simple from perforated appendicitis.** The British Journal of Surgery, v. 101, n. 1, p. 147-55, jan, 2014.

LEEUWENBURGH, M.M. et al. **Comparison of imaging strategies with conditional contrast-enhanced CT and unenhanced MR imaging in patients suspected of having appendicitis: a multicenter diagnostic performance study.** Radiology, v. 268, n. 1, p. 135-43, jul, 2013.

LESSEY, B.A. et al. **Diagnostic Accuracy of Urinary Cytokeratin 19 Fragment for Endometriosis.** Reproductive Sciences (Thousand Oaks, Calif), v. 22, n. 5, p. 551-5, mai, 2015.

LIN, K.H. et al. **Cost analysis of management in acute appendicitis with CT scanning under a hospital global budgeting scheme.** Emergency Medicine Journal, v. 25, n. 3, p. 149-52, mar, 2008.

MURPHY, C.G. et al. **Acute appendicitis is characterized by a uniform and highly selective pattern of inflammatory gene expression.** Mucosal Immunology, v. 1, n. 4, p. 297-308, jul, 2008.

LOURENCO, P. et al. **The current utility of ultrasound in the diagnosis of acute appendicitis.** Clinical imaging, v. 40, n. 5, p. 944-8, set-out, 2016.

NAVARRO FERNÁNDEZ, J.A. et al. **Validity of tests performed to diagnose acute abdominal pain in patients admitted at an emergency department.** Revista española de enfermedades digestivas: organo oficial de la Sociedad Española de Patología Digestiva, v. 101, n. 9, p. 610-8, set, 2009.

NOMURA, O. et al. **Antibiotic administration can be an independent risk factor for therapeutic delay of pediatric acute appendicitis.** Pediatric Emergency Care, v. 28, n. 8, p. 792-5, ago, 2012.

OMLING, E. et al. **Nationwide study of appendicitis in children.** The British Journal of Surgery, v. 106, n. 12, p. 1223-1631, nov, 2019.

OWINGS, M.F.; KOZAK, L.J. **Ambulatory and inpatient procedures in the United States, 1996.** Vital and Health Statistics. Series 13, Data from the National Health Survey, n. 139, p. 1-119, nov, 1998.

PAAJANEN, H. et al. **Novel serum inflammatory markers in acute appendicitis.** Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, v. 62, n. 8, p. 579-84, 2002.

PETKOVSKA, I. et al. **Accuracy of Unenhanced MR Imaging in the Detection of Acute Appendicitis: Single-Institution Clinical Performance Review.** Radiology, v. 279, n. 2, p. 451-60, mai, 2016.

PIYAROM, P.; KAEWLAI, R. **False-negative appendicitis at ultrasound: nature and association.** Ultrasound in Medicine & Biology, v. 40, n. 7, 1483-9, jul, 2014.

POLITES, S.F. et al **A simple algorithm reduces computed tomography use in the diagnosis of appendicitis in children.** Surgery, v. 156, n. 2, p. 448-454, ago, 2014.

RAINER, T.H. et al. **Circulating human leucine-rich α -2-glycoprotein 1 mRNA and protein levels to detect acute appendicitis in patients with acute abdominal pain.** Clinical Biochemistry, v. 50, n. 9, p. 485-490, jun, 2017.

RUD, B. et al. **Computed tomography for diagnosis of acute appendicitis in adults.** Cochrane Database of Systematic Reviews, n. 11, nov, 2011.

SALÖ, M. **Urinary biomarkers in pediatric appendicitis.** Pediatric Surgery International, v. 32, n. 8, p. 795-804, ago, 2016.

SARTELLI, M. et al. **The management of intra-abdominal infections from a global perspective: 2017 WSES guidelines for management of intra-abdominal infections.** World Journal of Emergency Surgery, publicação digital, jul, 2017.

SAVARIS, R.F. et al. **Heart and Neural Crest Derivatives Expressed Transcript 2 (HAND2) is Reduced in Women with Breast Cancer. A Case-Control Study.** Journal Clinical Oncology and Research, v. 02, n. 05, out, 2019.

SCHWICK, H.G.; HAUPT, H. **Purified human plasma proteins of unknown function.** Japanese Journal of Medical Science & Biology, v. 34, n. 5, p. 299-327, out, 1981.

SHOGILEV, D.J. et al. **Diagnosing Appendicitis: Evidence-Based Review of the Diagnostic Approach in 2014.** The Western Journal of Emergency Medicine, v. 15, n. 7, p. 859-71, nov, 2014.

SNYDER, M.J. et al. **Acute Appendicitis: Efficient Diagnosis and Management.** American Family Physician, v. 98, n. 1, p. 25-33, jul, 2018.

SOUCY, Z. et al. **Systematic Review: The Role of Intravenous and Oral Contrast in the Computed Tomography Evaluation of Acute Appendicitis.** The Journal of Emergency Medicine, sine notitia, dez, 2019.

STEWART, J.K. et al. **Sonography for appendicitis: nonvisualization of the appendix is an indication for active clinical observation rather than direct referral for computed tomography.** Journal of Clinical Ultrasound, v. 40, n. 8, p. 455-61, out, 2012.

TAKAHASHI, N. **Periodicity of leucine and tandem repetition of a 24-amino acid segment in the primary structure of leucine-rich alpha**

2-glycoprotein of human serum. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 82, n. 7, p. 1906-10, abr, 1985.

TERZIOGLU, B. et al. **5-hydroxytryptamine release in the anterior hypothalamic and the hippocampal areas of cholestatic rats.** Life Sciences, v. 78, n. 10, p. 1078-83, fev, 2006.

TIND, S.; QVIST, N. **Acute Appendicitis: A Weak Concordance Between Perioperative Diagnosis, Pathology and Peritoneal Fluid Cultivation.** World Journal of Surgery, v. 41, n. 1, p. 70-74, jan, 2017.

WAGNER, J.M. et al. **Does this patient have appendicitis?** Journal of the American Medical Association, v. 276, n. 19, p. 1589-94, nov, 1996.

WAN, M.J. et al. **Acute appendicitis in young children: cost-effectiveness of US versus CT in diagnosis--a Markov decision analytic model.** Radiology, v. 250, n. 2, p. 378-86, fev, 2009.

WEIVODA, S. et al. **ELISA for human serum leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1 employing cytochrome c as the capturing ligand.** Journal of Immunological Methods, v. 336, n. 1, p. 22-9, jul, 2008.

WILMS, I.M. et al. **Appendectomy versus antibiotic treatment for acute appendicitis.** The Cochrane Database of Systematic Reviews, nov, 2011.

YU, C.W. et al. **Systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of procalcitonin, C-reactive protein and white blood cell count for suspected acute appendicitis.** The British Journal of Surgery, v. 100, n. 3, p. 322-9, fev, 2013.

ZINGONE, F. et al. **Risk of acute appendicitis in and around pregnancy: a population-based cohort study from England.** Annals of Surgery, v. 261, n. 2, p. 332-7, fev, 2015.

Objetivos

Comparar a média dos níveis plasmáticos de leucina entre paciente com e sem apendicite aguda.

Artigo em Inglês

Introduction

Acute appendicitis (AA) is the first cause of emergency surgery in the United States, with about 250,000 cases per year [1] and has a peak incidence in the 10 to 24-years-old age group; the incidence in men is higher than in women [2]. Despite the classic signs and symptoms in adults, the likelihood ratio (LR) of these epidemiological tests does not exceed 3, except for the pain in right iliac fossa which has a positive LR=8.4 [3].

Diagnosis of appendicitis has been a challenge [4]. Anamnesis and physical examination have a low accuracy [5]. The use of ancillary exams, such complete blood count and C-reactive protein also have a low accuracy.[6] In contrast, although computed tomography (CT) scan has a high accuracy for diagnosing appendicitis [7], the side effects of ionizing radiation [8], the high cost and the increase of time waiting in the emergency room [9, 10] may preclude its wide use. In order to overcome these problems, many authors have been sought new biomarker for diagnosing appendicitis [11, 12, 13].

Among these new biomarkers, there is the Leucine-Rich Alpha-2-Glycoprotein 1 (LRG1). LRG1 is part of a leucine-rich repeating-proteins family that has involvement with double-protein interactions, cell adhesion, signal transduction and acute inflammation of bacterial infection [14, 15]. The use of LRG1 for diagnosing appendicitis was first reported in 2010 [16]. These authors used mass spectrometry with a High Pressure Liquid Chromatography system in the exploratory phase and western blotting in the validation phase. Validation was performed using urine samples from 67 children with abdominal pain; from these, 25 children had a confirmed case of appendicitis. A ROC curve analysis revealed that LRG1 had an area under the curve of 0.97. Later, a proper prospective method found that urinary and serum levels of LRG1 were higher in children with diagnosis of appendicitis [17]. In 2012, other authors reported limitations on urinary ELISA assays, despite the discrimination between patients with and without acute appendicitis; these authors suggested that a clinical-grade urinary LRG1 assay was necessary [18]. In 2016, a research group reported that urinary LRG1, when adjusted to dehydration, would be a promising novel biomarkers for appendicitis in children.[19] Finally, in 2017, using an adult population (> 18 years-old) and a commercial ELISA kit for LRG1, Rainer *et al.* found a significant difference in plasma median levels of LRG1 between patients with and without appendicitis. However, after using a logistic regression analysis, plasma levels of LRG1 were not significant to discriminate acute appendicitis [12].

Thus, due to the great variability of kits and to the scant data on the accuracy of LRG1 in an adult population with acute abdominal pain, it is necessary to investigate with

different ELISA kits in order to evaluate the accuracy of LRG1 in differential diagnosis of acute appendicitis.

The objective of this study is to compare plasma levels of LRG1 in an adult population with and without the diagnosis of appendicitis, using a commercial ELISA kit.

Methods

Study design

This is a case-control study conducted at the emergency room at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil, between March 1st, 2011 and December 31st, 2012.

Participants

All patients presented in the emergency unit of HCPA with acute abdominal pain, with a diagnostic hypothesis of appendicitis, were potentially eligible for this study.

The inclusion criteria were recent abdominal pain (< 30 days) with at least one more of the following historical/clinical findings: pain in the right iliac region, pain migrating, pain before vomiting, psoas sign, fever, rebound tenderness at Mcburney's point (Blumberg sign), abdominal rigidity, no previous similar pain, pain to digital rectal examination associated or not to anorexia, nausea or vomiting.

Patients that declined to participate in the study or who already had an appendectomy were excluded.

Variables

Plasma levels of LRG1(ng/ml) was the main outcome and cases with and without appendicitis were the variables. Cases with appendicitis were defined as those who were submitted to surgery and had the diagnostic of acute appendicitis by the pathology report.

Controls, i.e., patients without appendicitis, were defined by those who had normal appendix, either by pathology or surgery, or a different outcome on a 30 days follow-up, e.g., spontaneous resolution of the abdominal pain or pelvic inflammatory disease. The 30 days follow-up was performed by contacting the patient by telephone.

Data sources / measurements

Data were prospectively obtained from patients who attended at our emergency unit with suspected diagnosis of appendicitis, according to our study design.

Blood samples were collected using EDTA vacuum tubes in the first consultation. Samples were centrifuged for 15 minutes at 1000×g at 4°C within 30 minutes of collection. Plasma supernatant was harvested and stored at -80°C for posterior ELISA analysis.

LRG1 ELISA quantification

Samples were thawed and submitted to ELISA quantitative analysis using Human-LRG1 ELISA-Kit (MyBiosource; Catalog No: MBS2502648, Inc., San Diego, CA, USA), according to the instructions of the manufacturer. The kit had a minimum detectable dose of LRG1 of 4.688ng/mL, although the usual detection range varies between 7.813-500 ng/mL. The coefficient of variation of repeatability was less than 10%. This kit recognizes natural and recombinant Human LRG1. No significant cross-reactivity or interference between human LRG1 and analogs was observed.

Bias

In order to reduce bias, all ELISA measurements were performed in duplicates in one batch.

Sample size

Sample size was calculated according to the literature [20]. At least 28 patients (14 cases in each group) were required to have a 95% chance of detecting, as significant at the 1% level, an increase in the mean plasma level of LRG1 measure from 53 ng/ml in the non appendicitis group to 95 ng/ml in the experimental group (appendicitis group), based on the data previous published at literature [17]. The standard deviation of 26 was obtained from a in-house pilot study.

Quantitative variables

Plasma levels of LRG1 and age were measured by median or means according to the distribution of the data, either Gaussian or not.

Statistical methods

LRG1 plasma levels were analyzed using Mann-Whitney U-test or Student t-test for comparing medians and means, respectively, according to the normal distribution of the data. Normal distribution of the data was verified with D'Agostino & Pearson test. Dichotomic data was analyzed using Fisher's exact test. Statistical analysis was performed using GraphPad Prism software version 8.0 ([GraphPad Software, La Jolla, CA, USA](http://www.graphpad.com)).

Ethical aspects

This study was submitted and approved by the local research ethical committee of HCPA under CAAE 01119.0.001.000-11. All patients gave their written consent to participate in this study.

Results

Participants

Between March 1st, 2011 and December 31st, 2012, 28 cases who presented at the emergency room at HCPA with a hypothesis of appendicitis and with inclusion criteria were enrolled.

Descriptive data

Characteristics of the studied population are depicted in Table 1. Presence of rebound tenderness, white blood cells count and pain migration to the right lower quadrant were significantly higher in the appendicitis group (Table 1).

Main outcomes

A total of 14 cases of appendicitis were confirmed by pathology report. Non appendicitis cases comprised of 14 patients. The main diagnosis was spontaneous resolution.

Median (range) plasma levels of LRG1 8.8 ng/ml (5.5 to 31) and 11 (4.6 to 108) ng/ml, in cases with and without appendicitis, respectively ($P=0.26$, Mann-Whitney U-test), as shown in Figure 1. Standard deviation of the non appendicitis group was 26.

Discussion

No difference was found between plasma levels of patients with and without appendicitis, using the present commercial kit. Our results are different from those reported by Rainer *et al.*[12]. Although we also found that median levels were lower in patients with acute appendicitis, we were not able to find a significant difference between medians (Figure 1), mainly due to the wide range of the results presented in cases without appendicitis (range from 4.6 to 108 ng/ml). One possibility could be related to the difference in the ELISA kit used or to our non-appendicitis group. In our study, the majority controls had a spontaneous resolution, some had pelvic inflammatory disease or mesenteric lymphadenitis, which are acute inflammation and may elevate LRG1[14, 15]. We are not able to make further comparison to the original work of Rainer's study, since there are no details of the final diagnosis of the non-appendicitis cases [12].

There are few limitations in our study. We just used one commercial ELISA kit and samples were kept in -80°C for 3 months. We are not aware if this time may alter the protein expression.

The use of confirmed cases of appendicitis using the pathology report as the gold standard and the proper follow-up with those who had hospital discharge without surgery is a strength of the study. In addition, we presented a representative population, with some differential diagnosis in the control group.

We believe that the current ELISA method used herein was not applicable to distinguish cases with and without appendicitis. Analysis with mass spectrometry is still preferable [16, 18, 21], but it does not seem feasible. There is a need to confirm the results by other centers and ELISA kit before implementing LRG1 as a biomarker for diagnosing appendicitis.

In conclusion, median plasma levels of Leucine-Rich Alpha-2-Glycoprotein 1 are not different between cases with and without useful acute appendicitis.

References

1. Sarla GS (2019) Epidemiology of Acute Appendicitis. *Journal of Clinical and Medical Research*
2. Addiss DG, Shaffer N, Fowler BS, Tauxe RV (1990) The epidemiology of appendicitis and appendectomy in the United States. *Am J Epidemiol* 132:910–925
3. Ebell MH (2008) Diagnosis of appendicitis: part 1. History and physical examination. *Am Fam Physician* 77:828–830
4. Bhangu A, Søreide K, Di Saverio S, et al (2015) Acute appendicitis: modern understanding of pathogenesis, diagnosis, and management. *Lancet* 386:1278–1287
5. Navarro Fernández JA, Tárraga López PJ, Rodríguez Montes JA, López Cara MA (2009) Validity of tests performed to diagnose acute abdominal pain in patients admitted at an emergency department. *Rev Esp Enferm Dig* 101:610–618
6. Hiremath S (2016) Accuracy of Leukocyte Count and C-Reactive Protein in the Diagnosis of Acute Appendicitis –A Prospective Study. *International Journal of Anatomy Radiology and Surgery*
7. Hlibczuk V, Dattaro JA, Jin Z, et al (2009) 95: Diagnostic Accuracy of Non-Contrast Computed Tomography for Appendicitis in Adults: A Systematic Review. *Annals of Emergency Medicine* 54:S31
8. Inoue Y, Nagahara K, Kudo H, Itoh H (2019) EFFECTS OF THE SCAN RANGE ON RADIATION DOSE IN THE COMPUTED TOMOGRAPHY COMPONENT OF ONCOLOGY POSITRON EMISSION TOMOGRAPHY/COMPUTED TOMOGRAPHY. *Radiation Protection Dosimetry* 185:1–6
9. Lin K-H, Leung W-S, Wang C-P, Chen W-K (2008) Cost analysis of management in acute appendicitis with CT scanning under a hospital global budgeting scheme.

10. Frei SP, Bond WF, Bazuro RK, et al (2008) Appendicitis outcomes with increasing computed tomographic scanning. *Am J Emerg Med* 26:39–44
11. Unverir P, Karcioğlu O (2011) A review of the predictive role of plasma d-lactate level in acute appendicitis: a myth or truth? *ISRN Toxicol* 2011:702372
12. Rainer TH, Leung LY, Chan C, et al (2017) Circulating human leucine-rich α -2-glycoprotein 1 mRNA and protein levels to detect acute appendicitis in patients with acute abdominal pain. *Clin Biochem* 50:485–490
13. Sumanth G, Surgery PG (2020) Significance of C- Reactive Protein in Diagnosis of Acute Appendicitis. *Journal of Medical Science And clinical Research* 08
14. Shirai R, Hirano F, Ohkura N, et al (2009) Up-regulation of the expression of leucine-rich alpha(2)-glycoprotein in hepatocytes by the mediators of acute-phase response. *Biochem Biophys Res Commun* 382:776–779
15. Bini L, Magi B, Marzocchi B, et al (1996) Two-dimensional electrophoretic patterns of acute-phase human serum proteins in the course of bacterial and viral diseases. *Electrophoresis* 17:612–616
16. Kentsis A, Lin YY, Kurek K, et al (2010) Discovery and validation of urine markers of acute pediatric appendicitis using high-accuracy mass spectrometry. *Ann Emerg Med* 55:62–70.e4
17. Kharbanda AB, Rai AJ, Cosme Y, et al (2012) Novel serum and urine markers for pediatric appendicitis. *Acad Emerg Med* 19:56–62
18. Kentsis A, Ahmed S, Kurek K, et al (2012) Detection and diagnostic value of urine leucine-rich α -2-glycoprotein in children with suspected acute appendicitis. *Ann Emerg Med* 60:78–83.e1
19. Salö M, Roth B, Stenström P, et al (2016) Urinary biomarkers in pediatric appendicitis. *Pediatr Surg Int* 32:795–804
20. Julious SA (2004) Sample sizes for clinical trials with Normal data. *Statistics in Medicine* 23:1921–1986
21. Shogilev DJ, Duus N, Odom SR, Shapiro NI (2014) Diagnosing appendicitis: evidence-based review of the diagnostic approach in 2014. *West J Emerg Med* 15:859–871

Table 1. Characteristics of the studied population.

Characteristics	Appendicitis n= 14	No Appendicitis n=14	P value
Age (years-old) - mean (SD)	40.7 (16.1)	32.7 (13.1)	0.1 ^a
Sex - n (%)			
Male	6 (43.9)	3 (21.4)	0.4 ^b
Female	8 (57.1)	11 (78.6)	
Ethnicity - n (%)			
Caucasian	12 (85.7)	10 (71.4)	0.6 ^b
Non-caucasian	2 (14.3)	4 (28.6)	
Days from initial Symptoms - median (range)	2 (1-5)	4.5 (1-10)	0.04 ^c
Nausea - n (%)			
yes	9 (64.3)	7 (50.0)	0.7 ^b
no	5 (35.7)	7 (50.0)	
Fever - n (%)			
yes	4 (28.6)	1 (7.1)	0.3 ^b
no	10 (71.4)	13 (92.9)	
Pain migrating - n (%)			
yes	7 (50.0)	0 (0,0)	0.005 ^b
no	7 (50)	14 (100.0)	
Rebound tenderness - n (%)			
yes	5 (35.7)	1 (7.1)	0.1 ^b
no	9 (64.3)	13 (92.9)	
Leukocytes, (x1,000 cells/mm ³) - mean (SD)	13.2 (5.9)	7.8 (2.4)	0.005 ^a
Final diagnosis			
Appendicitis	14 (100)		n.a.
Normal appendix (visual)		2	
Normal appendix (pathology)		1	
Spontaneous resolution		8	
Hemorrhagic ovary cyst		1	
Pelvic Inflammatory Disease		1	
Mesenteric lymphadenitis		1	

^a Student t-test with Welch's correction.^b Fisher Exact test.^c Mann-Whitney.

n.a. = not applicable

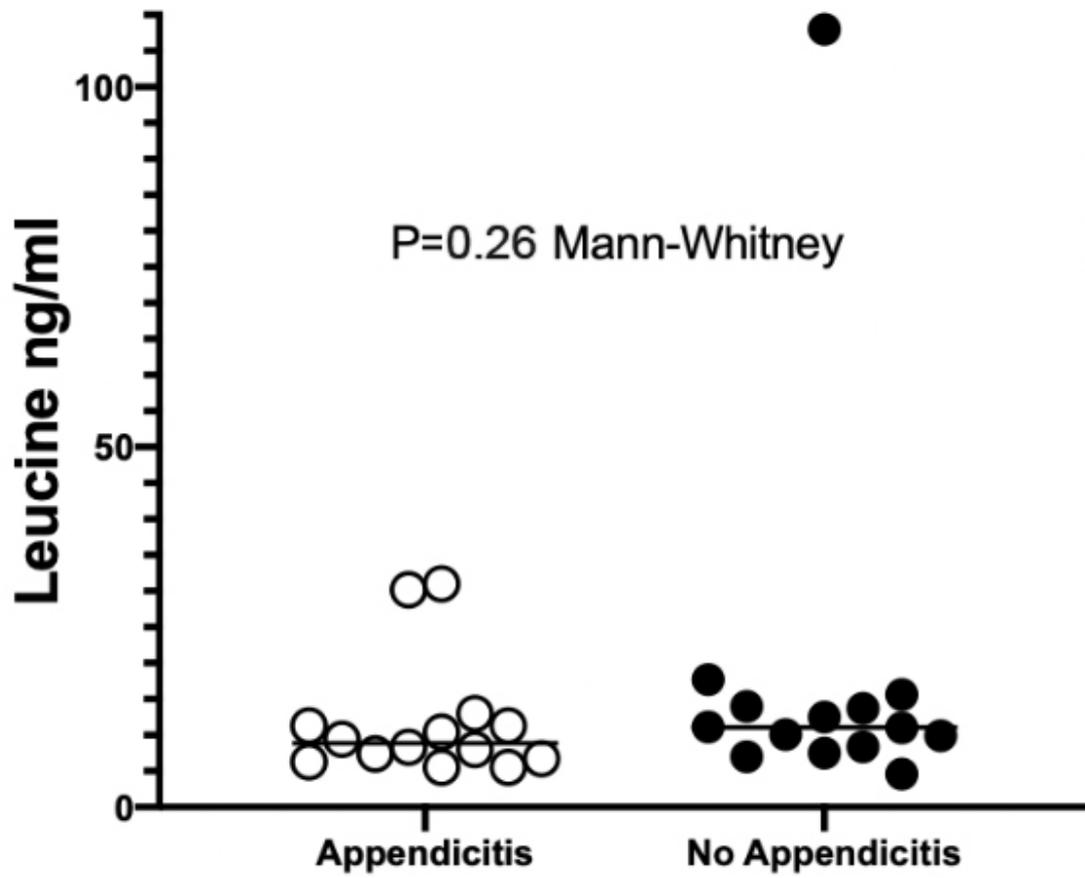


Figure 1. Plasma levels of leucine (LRG1) in patients with and without appendicitis.

Artigo em Português

Introdução

Apendicite aguda (AA) é a principal causa dentre as cirurgias de urgência nos Estados Unidos, com 250.000 casos por ano ([Sarla 2019](#)), sendo mais comum em pessoas com idade entre 10-24 anos independente do sexo, levemente mais incidente em homens, tanto em mulheres quanto em homens ([Addiss et al. 1990](#)). Apesar dos clássicos sinais/sintomas em adultos, a razão de probabilidades (LR - do inglês *likelihood ratio*) destes não passa de 3, exceto pela dor em fossa ilíaca direita que tem uma LR de 8,4 ([Ebell 2008](#)).

O diagnóstico de AA tem sido um desafio ([Bhangu et al. 2015](#)). A anamnese e o exame físico possuem uma baixa acurácia diagnóstica ([Navarro Fernández et al. 2009](#)). A utilização de exames complementares, como a contagem de células sanguíneas e a proteína C-reativa (PCR) também possuem baixo impacto para este fim ([Hiremath 2016](#)). Por outro lado, apesar da tomografia computadorizada (TC) ter um alto valor para este diagnóstico ([Hlibczuk et al. 2009](#)), os efeitos adversos da radiação ionizante ([Inoue et al. 2019](#)), o alto custo financeiro e o aumento do tempo de espera nas unidades de emergência ([Lin et al. 2008](#)); ([Frei et al. 2008](#)) podem dificultar ou limitar sua utilização. Com vistas a solucionar estes impasses, muitos autores têm procurado por novos biomarcadores para o diagnóstico da AA ([Unverir and Karcioğlu 2011](#)); ([Rainer et al. 2017](#)); ([Sumanth and Surgery 2020](#)).

Entre esses biomarcadores, há a leucina-enriquecida alfa-2-glicoproteína 1 (LRG1 - do inglês: "*Leucine-Rich Alpha-2-Glycoprotein 1*"). A LRG1 é parte de uma família de leucinas enriquecidas de proteínas repetidoras que estão envolvidas nas interações proteína-proteína, adesão celular e transdução de sinal. O uso da LRG1 para o diagnóstico de AA foi primeiramente reportado em 2010 ([Kentsis et al. 2010](#)). Estes autores utilizaram espectrometria de massa com um sistema de alta pressão líquida cromatográfica na fase exploratória e um sistema "Western blotting" na fase de validação. Esta fase foi realizada utilizando amostras de 67 crianças com

dor abdominal; dessas, 25 tiveram casos confirmados de AA. Uma análise por curva ROC revelou que a LRG1 tinha uma área sobre a curva de 0.97. Depois, um estudo prospectivo com métodos apropriados mostrou que os níveis urinários e séricos de LRG1 foram maiores nas crianças com diagnóstico confirmado de AA ([Kharbanda et al. 2012](#)). Em 2012, foram reportadas limitações nas análises por ELISA urinária, apesar da discriminação entre pacientes com ou sem AA; os autores sugeriram que um seria necessário uma avaliação clínica melhor elaborada com amostras urinárias de LRG1 ([Kentsis et al. 2012](#)). Após, em 2016, um grupo de pesquisadores publicou que a LRG1 urinária, quando ajustada para desidratação, seria um biomarcador promissor para casos de AA em crianças ([Salö et al. 2016](#)). Finalmente, em 2017, utilizando uma população adulta (> 18 anos) e um kit de ELISA comercial para LRG1, uma outra publicação mostrou uma diferença significativa nos níveis médios plasmáticos da LRG1 entre pacientes com ou sem AA. Entretanto, após uma análise de regressão logística, estes níveis não foram significantes para discriminação do diagnóstico de AA ([Rainer et al. 2017](#)).

Portanto, devido à grande variabilidade dos kits e à pouca quantidade de informações sobre a acurácia da LRG1 em uma população adulta com dor abdominal aguda, torna-se necessário investigar com diferentes kits de ELISA para avaliar a acurácia da LRG1 no diagnóstico diferencial de AA.

O objetivo deste estudo é, assim sendo, comparar os níveis séricos de LRG1 em uma população adulta com ou sem diagnóstico de AA, utilizando kit comercial de ELISA.

Métodos

Delineamento

Este é um estudo de caso-controle realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brasil, entre 1º de março de 2011 e 31 de dezembro de 2012.

Participantes

Todos os pacientes admitidos na emergência do HCPA com quadro de dor abdominal aguda - suspeita de apendicite - tiveram ao menos uma amostra sanguínea coletada. Logo, foram elegíveis para este estudo.

Os critérios de inclusão foram dor abdominal junto a pelo menos mais um dos seguintes sinais/sintomas: dor em fossa ilíaca direita, migração da dor, náusea/vômitos precedidos por dor, sinal do psoas, febre, dor abdominal à descompressão (sinal de Blumberg), defesa abdominal, ausência de história de dor similar, dor ao toque retal e anorexia.

Os critérios de exclusão foram a recusa a participar do estudo ou quem já tinha sido submetido à apendicectomia.

Variáveis

As variáveis incluíram níveis plasmáticos de LRG1 e casos com e sem apendicite.

Casos com apendicite foram definidos como aqueles em que os pacientes foram submetidos à cirurgia e tiveram o diagnóstico de AA pelo relatório anatomopatológico (AP).

Os controles, por exemplo, foram pacientes sem apendicite, definidos como aqueles com apêndice normal, seja vide patologia, seja vide cirurgia, ou algum outro diagnóstico confirmado no trigésimo dia de seguimento, como por resolução espontânea da dor abdominal ou como doença inflamatória pélvica em pacientes do sexo feminino. Para confirmar o desfecho dos pacientes que não tiveram retorno hospitalar, o seguimento foi realizado por contato por telefone.

Fonte de Dados / Medições

Os dados foram obtidos prospectivamente de pacientes atendidos em nossa unidade de emergência com suspeita de quadro de apendicite, conforme o delineamento de nosso estudo.

As amostras de sangue foram coletadas utilizando tubos a vácuo do primeiro atendimento. As amostras foram centrifugadas por 15 minutos sob 1000×g em uma temperatura de 4°C dentro de 30 minutos da coleta. O plasma não precipitado foi recolhido e guardado a uma temperatura de -80°C para posterior análise por ELISA.

Quantificação por ELISA da LRG1

As amostras foram descongeladas e submetidas à análise quantitativa por ELISA utilizando kit de ELISA para LRG1 humana (MyBiosource; Catálogo No: MBS2502648, Inc., San Diego, CA, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. O kit de ELISA tinha uma dose mínima detectável de LRG1 de 4.688ng/mL, apesar da detecção usual variar entre 7.813-500ng/mL. O coeficiente de variação de repetibilidade foi <10%. Também, este kit reconhece a variação natural e a recombinante de LRG1, mas não houve indícios de ter ocorrido reações-cruzadas ou interferência entre a LRG1 humana e seus análogos.

Vieses

Com o intuito de reduzir nossos vieses, todas as medições de nossas análises de ELISA foram realizadas duplicadamente.

Tamanho da Amostra

O tamanho da amostra foi calculado de acordo com a literatura ([Julious 2004](#)). Foi definido um mínimo de 28 pacientes (14 em cada grupo) para alcançarmos 95% de chance de detectar, com significância de nível 1%, um aumento na média do nível plasmático de LRG1 medida de 53 ng/ml nos casos de pacientes em apendicite e de 95 ng/ml no grupo experimental (grupo com apendicite), baseado em dados publicados previamente na literatura ([Kharbanda et al. 2012](#)). O desvio padrão de 26 foi obtido de um estudo piloto de nosso mesmo hospital.

Variáveis Quantitativas

Os níveis plasmáticos de LRG1 e a idade foram medidos por mediana e média de acordo com sua distribuição Gaussiana.

Métodos Estatísticos

Os desfechos foram divididos entre aqueles com e sem AA. O grupo *apendicite* teve sua confirmação por relatório AP. Os casos sem apendicite

foram controlados pelo seguimento clínico e cirúrgico, como exemplo, por negativa ao diagnóstico de AA no relatório AP, não realização a procedimento cirúrgico ou contato direto por telefone 30 dias após o primeiro atendimento (em casos de perda clínica/ambulatorial).

Análise

Comparamos as médias e medianas dos níveis séricos de LRG1 entre pacientes que tinham seu diagnóstico determinado como *apendicite* ou *sem apendicite*. Os dados foram analisados utilizando dois métodos diferentes: Teste-U de Mann-Whitney e Teste-T Estudante, para comparar as medianas e as médias, respectivamente. Esta análise foi feita por nossa equipe utilizando o programa GraphPad Prism 8.0 ([GraphPad Software, La Jolla, CA, USA](http://www.graphpad.com)).

Procedimentos Éticos

Este estudo foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa local do HCPA perante o CAAE 01119.0.001.000-11. Todos os pacientes tiveram seu consentimento registrado por escrito para participar deste estudo.

Resultados

Entre 1º de março de 2011 e 31 de dezembro de 2012, todos os pacientes que procuraram a emergência de nosso hospital com suspeita de AA foram avaliados por um médico especialista, que aplicou tanto os critérios de exclusão como os de inclusão.

Dados descritivos

As características populacionais do estudo são retratadas na Tabela 1. Presença de sensibilidade de rebote, contagem leucocitária e migração da

dor para o quadrante inferior direito foram significativamente maiores no grupo da apendicite (Tabela 1).

Tabela 1. Características populacionais analisadas.

Características	Apendicite n=14	Sem Apendicite n=14	Valor-p
Idade (anos) - média (DP)	40.7 (16.1)	32.7 (13.1)	0.1 ^a
Sexo - n(%) Masculino Feminino	6 (43.9) 8 (57.1)	3 (21,4) 11 (78,6)	0.4 ^b
Etnia - n(%) Caucasiana Não-caucasiana	12 (85,7) 2 (14,3)	10 (71,4) 4 (28,6)	0.6 ^b
Dias do início dos sintomas - Mediana (variação)	2 (1-5)	4.5 (1-100)	0.04 ^c
Náusea - n (%) sim não	9 (64,3) 5 (35,7)	7 (50,0) 7 (50,0)	0.7 ^b
Febre - n (%) sim não	4 (28,6) 10 (71,4)	1 (7,1) 13 (92,9)	0.3 ^b
Migração da dor - n (%) sim não	7 (50,0) 7 (50)	0 (0,0) 14 (100,0)	0.005 ^b
Sinal de Blumberg - n (%) sim não	5 (35,7) 9 (64,3)	1 (7,1) 13 (92,9)	0.1 ^b
Contagem leucocitária, 1,000 cells/mm ³ - média (DP)	13,2 (5,9)	7,8 (2,4)	0.005 ^a
Diagnóstico final			

^a Teste T-Student com correção de Welch.

^b Teste de Fisher.

^c Teste de Mann-Whitney.

Desfechos Primários

Um total de 14 casos de AA foram confirmados por AP, bem como 14 casos sem apendicite.

As medianas dos níveis plasmáticos da LRG1 foram 17.94ng/ml (26.16) e 11.74ng/ml (23.83) nos casos com e sem apendicite, respectivamente ($P=0.26$, Teste-U de Mann-Whitney), como demonstrado na Figura 1.

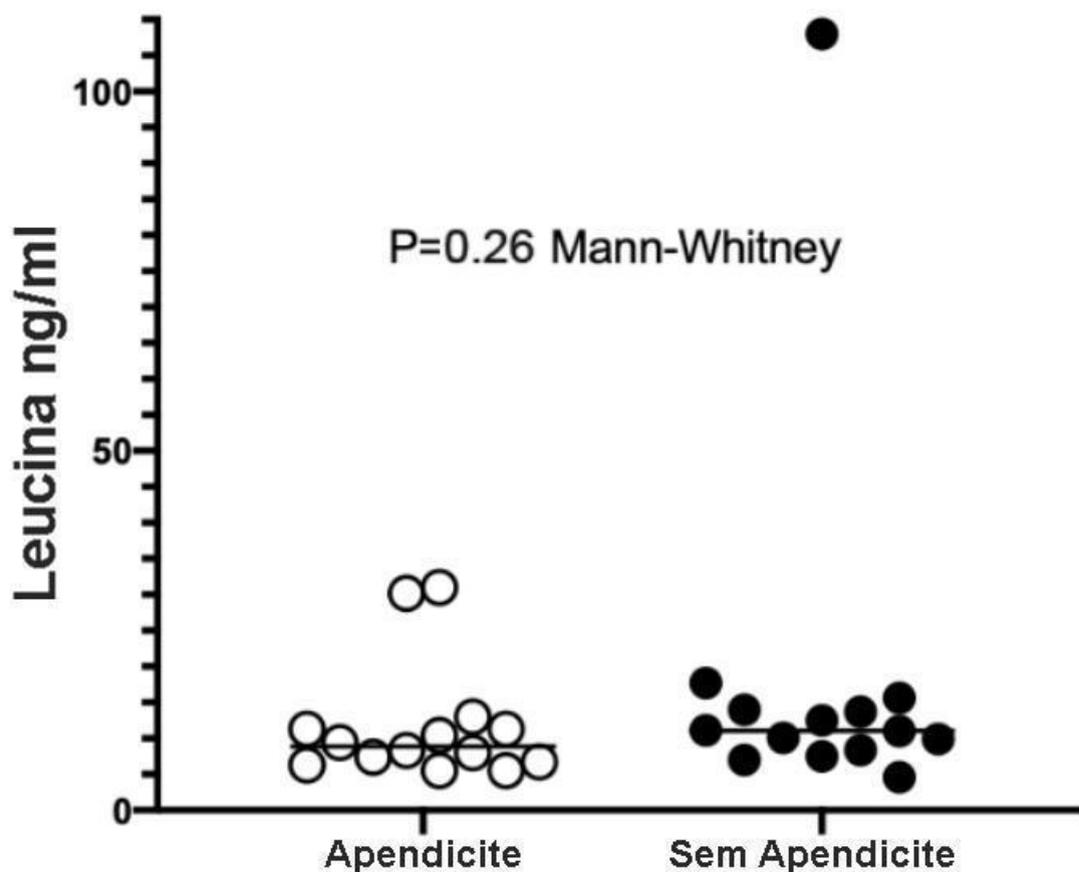


Figura 1. Níveis plasmáticos de leucina (LRG1) em pacientes com e sem apendicite.

Discussão

Não foi encontrada diferença entre os níveis plasmáticos de pacientes com e sem apendicite, utilizando o kit comercial da *MyBiosource*. Nossos resultados foram diferentes daqueles relatados por (Rainer et al. 2017). Embora nós também tenhamos encontrado que os níveis médios foram mais baixos em pacientes com Apendicite Aguda, nós não conseguimos encontrar uma diferença significativa entre as medianas (Figura 1), principalmente

devido a larga variação dos resultados apresentados nos casos sem apendicite (intervalo de 4.6 a 108 ng/ml). Tal larga variação foi também demonstrada em alguns resultados relatados na literatura (Rainer et al. 2017). Análises adicionais não são possíveis, já que não há detalhes dos diagnósticos finais dos casos não-apendicite.

Nosso estudo apresentou algumas limitações. Embora os desvios-padrão esperados fossem de 5 ng/ml no qual foi similar no grupo apendicite, o desvio-padrão no grupo não-apendicite foi de 26 ng/ml, produzindo um poder menor de erro Tipo II. Com estes valores seria necessário no mínimo 740 casos.

Existe, também, algum ponto forte no nosso estudo. Nós utilizamos casos confirmados de Apendicite Aguda utilizando o laudo da patologia com padrão-ouro e o adequado seguimento com aqueles que tiveram alta hospitalar sem cirurgia.

Também, apesar dos possíveis fatores limitantes do nosso estudo que se devem pelo fato que tivemos um pequeno número de pacientes e ter sido um trabalho desenvolvido em centro único, isto resultou em nossos achados não serem capazes de terem uma relação com ambos os laudos de anatomia patológica e exames de imagem, é importante ressaltar isto como um aspecto positivo deste estudo. Por possuir uma população homogênea, diferenciando-se de outros estudos na literatura que tinham uma grande variação nas faixas etárias ou terem uma população na sua maioria mulheres, defendendo seu ponto-chave no maior número de diagnósticos diferenciais nessa população. Portanto, uma vez que estas pessoas tenham sido previamente organizadas e nosso estudo tenha seu tamanho amostral também previamente calculado, nós nos tornamos aptos a tentar identificar e excluir alguns possíveis vieses de seleção.

Nós acreditamos que o método atual de ELISA utilizado aqui não é aplicável para diferenciar casos de pacientes com e sem apendicite. Análise por espectrometria de massa é ainda preferível([Kentsis et al. 2010](#));([Kentsis et al. 2012](#));([Shogilev et al. 2014](#)). Não há a necessidade de confirmar os

resultados por outros centros e com o Kit ELISA antes de implementar LRG1 como um biomarcador para diagnóstico de Apendicite Aguda.

Conclusão

As medianas dos níveis plasmáticos de Leucina-Enriquecida Alfa-2-Glicoproteína 1 não foram úteis para diagnosticar apendicite aguda.