



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA

JOÃO HENRIQUE CASTRO

**INFLUÊNCIA DO DISTÚRBIO MINERAL E ÓSSEO NA
OCORRÊNCIA E PROGRESSÃO DA CALCIFICAÇÃO VASCULAR EM
PACIENTES EM DIÁLISE CRÔNICA.**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção
do título de Doutor pelo programa de
Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Jacqueline Costa Teixeira Caramori

BOTUCATU
2015

JOÃO HENRIQUE CASTRO

**INFLUÊNCIA DO DISTÚRPIO MINERAL E ÓSSEO NA OCORRÊNCIA E
PROGRESSÃO DA CALCIFICAÇÃO VASCULAR EM PACIENTES EM
DIÁLISE CRÔNICA.**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção
do título de Doutor pelo programa de
Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Jacqueline Costa Teixeira Caramori

Botucatu

2015

João Henrique Castro

INFLUÊNCIA DO DISTÚRBIO MINERAL E ÓSSEO NA
OCORRÊNCIA E PROGRESSÃO DA CALCIFICAÇÃO VASCULAR EM
PACIENTES EM DIÁLISE CRÔNICA

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação de Fisiopatologia
em Clínica Médica pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, para obtenção de título de doutor.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Jacqueline Costa Teixeira Caramori

Comissão examinadora:

Prof.^aDr.^a.Jacqueline Costa Teixeira Caramori

Prof. Dr. João Egídio Romão

Prof. Dr. Luís Cuadrado Martin

Prof. Dr. Pasqual Barretti

Prof. Dr. Rodrigo Bueno de Oliveira

DEDICATÓRIA

À minha esposa Andrezza, mulher da minha vida, companheira, parceira, amiga, dedicada e bríguenta, mas, com todo o carinho e amor, abraçou este projeto como nosso, me incentivando e dando todo o suporte, abrindo mão dos momentos de descanso para me ajudar a tornar este projeto possível e por suportar além das minhas ausências, as minhas murmurações. Obrigado por tudo e por ser a minha esposa. AMO MUITO VOCÊ.

Aos meus filhos amados, Bruno, Giovanna e João Vítor, agradeço à Deus em todo instante por ELE ter confiado vocês a mim. Sempre lutarei por vocês e agradeço por vocês entenderem a minha ausência em vários momentos de suas vidas.

Aos meus amados pais, Heraldo e Gilza, cujo amor incondicional, dedicação, trabalho e exemplos me possibilitaram a buscar desafios e conquistas como esta. Obrigado por tudo, amo vocês muito.

Ao meu único irmão Rogério, apesar da distância sempre estaremos próximos.

A minha sogra Antônia que sempre me incentivou e vibrou com as minhas conquistas.

AGRADECIMENTOS

*Ao meu **DEUS**... que pela GRAÇA de me dar saúde e oportunidade de conduzir e finalizar este projeto, pois nos momentos de dificuldade estive sempre me dando o sustento necessário e me fortalecendo em fé.*

À Dra. Jacqueline Teixeira Caramori, que aceitou a árdua tarefa de me orientar e teve o entendimento da característica do orientando, pela parceria no ambulatório de DMO e pelos ensinamentos.

Aos amigos da equipe de nefrologia, esta tese na realidade é um projeto de equipe, porque foi nos momentos de dificuldade que me apoiaram tanto para coberturas de escalas, quanto para juntar recursos de projetos de pesquisas para complementaram o meu projeto. Tiveram o entendimento da importância deste para mim e para a própria equipe. Agradeço em especial ao Dr. Rogério, a Dra. Vanessa pelo apoio e ao Dr. Luis Cuadrado que além do apoio de sempre, é um exemplo no ensino e na pesquisa.

Ao amigo, Dr. Pasqual Barretti, que além da amizade, sempre me confiou e incentivou nos cargos administrativos e nos caminhos da pós-graduação. Desde a residência médica foi um grande exemplo para o meu lado administrativo.

Aos meus queridos padrinhos e amigos André Balbi e Daniela Ponce, tenham a certeza que eu não erreí em tê-los como padrinho e madrinha, vocês além de amigos são exemplos no ensino e na pesquisa e, também contribuíram muito neste projeto.

À Dra. Janaína, pela parceria e apoio neste projeto, se ausentando de sua família, no deslocando até São Paulo para a leitura das análises de histomorfometria.

*À amiga Edwa Bucuvic, companheira dos momentos de dificuldade, uma vencedora tanto profissionalmente, quanto na vida, pela GRAÇA de **DEUS**.*

A toda a equipe de enfermagem da Unidade de Hemodiálise do HCFMB que sempre me apoiou na realização das biópsias ósseas.

As secretárias da diálise, em especial Romilda e Ana Cláudia, por ajudarem na convocação dos pacientes para realização das biópsias.

Aos pacientes que voluntariamente contribuíram para esta pesquisa, sem vocês nada disso existiria, sou grato a Deus pela vida de cada um de vocês.

À Maria Regina Moretto da Unidade de Pesquisa Experimental - Unipex pela receptividade, orientação da compra de kits e realização dos exames hormonais.

Aos funcionários do laboratório de Pesquisa Experimental por todo o apoio e dedicação.

Ao apoio da Dra. Vanda Jorgetti e da Dra. Rosa Moysés por abrirem as portas do LIM 16 nos dando o suporte necessário tanto para a parte assistencial quanto para esta pesquisa.

À equipe de nutrição da Unidade de hemodiálise do HCFMB pelo apoio de todas as avaliações e pelo profissionalismo.

Ao Dr. Altamir pelo profissionalismo e pelo suporte dado à análise de todos os exames radiológicos desta pesquisa, além da amizade.

À Prof^a. Lídia Raquel, pela amizade, profissionalismo e prontidão, me possibilitando a busca de entender e vencer os obstáculos estatísticos.

À equipe administrativa do Departamento Econômico, Financeiro e Contábil, pelo entendimento, apoio e cobertura nos meus momentos de ausência, em dedicação a este projeto, em especial à Carol e ao Sívio.

À Superintendência do HCFMB, na pessoa do Dr. Emílio Carlos Curcelli, pela confiança e pelo apoio neste trabalho.

Ao Pastor Reginei pela amizade e pela cobertura espiritual necessária para o fortalecimento de minha fé e perseverança nesta caminhada...

“TUDO tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu; há tempo de nascer, e tempo de morrer; tempo de plantar, e tempo de arrancar o que se plantou; tempo de matar, e tempo de curar; tempo de derrubar, e tempo de edificar; tempo de chorar, e tempo de rir; tempo de prantear, e tempo de dançar; tempo de espalhar pedras, e tempo de ajuntar pedras; tempo de abraçar, e tempo de afastar-se de abraçar; tempo de buscar, e tempo de perder; tempo de guardar, e tempo de lançar fora; tempo de rasgar, e tempo de coser; tempo de estar calado, e tempo de falar; tempo de amar, e tempo de odiar; tempo de guerra, e tempo de paz.”

Eclesiastes 3 (1-8)

RESUMO

Castro, JH. Influência do distúrbio mineral e ósseo na ocorrência e progressão da calcificação vascular em pacientes em diálise crônica. 2015. Tese (Doutorado) – Botucatu: FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”, BOTUCATU, 2015.

A doença cardiovascular é a principal causa de mortalidade nos pacientes com doença renal crônica (DRC) em programa de hemodiálise e a calcificação vascular (CV) é comum nesta população. O principal objetivo deste estudo foi avaliar a associação de marcadores do metabolismo mineral e ósseo com a presença e progressão da CV em uma coorte de pacientes em diálise; secundariamente, objetivou identificar as associações clínicas, laboratoriais e da composição corporal sobre a presença e progressão da CV. Foram incluídos maiores de 18 anos em diálise crônica há mais de 90 dias. Os pacientes foram submetidos à biópsia óssea no início do seguimento e analisados dados de histomorfometria. Para investigar CV foi utilizada a somatória dos índices radiológicos de Kauppila e Adragão em dois momentos, no início, coincidindo com a realização da biópsia óssea e após 12 meses. Além da investigação para CV foram realizadas avaliações clínicas, hormonais, inflamatórias, bioquímicas e nutricionais. Resultados: 60 pacientes completaram o estudo, 41,7 % do sexo feminino, 43,4% diabéticos, média de idade de 56 anos, variação de 25 a 89 anos. No seguimento, 75% dos pacientes apresentavam CV e a progressão ocorreu em 56,86%. Na análise multivariada, a idade > 60 anos (Odds ratio=50.2, 95%CI= 4.1-618,4, p=0.002), FGF23 > 3000 Ru/ml (Odds ratio=5.7, 95%IC= 1,00-329, p=0.05), e fetuína A >673 µl (Odds ratio=7.34, 95%CI= 1,26-43,7, p=0.03) estiveram associados com a CV. Para progressão da CV, a associação foi mostrada para idade > 60 anos (Odds ratio=4.3, 95%CI= 1.003-18.5, p=0.049), fetuína A >673 µl (Odds ratio=6.4, 95%CI= 1.47-27.9, p=0.01), e o não uso de estatinas (Odds ratio=5.6, 95%CI= 1.13-28.1, p=0.03). Não foi possível mostrar associações com os marcadores da remodelação óssea ou com os parâmetros achados de histomorfometria tanto no diagnóstico como na progressão da CV. Conclusão: O presente estudo reforça o papel do envelhecimento e do FGF 23 no processo de CV e a proteção associada ao uso de estatinas sobre a sua progressão. Altos níveis de Fetuína A apresentaram associação paradoxalmente negativa tanto com a presença e progressão da CV, o que pode estar relacionada a alterações metabólicas potencialmente presentes em pacientes com DRC.

Descritores: calcificação vascular; diálise crônica; distúrbio do metabolismo mineral e ósseo; doença renal crônica.

ABSTRACT

Castro, JH. Influence of mineral and bone disorder in the occurrence and progression of vascular calcification in chronic dialysis patients. Thesis (PhD) – Botucatu: Faculdade de Medicina da Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2015.

Cardiovascular disease is the main cause of death in patients with chronic kidney disease (CKD) in hemodialysis and vascular calcification (VC) is common in this population. The main objective of this study was to evaluate the association of markers of mineral and disorder on the presence and progression of VC in a cohort of dialysis patients. Secondly, it was intended to identify associations between clinical, laboratory and body composition markers with the presence and progression of VC. There were included patients aged over 18 years on chronic dialysis for more than 90 days. The patients were submitted to bone biopsy at the beginning of the follow-up and histomorphometric data analyzed. To investigate VC a sum of radiological scores of Kauppila and Adragão were obtained in two occasions: at the beginning of the follow-up and after 12 months. In addition, clinical, hormonal, inflammatory, biochemical and nutritional evaluation were performed. Results: Sixty patients completed the study; 41.7% were female, 43.4% diabetics, and the average age was 56.7 years (range 25 to 89 years). At the beginning of the follow-up, 75% of the patients showed VC and its progression was observed in 56.8%. At multivariate analysis, age > 60 years (Odds ratio = 50.2, 95% CI=4.1-618.4, p=0.002), FGF23>3000 Ru/mL (Odds ratio = 5.7, 95% CI=1.00-329, p=0.05), and fetuin A>673 g/l (Odds ratio = 7.34, 95% CI=1.26-43.7, p=0.03) were associated with VC. As for the VC progression, the association was shown to age>60 years old (Odds ratio = 4.3, 95% CI=1.003-18.5, p=0.049), fetuin A> 673 g/l (Odds ratio = 6.4, 95% CI = 1.47-27.9, p=0.01), and the non-use of statins (Odds ratio = 5.6, 95% CI=1.13-28.1, p=0.03). It was not possible to show the association with bone turnover markers and the histomorphometric findings both in diagnosis and progression of VC.

In conclusion, the present study reinforces the role of aging, the FGF23 level and the statin protection in the process of progression of VC, whereas high levels of fetuin A presented a paradoxically negative association both in the presence and progression of VC; metabolic changes may be involved in the genesis of these finding.

Keywords: Vascular calcification; chronic dialysis; disorder of bone and mineral metabolism; chronic kidney disease.

LISTA DE ABREVIATURAS

BFR/BS ($\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2/\text{dia}$): Taxa de formação óssea
BPN: Peptídeo Natriurético Tipo B
BV/TV (%) - Volume Trabecular
CV: Calcificação Vascular
DCV: Doença Cardiovascular
DMO: Distúrbios do Metabolismo Ósseo
DMO-DRC: Distúrbios do Metabolismo Ósseo Associado à Doença Renal Crônica
DRC: Doença Renal Crônica
ES/BS (%): Superfície de Reabsorção
FGF23: Fator de Crescimento de Fibroblastos 23
HVE: Hipertrofia Ventricular Esquerda
IL-6: Interleucina 6
IMC: Índice de Massa Corpórea
K/DOQI: *Kidney Dialysis Outcomes Quality Initiative*
KDIGO: *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*
LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade
MAR ($\mu\text{m}/\text{dia}$): Taxa de Aposição Mineral
MGP: Proteína de Matrix gla
MLT (dia): Intervalo de Mineralização
MS/BS (%): Superfície de Mineralização
O.Th (μm): Espessura Osteóide
Ob.S/BS (%): Superfície Osteoblástica
Oc.S/BS (%): Superfície Osteoclástica
OPG: Osteoprotegerina
OS/BS (%): Superfície Osteóide
OV/BV (%): Volume Osteóide
PCR: Proteína C Reativa
PTH: Paratormônio
PTHi: Paratormônio Intacto
Tb.N (mm): Número Trabecular
Tb.Sp (μm): Separação Trabecular
Tb.Th (μm): Espessura Trabecular
VDR: Receptores de Vitamina D
VLDL: Lipoproteína de muito baixa densidade

Resumo

Abstract

1. Introdução.....	13
1.1. Distúrbios Mineral e Ósseo na Doença Renal Crônica (DMO-DRC)	
1.2. Hipertrofia Ventricular Esquerda (HVE)	
1.3. Inflamação	
1.4. Calcificação Vascular (CV)	
2. Objetivos.....	28
3. Metodologia.....	30
3.1 Delineamento	
3.2 Pacientes	
3.3 Avaliações de Calcificações Vasculares	
3.3.1 Progressão da Calcificação Vascular	
3.3.2 Avaliações Bioquímicas e Hormonais	
3.3.3 Biópsia Óssea e Histomorfometria	
3.3.4 Avaliação de Composição Corporal	
4. Análise Estatística.....	38
5. Resultados.....	40
5.1 Dados Demográficos e Clínicos.	
5.2 Avaliação Laboratorial	
5.3 Avaliação de Doença Óssea	
5.4 Calcificação Vascular	
5.5 Doença Óssea e Progressão da Calcificação Vascular	
6. Discussão.....	53
7. Conclusão.....	62
8. Referências.....	64
Anexos	

1. INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) consiste mundialmente em problema crescente de saúde pública. Nos Estados Unidos (EUA), a incidência de tratamento para falência renal aumentou 57% de 1991 a 2000, e, no estudo conduzido pela *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) entre 1999 a 2004 a análise revelou que 13% da população adulta dos EUA apresentava DRC estágio 1 a 4 ¹.

No Brasil, na década de 90, os pacientes em programa de diálise apresentaram um crescimento de 24 para 59 mil e, a incidência de novos pacientes tem mostrado um crescimento de 8% ao ano ². De acordo com o Censo da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN) ³, em 2013 o número de pacientes em programa de terapia dialítica atingiu 100.397 e, a hemodiálise destaca-se por ser a modalidade de terapia dialítica mais amplamente utilizada correspondendo a 90,6%, sendo a mortalidade de 17,9% ao ano.

Fatores de riscos tradicionais presentes nos pacientes com DRC são idade avançada, hipertensão arterial, Diabetes Mellitus, dislipidemia, antecedentes familiares e sedentarismo, entretanto não são suficientes para explicar a alta taxa de letalidade dos pacientes em diálise ^{4, 5}. Outros fatores de riscos estão presentes e conhecidos como não tradicionais, destacam-se a hipertrofia ventricular esquerda (HVE), inflamação, o distúrbio mineral e ósseo, incluindo um conjunto de alterações do paratormônio (PTH), cálcio, fósforo, fator de crescimento fibroblasto 23 (FGF 23), e vitamina D, dentre outros marcadores relacionados com anormalidades ósseas presentes principalmente nos estádios avançados da DRC e frequentemente associadas às calcificações extras esqueléticas e, condições que contribuem para o prognóstico desfavorável dessa população ⁶.

1.1 Distúrbios Mineral e Ósseo na Doença Renal Crônica (DMO-DRC)

Em 2009, o comitê internacional KDIGO⁶ (*Kidney Disease: Improving Global Outcomes*) com a missão de trazer iniciativas para implementar diretrizes para a prática clínica da DRC estabeleceu duas definições: Distúrbios do Mineral e Ósseo na DRC e, Osteodistrofia Renal. A primeira interpretada como enfermidade sistêmica com complicações resultantes de anormalidades do metabolismo do cálcio, fósforo, PTH ou vitamina D; anormalidades no osso, calcificação vascular (CV) ou de outros tecidos. O segundo termo está relacionado às alterações da morfologia óssea, caracterizada especificamente pelos distúrbios do remodelamento, da mineralização e do volume ósseo pela biópsia óssea, padrão ouro para o diagnóstico, classificações que consideram remodelamento, mineralização e volume ósseo.

Entende-se por remodelamento a taxa de formação óssea e, medidas como a superfície de reabsorção, a quantidade de osteoclastos, fibrose e volume podem ajudar a definir esse conceito. A mineralização reflete a quantidade de osteóide não mineralizado, é medida pelo tempo de mineralização do osteóide ou pelo retardo no tempo de mineralização, vista pela distância entre a marcação da tetraciclina. Enquanto volume ósseo é o resultado final das taxas de formação e reabsorção óssea, caso a taxa de formação for maior que a taxa de reabsorção, o osso terá um balanço positivo e aumentará o volume⁶. As doenças de alto remodelamento incluem Osteíte Fibrosa e Doença Mista. E, as doenças de baixo remodelamento incluem Doença Adinâmica e Osteomalácia⁷.

Osteíte Fibrosa é a doença óssea de alto remodelamento e predominantemente encontrada no hiperparatireoidismo secundário, caracterizada pelo aumento da quantidade de osteoclastos e osteoblastos, com o volume osteóide dentro ou acima da taxa normal e, presença de fibrose na medula óssea^{7, 8}.

Doença Óssea Adinâmica é definida como baixa taxa de formação óssea e o volume osteóide abaixo do normal. O osso apresenta-se com poucos osteoblastos e poucos osteoclastos, ou seja, é uma doença de baixo remodelamento ósseo^{7, 8}.

Osteomalácia é definida pela taxa de formação óssea abaixo do normal associado ao volume osteóide acima do normal e, se caracteriza por um grave defeito de mineralização^{7, 8}.

Doença Mista é definida como volume osteóide e superfície osteoblástica acima do normal, associada à mineralização óssea comprometida e apresenta

características de osteíte fibrosa ^{7,8}.

A associação de DRC com doença cardiovascular (DCV) e DMO tem sido relatada por vários autores. Barreto et al⁷, encontraram associação positiva entre calcificação coronariana e alterações no metabolismo mineral e ósseo principalmente com volume trabecular ósseo reduzido em pacientes em hemodiálise. Outros estudos como Guérin et al⁹, em 2000, avaliaram pacientes em hemodiálise e mostraram associação de calcificação vascular com tempo de diálise e uso de quelantes de fósforo à base de cálcio e, Raggi et al¹⁰, em 2002, também avaliaram pacientes em hemodiálise e, encontraram associação significativa das concentrações de cálcio e fósforo com calcificação coronariana.

London et al ¹¹, analisando pacientes com DRC em hemodiálise, não diabéticos, encontrou uma relação inversa entre calcificação arterial e valores de histomorfometria sugestivos de doença de baixa atividade óssea ou doença adinâmica.

A hiperfosfatemia é condição frequente na DRC em estágio 5 e em terapia renal substitutiva. A homeostase do fósforo é controlada por múltiplos fatores, PTH, calcitriol e doença óssea. Bricker e Slatopolsky, em 1972 com a teoria de “trade off”, mostraram que a perda da função renal levaria a retenção do fósforo e, foi por muitos anos a explicação encontrada para a relação entre hipocalcemia, hiperparatireoidismo e hiperfosfatemia na DRC¹²; a menor expressão da enzima 1 α hidroxilase responsável pela conversão em 1,25 (OH) vitamina D nos túbulos renais tido como evento principal, pela redução de massa ou funcionamento renal. Porém, a elevação do PTH antecede a hiperfosfatemia e, portanto, não se justifica que esse fenômeno fosse desencadeado somente devido à elevação do fósforo.

Estudos experimentais sugerem claramente que a hiperfosfatemia induz a transformação fenotípica da musculatura lisa dos vasos, levando a CV na parede média e íntima dos vasos^{13,14}. Nos últimos anos, estudos clínicos têm mostrado que a elevação do fósforo está fortemente associada ao desenvolvimento do DMO-DRC, hiperplasia de paratireoide, resistência ao PTH, CV e mortalidade cardiovascular em pacientes diálise crônica ^{15,16,17}. A resistência óssea à ação do PTH é identificada nos estádios iniciais da DRC com necessidade de níveis mais altos de PTH para manter a calcemia e a remodelação óssea normal. A retenção de fósforo, hipovitaminose D, menor expressão de receptores de PTH, uremia e acidose

metabólica¹⁷ estão envolvidas nesse processo, como elementos potencialmente deletérios ao organismo, associado ao aumento das taxas de mortalidade. Block et al em 1998, mostraram que pacientes em diálise crônica, com fósforo maior que 6,5mg/dl apresentavam 27% maior risco de morte¹⁸.

Palmer et al.¹⁹, em 2015, em estudo de meta-análise que avaliou associação dos efeitos de drogas com ação sobre PTH, fósforo e níveis de cálcio com mortalidade na DRC, analisaram quelantes de fósforo, compostos de vitamina D, agentes calcimiméticos, bifosfonados, calcitonina e, avaliadas algumas associações entre os efeitos das drogas com os desfechos (PTH, fósforo e cálcio). Embora muitos estudos mostrem o efeito sobre o PTH, fósforo e cálcio, o resultado das drogas sobre a mortalidade foi pequeno, sem significância estatística.

No entendimento do DMO o PTH é parâmetro clássico e o reconhecimento do seu papel está fortemente presente nos estudos, é um peptídeo composto por 84 aminoácidos clivados na glândula paratireoide, é armazenado como fragmentos além da molécula inteira para liberação. Uma vez liberado, ele tem uma meia vida de 2 a 4 minutos e a ação biológica do PTH no receptor PTH1R depende da presença da fração amino terminal 1-34. O aumento da síntese/secreção do PTH ocorre em resposta a hipocalcemia, hiperfosfatemia e, ou a diminuição sérica da 1,25-dihidroxitamina D, enquanto o aumento sérico do cálcio ou calcitriol suprime a síntese de PTH. É um hormônio fundamental para o controle da homeostase do cálcio que é alcançada pela estimulação da liberação do cálcio do osso e reabsorção no túbulo distal. No túbulo proximal, o PTH também estimula a síntese do calcitriol no qual aumenta absorção de cálcio intestinal^{6,20,21}.

Mais recentemente, surgiu a terceira geração de PTH "*Whole PTH*" que tornou viável a detecção apenas do hormônio biologicamente ativo com possibilidade de melhoria no controle do hiperparatireoidismo. Entretanto, não existem avaliações que mostram vantagens efetivas no controle da doença óssea quando comparados com o PTH intacto que é o frequentemente utilizado na prática clínica⁶.

O *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (K/DOQI) em 2003²², recomendou que o PTH sérico dos pacientes com DRC deveria ser mantido dentro da faixa de 150 a 300 pg/mL no estágio 5. Barreto et al²³, avaliando pacientes em hemodiálise com biópsias ósseas e PTH intacto detectaram uma alta prevalência de doença adinâmica na faixa de PTH recomendada pelo K/DOQI.

Em 2009, o KIDGO ⁶recomendou a manutenção dos níveis de PTH entre 2 a 9 vezes o limite superior do método, considerando a tendência dos valores e, recentemente em 2015 publicou a revisão dos dados sugeridos em 2009. Porém, os níveis de PTH para pacientes em diálise a recomendação foi mantida²⁴.

Souberbielle et al ²¹, afirmam que o PTH sérico nos pacientes em hemodiálise está longe de ser um marcador de remodelamento ósseo. A associação de medidas de PTH com outros marcadores tais como fosfatase alcalina poderia melhorar o diagnóstico.

Por sua vez a vitamina D é bem conhecida pelos efeitos na promoção da mineralização óssea como característica primária no raquitismo e, a osteomalácia está associada a diminuição da mineralização da matrix óssea²⁵. A formação da vitamina D se faz por duas vias, a principal é a exposição da pele aos raios solares ultravioleta que pode ocorrer influência de fatores como o clima, a estação do ano, os hábitos sociais, o uso de protetores solares e a outra via é a alimentação, principalmente peixes gordurosos como atum, salmão, e alimentos vegetais, em especial fungos. O ergocalciferol e o colecalciferol são transportados no sangue até o fígado, onde sofrem uma hidroxilação dando origem a 25-hidroxivitamina D ou calcidiol (25(OH)D₃ e 25(OH)D₂) ²⁶.

O rim é o principal local que ocorre a conversão de 25-hidroxivitamina D em calcitriol, que é a forma ativa da vitamina D, através da ação da 1 α -hidroxilase presente no túbulo proximal. Na DRC, além da diminuição da massa renal, a retenção do fósforo inibe a ação dessa enzima com consequente redução da capacidade de conversão do calcitriol¹⁷.

Nas células endoteliais do intestino, a vitamina D estimula a absorção ativa de cálcio e fósforo e, nos rins atua nos túbulos distais promovendo a reabsorção do cálcio filtrado. A ação clássica da vitamina D é esta regulação de cálcio, fósforo e PTH, entretanto, devido à distribuição em vários órgãos de receptores de vitamina D (VDR), ela está envolvida na homeostase sistêmica²⁷.

Na DRC, a hiperestimulação crônica do PTH é seguida de proliferação das células das paratireoides levando a hiperplasia difusa, fator importante para iniciar o distúrbio mineral e ósseo. A vitamina D não está envolvida somente na saúde do osso, mas, é fator associado a doenças crônicas e cardiovasculares ^{17,21}.

A patogênese dos DMO-DRC, antes relacionada apenas PTH e vitamina D,

tem sido redesenhada com a introdução de novas moléculas, como os peptídeos da família dos fatores de crescimento derivados de fibroblastos e seus receptores, expressos em vários tecidos e com diversas funções biológicas, porém ainda pouco entendidos ²⁸. Em humanos, foram descritos até o momento 22 FGFs e quatro diferentes receptores específicos, além de dois cofatores (Klotho e β Klotho) ^{28,29,30}.

O FGF 23 foi descoberto em meados do ano 2000, com função de fosfatúria e, inibição da 1α -hidroxilase, enzima responsável pela síntese de calcitriol, possibilitou um melhor entendimento do DMO-DRC, inclusive esclarecendo pontos críticos da teoria de “trade off” ^{28,29,31}. Recentes estudos experimentais e clínicos confirmam o papel do FGF 23 na fisiopatologia do DMO e CV. O FGF 23 é produzido pelos osteócitos e osteoblastos e, age nos rins nas células tubulares proximais aumentando a excreção renal de fósforo e diminuindo da 1,25-dihydroxivitamina D [1,25(OH)D] particularmente em resposta ao aumento dos níveis séricos de calcitriol por diminuição da expressão da 1α -hidroxilase. A elevação do FGF 23 é observada após ingestão alimentar por consequente aumento da absorção intestinal de fósforo, após administração de PTH em trabalhos experimentais com DRC ³².

A elevação do FGF 23 associado à consequente redução da absorção intestinal de fósforo, mediada pela redução do calcitriol, contribui para a manutenção da fosfatemia adequada nas fases iniciais da doença renal. Na DRC, estão presentes, concomitantemente, elevação de fósforo, PTH e FGF23, que possui produção aumentada e degradação reduzida, favorecendo seu acúmulo a níveis muitas vezes superiores à população geral.

A ação mais potente do FGF23 é obtida apenas com a ligação ao receptor FGFR1c, associada ao cofator *Klotho*. A proteína Klotho é expressa especificamente no túbulo distal do rim normal, mas também descrito no plexo coroide cerebral, na pituitária, timo, linfonodos, vasos na medula óssea, músculo esquelético, esqueleto, bexiga urinária, aorta, pâncreas, colo, testículos, ovários e paratireoides de humanos com função renal preservada ^{28,33}. Os principais alvos do FGF23 são definidos pela expressão do complexo FGFR1c-Klotho, entretanto, ações importantes do FGF23 sobre cardiomiócitos ocorrem mesmo na ausência de Klotho, por via intracelular ainda não esclarecida.

A descoberta do Klotho vem inspirando estudos sobre a relação entre algumas doenças e a senilidade, e ainda sobre qual o papel dos hábitos que levam à

longevidade. A DRC, em meio a tudo isso, surge como condição ímpar em que a falência orgânica e os distúrbios associados poderiam ser interpretados como consequência da insuficiência/deficiência de Klotho, que culminaria com repercussões fatais.

Scialla et al³⁴, avaliaram uma coorte de pacientes com DRC estádios de 2 a 4, com média de idade de 58±11 anos, com valores de FGF23 de 145,4 RU/ml [96,0-238,8 RU/ml], encontraram uma forte associação entre a elevação do FGF23 com o risco de insuficiência cardíaca congestiva mais do que com eventos arterioscleróticos, talvez um efeito direto do FGF23 no miocárdio. Gutiérrez e colaboradores³⁵ mostraram que o FGF23 elevado é marcador de mortalidade, principalmente cardiovascular no paciente com DRC.

No tocante à osteodistrofia renal, pouco se conhece de outras interações metabólicas, dentre elas a regulação óssea que possa estar sendo mediada pela leptina, um hormônio produzido principalmente pelo tecido adiposo, mas também em outros tecidos como estômago, placenta, mastócitos e osteoblastos. O principal papel da leptina é estimular a saciedade, agindo em receptores hipotalâmicos e, inibindo a ingestão alimentar quando os estoques energéticos estão repletos. Ao contrário, quando o tecido adiposo diminui, há queda de leptinemia, que estimula o apetite. Existe um equilíbrio entre a massa gorda e leptina, pela capacidade de atravessar a barreira hemato-encefálica atua nos núcleos hipotalâmicos e regula a ingestão alimentar. A ingestão alimentar-energética é controlada pela leptina através da interação com vários neuropeptídeos no hipotálamo. Recentemente, foi identificado neuropeptídeo hipotalâmico envolvendo também a regulação do apetite e atividade locomotora. Da mesma forma do metabolismo energético, a leptina mostra efeitos pleiotróficos na hematopoiese, pressão sanguínea, função dos linfócitos T, osteogênese e remodelação óssea³⁶.

Pacientes obesos tem um maior risco de doença coronariana, mas um menor risco de osteoporose. Inversamente, uma moderada perda de peso devido à dieta, em mulheres obesas leva a uma perda óssea. Em humanos, o estado de privação energética com baixos níveis de sérico de leptina tem sido associado com baixa massa óssea³⁶. A leptina representa uma das mais importantes conexões funcionais entre a gordura e o osso. Existe uma correlação entre PTH e leptina, em análise de regressão logística, foi mostrado que a leptina sérica foi o maior fator preditivo para

PTH e cálcio³⁷. Estudos mostram que pacientes obesos com hiperparatireoidismo tem maior nível de PTH e, remodelação maior do que em pacientes não obesos, indicando que a leptina poderia estimular o PTH³⁸.

A remodelação óssea é regulada por múltiplos hormônios. Em mamíferos, a obesidade protege da osteoporose, isto, leva a propor que a remodelação óssea e o metabolismo energético poderiam ser regulados pelo mesmo hormônio. Verificando esta hipótese, foi mostrado que a leptina é um grande regulador da remodelação óssea pela ativação de osteoblastos através de dois diferentes caminhos neurais³⁶.

A leptina regula a formação óssea pela ligação de receptores localizados no hipotálamo ativando o simpático, interage com vários neuropeptídeos hipotalâmicos, particularmente a neuromedin U, que é um anorexígeno e, inibe a secreção de insulina em parte pela ação direta nas células beta. Os osteoblastos secretam osteocalcina molécula que estimula a proliferação de células beta e a expressão de insulina, aumentam a expressão nos adipócitos de adiponectina, que melhora a sensibilidade à insulina. A ausência de leptina afeta a circulação dos níveis de insulina primariamente pela regulação, expressão e secreção de insulina em ratos jovens, devido ao aumento significativo da proliferação de células beta³⁹. A leptina, o tônus simpático, a osteocalcina e a cascata da insulina, estabelecem a conexão metabólica adipócitos e osteoblastos. Enquanto a leptina é o mensageiro do adipócito para a conexão entre tecido adiposo e osso, a osteocalcina é a molécula que comunica sinais do osso para o tecido adiposo³⁷.

A leptinemia dos pacientes com DRC é maior que na população normal, atingindo valores até três vezes superiores e, é considerada toxina urêmica por estar envolvida em condições clínicas desfavoráveis nessa população, como perda de peso, imunodeficiência, câimbras musculares e resistência à eritropoietina. Em renais crônicos, tem sido relatada uma relação inversa entre os parâmetros de histomorfometria óssea e o nível da leptina sérica e, entre leptina e PTH e, a densidade mineral e óssea tende a ser diminuída e, as fraturas mais prevalentes⁴⁰.

1.2 Hipertrofia Ventricular Esquerda (HVE)

O ventrículo cardíaco produz o peptídeo natriurético tipo B (BNP), hormônio que causa vasodilatação, natriurese e, inibição do sistema renina-angiotensina. Antes da secreção, o BNP é dividido em um C terminal inativo, pro BNP-32 e, no N

terminal inativo, pró BNP. Existem diferenças importantes entre os dois, quanto à meia vida, o pró BNP tem uma meia vida bem maior, de 120 minutos e o clearance entre os dois diferem. A função renal tem uma importante influência entre o nível de ambos e, pacientes com insuficiência cardíaca com taxa de filtração glomerular menor que 60 mL/min tem maior BNP-32⁴¹.

Existe uma correlação positiva entre o BNP-32 e o índice de massa ventricular esquerda e uma correlação negativa com fração de ejeção em pacientes em diálise. Terapias que diminuem a massa ventricular esquerda como a redução do volume em pacientes em terapia dialítica, inibidor da enzima conversora de angiotensina (IECA) ou beta bloqueadores são potencialmente mais importantes em pacientes com níveis de BNP elevados^{41,42}.

Fatores de riscos tradicionais e não tradicionais estão envolvidos na patogênese da hipertrofia ventricular esquerda na DRC. Pressão arterial sistólica e anemia parecem ser importantes determinantes de remodelação ventricular esquerda em pacientes renais crônicos⁴³. Stack et al⁴⁴, avaliaram uma coorte de pacientes com DRC, do *Dialysis Morbidity and Mortality Study Wave 2* (DMMS), avaliados com ecocardiograma, assim correlacionaram com dados clínicos e o impacto de HVE na mortalidade em pacientes novos com DRC em diálise. No estudo, fatores de risco coronarianos conhecidos e marcadores de uremia como, hipertensão, Diabetes Mellitus, tabagismo, hipercalcemia e pacientes com PTH menor que 157 ng/dL foram correlacionados como fatores de riscos independentes, na presença de HVE.

A presença de anemia na DRC foi associada à deterioração da função cardíaca e ao aumento da morbimortalidade devido à doença cardíaca e acidentes vasculares cerebrais⁴⁵. Levin⁴⁶ correlacionou a anemia com a presença de alterações cardiovasculares tais como: insuficiência cardíaca congestiva, sintomas de angina, desenvolvimento de HVE e falência cardíaca crônica. E, associou a diminuição de 0,1 g/dL de hemoglobina com o aumento da HVE.

Moysés et al⁴⁷ em 2013 descreveram que além de hipertensão e hipervolemia relacionados a HVE, o fósforo, o cálcio, o PTH, o FGF 23 e vitamina D, estão envolvidos na fisiopatologia da hipertrofia ventricular. Neves et al⁴⁸, na última década mostraram que o fósforo poderia desenvolver hipertrofia miocárdica em ratos com DRC independentemente do nível do PTH ou a presença de CV. A partir destes

estudos, vários estudos clínicos e experimentais têm mostrado a associação de fósforo e FGF23 com hipertrofia ventricular. Maizel et al⁴⁹, usando um modelo experimental de animais sem hipertensão arterial ou CV, testaram o uso de quelante de fósforo, sevelamer, na disfunção endotelial e diastólica assim como na HVE. Iniciaram o uso de sevelamer após seis semanas do início da DRC, foram avaliados com ecocardiograma em três momentos, após seis semanas do início da DRC, 8 semanas do uso do quelante e, 14 semanas do início do uso do sevelamer. Os autores encontraram uma inibição do desenvolvimento da HVE no modelo pelo uso do sevelamer e, concluíram que a redução do fósforo mais que a redução do FGF 23 estava envolvida neste resultado. Eles descreveram também um efeito positivo do sevelamer na expressão de proteínas relacionadas para hipertrofia miocárdica, tais com a ciclina D2 e PCNA^{47,49}.

A hipertrofia ventricular é um fator de risco para doença cardiovascular e, influencia na morbidade e mortalidade principalmente em pacientes com DRC dialítico e, como relatado, são vários os fatores que interferem para o desenvolvimento desta hipertrofia e, os estudos recentes mostram o envolvimento do DMO na fisiopatogenia da HVE.

1.3 Inflamação

A inflamação é parte importante na patogênese da aterosclerose⁴³. Pacientes com DRC se caracterizam por estado inflamatório que parece estar associado com estresse oxidativo, disfunção endotelial e CV. Os biomarcadores cardiovasculares inflamatórios que estão envolvidos são, a proteína C reativa (PCR), Interleucina 6 (IL-6) e contagem de glóbulos brancos.

A PCR é biomarcador cardiovascular inflamatório mais bem estudado, um marcador de fase aguda, produzida predominantemente pelos hepatócitos sob o controle da IL-6. É pró aterogênico, ativa o sistema de complemento para ligar na lipoproteína de baixa densidade (LDL) e de muito baixa densidade (VLDL), estimula o fator tecidual e a adesão das moléculas na parede endotelial. Fontes celulares da IL-6 incluem monócitos, fibroblastos, células endoteliais e adipócitos. A produção pelos adipócitos explica a associação de obesidade abdominal e nível elevado de PCR. A IL-6 aumenta com a diminuição do *clearance* de creatinina^{41,50}.

No estudo *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD), o PCR foi preditor

independente de todas as causas de doença cardiovascular (DCV) e mortalidade. No estudo *Nurses Health Study*, maiores níveis de PCR, IL-6 e, fator de necrose tumoral (TNF) foram associados com aumento de eventos coronarianos em mulheres com *clearance* de creatinina menor que 74 mL/min⁴³. Outras citocinas pró e anti-inflamatórias, incluindo a IL-10, e o TNF- α podem ter um papel no desenvolvimento da DCV na DRC^{41,43,50}.

1.4 Calcificação Vascular

Calcificação vascular (CV) é um fenômeno claramente descrito, não sendo exclusivo da DRC, com maior prevalência em pacientes com Diabetes Mellitus e idosos. Nos pacientes com DRC a CV é altamente prevalente e severa, com taxas que variam de 47 a 93%⁵¹.

London et al¹¹, investigaram o valor prognóstico da CV em relação a todas as causas de mortalidade cardiovascular em 202 pacientes em hemodiálise. Os autores relataram que a calcificação da camada íntima se associou a lesões ateroscleróticas, usualmente observadas em pacientes idosos, com fatores de riscos tradicionais para aterosclerose e história clínica prévia ao início da hemodiálise. Enquanto a calcificação da camada média foi fortemente associada com pacientes jovens e de meia idade sem fatores de riscos para doença aterosclerótica e, relacionados intimamente com duração de hemodiálise, principalmente hiperfosfatemia e hipercalcemia, dose oral de quelantes de fósforo à base de cálcio, hipoalbuminemia, elevação de PCR e diabetes mellitus.

Existem quatro tipos de CV que tem sido descritas na uremia: 1 – A clássica que são as placas ateroscleróticas calcificadas; 2 – Calcificação arterial da camada média ou doença de Monckeberg; 3 – Calcificação de válvulas cardíacas; 4 – calcifilaxia⁵¹.

A CV resulta do acúmulo de substâncias similares aos minerais ósseos depositados na camada íntima ou média dos vasos arteriais. As calcificações da média são principalmente de hidroxiapatita com alto grau de cristalização⁵². O exato mecanismo molecular de CV ainda não está claro, parece que o insulto inicial depende de múltiplas desordens metabólicas e do desequilíbrio entre os fatores que promovem e aceleram a calcificação vascular e, os inibidores dos processos de

calcificações. Nesse contexto, o envelhecimento, o distúrbio de vitamina D, hiperfosfatemia, hipercalcemia, relacionados às alterações minerais, inflamação e, a redução de fatores protetores de calcificação conforme mostrado na tabela 1^{51,53} associa-se ao processo de CV nos pacientes com DRC em programa de diálise.

Tabela 1 – Indutores e inibidores conhecidos de CV

Indutores	Inibidores
BMP- 2/4 (Proteína Morfogenética)	Adiponectina
Cálcio	ANK (Proteína transmembrana)
Hiperparatireoidismo	BMP-7
Citocinas inflamatórias	Fetúina A
LDL (Lipoproteína de baixo peso)	HDL
Leptina	IGF-1 (Fator de crescimento de insulina)
MSX2	Insulina
Oncostatina	Klotho
Osteocalcina	Magnésio
Fósforo	Proteína Matriz Gla
Pit-1	NPP-1
RUNX 2	(Pirofosfatase/Pirofosfatodiesterase)
TGF-β1	Ácido graxo Omega 3
TNAP	Osteopontina
Toxinas urêmicas	Osteoprotegerina
Vitamina D	PTH
	PTH rp
	Pirofosfato

Em pacientes com DRC avançada, a extensão da calcificação arterial foi associada com baixa atividade óssea e doença óssea adinâmica^{11,54}. Distúrbios do metabolismo do cálcio e fósforo estão associados com doença óssea urêmica e, os resultados de vários estudos indicam que a sobrecarga de cálcio está associada com a presença e progressão da calcificação arterial⁵³.

Adeney et. al.⁵⁵, em 2009, avaliaram a associação do nível sérico de fósforo com CV, valvular em 439 pacientes com DRC moderada, sem DCV. Mais de 95% destes pacientes apresentavam fósforo dentro dos limites da normalidade (2,5 a 4,5 mg/dl) e, o aumento de 1 mg/dl de fósforo foi responsável pelo aumento de 21% de calcificação coronariana, 33% de calcificação na aorta, 25% na válvula aórtica e 62% na válvula mitral.

Outro marcador relevante é a Osteoprotegerina (OPG), membro da subfamília do receptor TNF, é expressa por vários tecidos, mas, predominantemente nos osteoblastos e no endotélio vascular. Dentro do osso, a OPG liga e neutraliza

receptor ativador de NF kappa β ligando o RANKL, um potente promotor de diferenciação de osteoclastos, entretanto inibe a reabsorção óssea. Para regulação da remodelação óssea, a OPG pode inibir a CV, inibindo a apoptose e modulando a inflamação na parede vascular ^{12,56}.

A OPG e o RANKL têm efeitos opostos na reabsorção óssea e, a relação OPG/RANKL pode ser considerada a maior determinante da massa óssea e da remodelação. A alta relação entre OPG/RANKL pode representar um estado de baixa remodelação. Em pacientes em hemodiálise crônica com doença óssea adinâmica, uma inibição adicional da reabsorção óssea, pode significar alto nível sérico de OPG, resultando na incapacidade de acumular cálcio e fósforo no osso, seguido de calcificação metastática da árvore vascular e progressão da CV ⁵⁷. Vários estudos epidemiológicos sugerem que a elevação do nível de OPG, está associada com maior risco cardiovascular e mortalidade, tanto em pacientes urêmicos quanto não urêmicos ^{58,59}.

Ozkok et al ⁵⁷, em estudo prospectivo realizado em pacientes em hemodiálise, analisaram a relação entre OPG, RANKL, inflamação, densidade mineral e óssea e progressão da calcificação. Encontraram que a calcificação coronariana e os níveis de OPG foram associados significativamente com progressão da CV.

A fetuína A, é uma glicoproteína de peso molecular de 60kDa, sintetizada pelos hepatócitos e, secretada no sangue e acumulada no esqueleto durante a mineralização óssea devido á sua alta afinidade com hidroxiapatita, sendo, portanto, considerada inibidora da CV e representa o mais importante inibidor de formação de hidroxiapatita circulante⁶⁰. A fetuína A reage como uma proteína negativa de fase aguda, vários estudos têm mostrado que pacientes em diálise apresentam uma diminuição relativa dos níveis circulantes de Fetuína A, e, várias citocinas, particularmente a interleucina-1 β , diminui a síntese desta glicoproteína e, principalmente o estado inflamatório associado com uremia é um importante motivo para diminuição de fetuína A⁶¹.

Em humanos, os níveis de fetuína A tem sido associado com resistência à insulina e acúmulo de gordura no fígado⁶², assim como a regulação do ganho de peso através da modulação da função do adreno receptor β 2 dos adipócitos⁶³. Em pacientes com doença arterial coronariana e não diabéticos, altas concentrações de fetuína A tem uma forte e independente associação com síndrome metabólica, perfil

lipídico aterogênico, hipertensão arterial, índice de massa corpórea (IMC) e inflamação⁶⁴. Estudos prévios em animais associaram a fetuína A com resistência insulínica nos tecidos periféricos devido à interação com os receptores de insulina isto aumenta a possibilidade de que a fetuína A pode promover diretamente o fenótipo de síndrome metabólica em humanos. Apesar da maioria dos estudos da literatura mostrar que a fetuína A é um marcador protetor de CV, existem situações clínicas que justificam a elevação deste marcador em pacientes com calcificações⁶⁴.

Estudos recentes indicam uma relação muito íntima entre a atividade óssea e CV nos pacientes com DRC com o eixo neuro endócrino, com a leptina, com a osteocalcina e com a resistência insulínica. Substâncias que participam na regulação do processo de formação óssea estão envolvidas também no processo de CV, no DMO e na DRC, atuando como promotores e inibidores fisiológicos da calcificação de tecidos moles⁶⁵. O fósforo é o mais estudado promotor de CV, mas, o FGF23 já está sendo associado com graves calcificações aórticas e coronarianas, sendo considerado marcador de CV em pacientes com DRC^{65,66}. A fetuína A, a osteopontina, OPG e a proteína de matrix gla (MGP) são substâncias com propriedades fisiológicas de inibição de calcificações de tecidos moles. Apesar de fisiologicamente ser um inibidor de CV, níveis elevados de osteopontina estão associados com risco cardiovascular especialmente em pacientes com DRC^{65,67}.

Diante do exposto, podemos afirmar que pacientes com DRC apresentam maior risco de eventos relacionados com CV e vários fatores estão envolvidos e podem influenciar tanto no aparecimento como na progressão da CV. Pacientes com DRC tem um risco de óbito de dez a trinta vezes maior que a população geral, sendo a DCV a principal causa de mortalidade nesta população⁶⁸.

Investigar os mediadores da remodelação óssea e conhecer suas relações com o perfil metabólico e com CV em portadores de DRC em diálise tem sido frente de pesquisa de extrema importância. A avaliação não invasiva da remodelação óssea é sempre desejável, porém o método padrão ouro para a avaliação da remodelação óssea ainda é a biópsia com dupla marcação pela tetraciclina.

Este estudo foi idealizado para buscar esclarecimentos para a inter-relação existente entre os mediadores neuroendócrinos e doença óssea na presença e progressão da CV em pacientes renais crônicos em diálise.

2.OBJETIVOS

Primário

- Avaliar associações existentes entre classificação da doença óssea e presença de CV.

Secundários

- Avaliar a frequência de calcificação e de progressão
- Avaliar a habilidade dos índices em detectar a CV e a progressão.
- Avaliar a associação de marcadores hormonais, inflamatórios e composição corporal sobre presença e progressão da CV após 12 meses de seguimento, nos pacientes com DRC em diálise.

3. METODOLOGIA

3.1 Delineamento

Trata-se de estudo prospectivo e observacional, no qual os pacientes com DRC em tratamento dialítico foram sequencialmente analisados em dois momentos com intervalo mínimo de 12 meses quanto ao desfecho presença e progressão da CV por avaliação radiológica.

As avaliações de composição corporal, bioimpedância, dados bioquímicos, hormonais, classificação do tecido ósseo (obtido por biópsia), foram realizados apenas no momento inicial do seguimento.

3.2 Pacientes

Foram incluídos pacientes com idade maior que 18 anos em tratamento regular por diálise há mais de seis meses, excluindo-se os portadores de neoplasias, sorologia positiva para o vírus HIV, assim como, os pacientes em uso de imunossupressores e corticosteroides no período de junho de 2011 a junho de 2014 acompanhados no serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu. Os dados demográficos (idade e raça), condições comórbidas, doença renal de base, diagnóstico de diabetes mellitus, tempo de diálise (meses) e uso de medicamentos (estatinas, carbonato e cálcio, sevelamer, inibidores da enzima de conversão da angiotensina e análogos da vitamina D) foram obtidos a partir dos prontuários médicos e registros do centro de Diálise e, através do Ambulatório de Distúrbio Mineral e Ósseo do referido Hospital. O uso de medicamentos foi expresso como presente (uso regular por pelo menos três meses consecutivos durante o seguimento) ou ausente.

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu em 04 de abril de 2011, protocolo CEP: 3828-2011(ANEXO 1), de acordo com as normas que regulamentam as pesquisas em seres humanos⁶⁹. Os indivíduos incluídos no estudo foram informados sobre a pesquisa e após aceitação assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. (Anexo2)

3.3 Avaliações de Calcificações Vasculares

A avaliação da presença e progressão da CV, seguiu as recomendações atuais do KDIGO⁶, realizada de modo não invasivo utilizando o escore descrito por Kauppila et al⁷⁰ (tabela 2), utilizando-se para tal o cálculo do “índice de calcificação” que compreende a avaliação de calcificação de aorta abdominal através de análise radiológica da aorta inferior, nas regiões correspondentes à primeira, segunda, terceira e quarta vértebras lombares (anterior e posterior), com pontuação de 0 a 3 por seguimento, sendo a variação de 0 a 24 pontos.

Tabela 2: Esquema de identificação de calcificação de aorta lombar

Nível de vertebrae lombares	de Parede Anterior	Parede Posterior	Composição do Seguimento	Escore por
L1	0 – 3	0 - 3	0 - 6	
L2	0 – 3	0 - 3	0 - 6	
L3	0 – 3	0 - 3	0 - 6	
L4	0 – 3	0 - 3	0 - 6	
Total 04	0 – 12	0 - 12	24	

Grau de Calcificação:

0 - sem calcificação

1- Pequena calcificação menor que 1/3 da parede da aorta

2 - 1/3 - 2/3 da parede calcificada

3 - 2/3 ou mais da parede calcificada

Escore por segmento – Segundo Kauppila⁷⁰

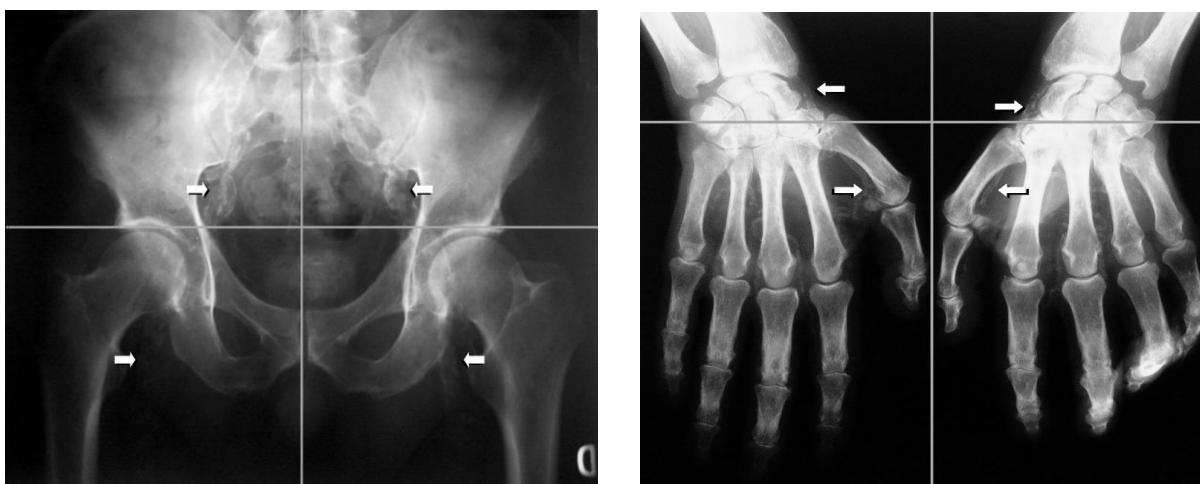
Em adição ao método de Kauppila⁷⁰, foi utilizado o método de Adragão et al⁷¹, avaliado por radiografias simples das mãos e pelve, divididas em quadrantes e, a presença de CV em cada quadrante é contada como um ponto, portanto, o escore de calcificação para este método varia de 0 a 8 (tabela 3). Todos os exames radiológicos foram analisados pelo mesmo examinador.

Tabela 3: Esquema de identificação de calcificação em mãos e pelve segundo o escore de Adragão ⁷¹.

REGIÃO DE CALCIFICAÇÃO	VARIAÇÃO
QUADRANTES – PELVE	0 - 4
QUADRANTES – MÃO	0 - 4
TOTAL ESCORE	0 - 8

Grau de escore de calcificação de Adragão⁷¹

0- Ausência 1- Presença



Portanto, para avaliação da CV foi considerado a soma dos dois métodos totalizando um escore máximo de 32.

3.3.1 Progressão da Calcificação Vascular

A progressão da CV foi analisada pela variação (delta) do escore dos dois métodos, no momento inicial e o realizado ao final do seguimento. Foi considerada progressão para CV o aumento do escore a partir de um, sendo que, isso pode significar o aparecimento de calcificação em uma nova área (quadrante).

3.3.2 Avaliações Bioquímicas e Hormonais

As avaliações sanguíneas foram realizadas pela manhã, em jejum de 6 horas, coletadas amostras de sangue no dia de realização da biópsia óssea, para a dosagem dos parâmetros laboratoriais conforme quadro abaixo de acordo com os

seus respectivos métodos:

Tabela 4: Investigação laboratorial, metodologias e valores de normalidade.

Marcador	Método	Valor normalidade
Albumina sérica	Colorimétrico, química seca - verde de bromocresol. Vitros 950	3,5- 5 g/dL
Hemoglobina	Citometria de fluxo	H: 14 – 18 g/dL M: 12 – 16 g/dL
Glicemia de jejum *	Colorimétrico, enzimático, química seca. Vitros 950	H: 49 - 181 µg/dL M: 37 – 170 µg/dL
Fosfatase alcalina total	Termo inativação	36 – 126 U/L
Colesterol total	Colorimétrico enzimático, química seca. Vitros 950	Desejado:< 200mg/dL Limite: 200-239 mg/dL Aumentado:>239 mg/dL
Magnésio sérico	Colorimétrico	1.8-2,4 mg/dL
Fósforo sérico	Colorimétrico	3,5-5,5mg/dL
Cálcio sérico	Colorimétrico	8,4 – 10,2 mg/dL
Osteocalcina sérica	ELISA, QUID-8002 QUIDEL, San Diego, CA 92121, USA	Homens: 14 – 46 ng/mL Mulheres Pré Menop.: 24 – 70 ng/mL Pós Menop.: 15 – 46 ng/mL
Leptina sérica	ELISA, CHEMICON / Linco	Mulher: 3,7 – 11,1 ng/mL Homens: 2,0 – 5,6 ng/mL
Osteoprotegerina	DuoSet ELISA/ TNFRSF11B, USA	ng/mL
Fetúina A	Quantikine ELISA	µ/L
PCR	Imuno químico de ponto fixo. Vitros 950	<1 mg/DI
TSH	Quimioluminescência	0,35 – 4,94 µUI/mL
T4L	Quimioluminescência	0,7 – 1,48 ng/dL
PTH intacto	Quimioluminescência	15 – 70 pg/mL
25 hidroxivitamina D	Quimioluminescência	Desejável: 30 – 60 ng/mL
FGF 23	Elisa(Immutopics-San Clemente CA92673)	Limite inferior de detecção: 1,5 RU/mL

Foram estocadas amostras de soro e plasma em freezer – 80°C, para a realização de dosagens de Osteocalcina, Fetúina A, OPG e FGF 23.

3.3.3 Biópsia Óssea e Histomorfometria

A biópsia óssea foi realizada na crista ilíaca com tefrina elétrica, sob anestesia local com lidocaína a 2% e sedação com midazolan de 5 a 15 mg intravenoso e citrato de fentanila 2 a 4 ml via intravenoso. Foi realizado a marcação do osso com 2 ciclos de tetraciclina, na dose de 500 mg 12/12 horas durante 3 dias, com intervalo de 10 dias sem medicação e, em seguida o segundo ciclo. A biópsia foi realizada de 2 a 5 dias após o término da tetraciclina.

O ponto na borda da crista ilíaca, dois centímetros posterior à espinha ântero-superior e perpendicularmente à borda da crista ilíaca, traçando-se uma linha de quatro centímetros, define o local de incisão da biópsia. Para uma adequada análise histomorfométrica, o cilindro a ser retirado deverá ter pelo menos 6 mm de diâmetro e ser composto por osso trabecular e as duas corticais e fixado em etanol 70%. A

inclusão do fragmento em material plástico (metilmetacrilato) possibilita o estudo do tecido sem descalcificação prévia. Dessa forma, com o uso de micrótomo de alto impacto, é possível a obtenção de cortes histológicos finos que, por meio das colorações histológicas: Azul de Toluidina, Solucromo de Azurine pH 5.0 (alumínio) e coloração de Perls (ferro), que permitem diferenciar o tecido mineralizado do não-mineralizado (matriz osteóide), além da análise de seus elementos celulares e possíveis depósitos. Essa metodologia possibilita ainda o estudo da formação e da mineralização ósseas pelo uso de marcadores como a tetraciclina⁷², que se deposita na interface osso mineralizado/matriz osteóide, região conhecida como frente de Mineralização. A tetraciclina tem a propriedade de se tornar fluorescente quando exposta à luz ultravioleta. A mineralização ocorre à medida que a frente de mineralização avança sobre a matriz osteóide. Assim, a tetraciclina em dois períodos separados por um intervalo de tempo conhecido, registra dois momentos distintos da frente de mineralização, caracterizados por duas linhas fluorescentes. Entre elas encontra-se o osso neo formado, cuja velocidade de mineralização por unidade de tempo pode ser quantificada.

A histomorfometria óssea é a técnica que permite quantificar a remodelação e as estruturas ósseas. Essa técnica desenvolveu-se a partir da década de 60, atualmente é aceita como método ouro para interpretação do tecido ósseo.

Foram realizadas as análises histomorfométricas do tecido ósseo no Laboratório 16 (FMUSP), que forneceu suporte técnico e assessoria. Para a análise histomorfométrica utilizou-se o método semi-automático com microscópio conectado a um computador e a uma câmera clara, dessa forma as imagens das estruturas histológicas são desenhadas sobre uma placa digitalizadora, com o auxílio de um cursor luminoso que percorre toda a estrutura óssea a ser analisada. Esse método é preciso, reprodutível e reduz o tempo gasto na leitura histológica, além de possibilitar ao operador a eliminação de artefatos histológicos.

As medidas histomorfométricas expressam a quantidade de tecido ósseo e as taxas de formação e reabsorção, além de fornecerem dados acerca da sua microarquitetura e da conectividade da malha trabecular. Para tal, foram utilizados os índices histomorfométricos descritos pela *American Society of Bone and Mineral Research*⁷³.

A histomorfometria foi analisada quanto à classificação de **TMV** (**T**= turnover =

remodelamento; **M** = Mineralização e **V** = volume)⁶. Foram avaliados parâmetros estruturais, formação que inclui mineralização e reabsorção óssea.

Parâmetros estruturais:

- BV/TV (%) - Volume trabecular: é o volume ocupado pelo osso trabecular, mineralizado ou não, expresso como porcentagem do volume ocupado pela medula e trabéculas.
- Tb.Th(μm): Espessura trabecular (ou espessura das traves): é a espessura média das traves ósseas expressa em micra.
- Tb.Sp(μm): Separação trabecular (ou separação de traves): é a distância entre as trabéculas ósseas expressa em micra.
- Tb.N(mm): Número trabecular (ou número de traves): é o número de trabéculas ósseas, por milímetro de tecido, sendo também um índice que expressa a densidade trabecular.

Parâmetros de formação:

- O.Th(μm): Espessura osteóide – O.Th (μm): é a espessura da matriz osteóide depositada nas trabéculas expressa em micra.
- OS/BS(%): Superfície Osteóide: é a porcentagem da superfície trabecular recoberta por matriz osteóide em relação a superfície trabecular total.
- Ob.S/BS(%): Superfície osteoblástica: é a porcentagem da superfície trabecular, que apresenta osteoblastos em relação a superfície trabecular total.
- OV/BV (%): Volume Osteóide: é o volume ocupado pelo osso não mineralizado (osteóide), expresso como porcentagem do volume ocupado pelo osso trabecular (mineralizado e não mineralizado).
- BFR/BS ($\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2/\text{dia}$): Taxa de formação óssea: o produto entre a taxa de aposição mineral e a superfície mineralizante.
- MS/BS (%): Superfície de mineralização: percentual de superfície trabecular recoberta por duplas marcações de tetraciclina em relação à superfície trabecular total.

- MAR ($\mu\text{m}/\text{dia}$): Taxa de aposição mineral: a distância entre as bordas de duas marcações pela tetraciclina dividida pelo intervalo de dias entre as duas marcações.

- MLT (dia): Intervalo de Mineralização.

Parâmetros de reabsorção:

- ES/BS (%): Superfície de Reabsorção: é a porcentagem da superfície que apresenta lacunas de reabsorção óssea com a presença ou não de osteoclastos.

- Oc.S/BS(%): Superfície osteoclástica: é a porcentagem da superfície trabecular, que apresenta osteoclastos em relação a superfície trabecular total.

3.3.4 Avaliação de Composição Corporal

As avaliações da composição corporal foram realizadas cerca de 30 minutos após a sessão de diálise. Para efetuar as medidas foram utilizadas fita métrica inextensível da marca TBW e balança digital Filizola *Personal* com estadiômetro. De acordo com fórmulas antropométricas⁷⁴, foram calculados: IMC e percentual de gordura (%MG). Para determinação do volume de água corporal foi utilizada a fórmula de WATSON⁷⁵.

Foram realizadas bioimpedâncias (BIA) com o aparelho da marca *Biodynamics*, modelo 450, monofrequencial, e considerados os valores: resistência, reactância, ângulo de fase, água corporal total (ACT), água intra (AIC) e extracelular (AEC), massa adiposa (MG) e muscular (MM). Estes exames foram realizados pela equipe de nutrição da Unidade de Hemodiálise do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu.

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste de normalidade utilizado para análise da amostra foi o de Shapiro Wilks. Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio-padrão, mediana (variação interquartílica) ou porcentagem, quando apropriado.

Para comparar as variáveis categóricas foi utilizado o teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fisher.

Para comparar as variáveis quantitativas que apresentaram distribuição normal, foi utilizado o teste t de Student ou análise de variância seguida do teste de Tukey para comparações múltiplas entre as médias e, para as que não apresentaram distribuição normal foi utilizado o teste de Wilcoxon ou o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn para comparações múltiplas.

Para a análise múltipla visando avaliar a associação entre variáveis e presença de calcificação e progressão da doença, foi utilizada a regressão logística. Entraram no modelo, as variáveis que apresentaram valores de p iguais ou inferiores a 0,25 na análise univariada. O poder do teste na realização das análises foi de 90%.

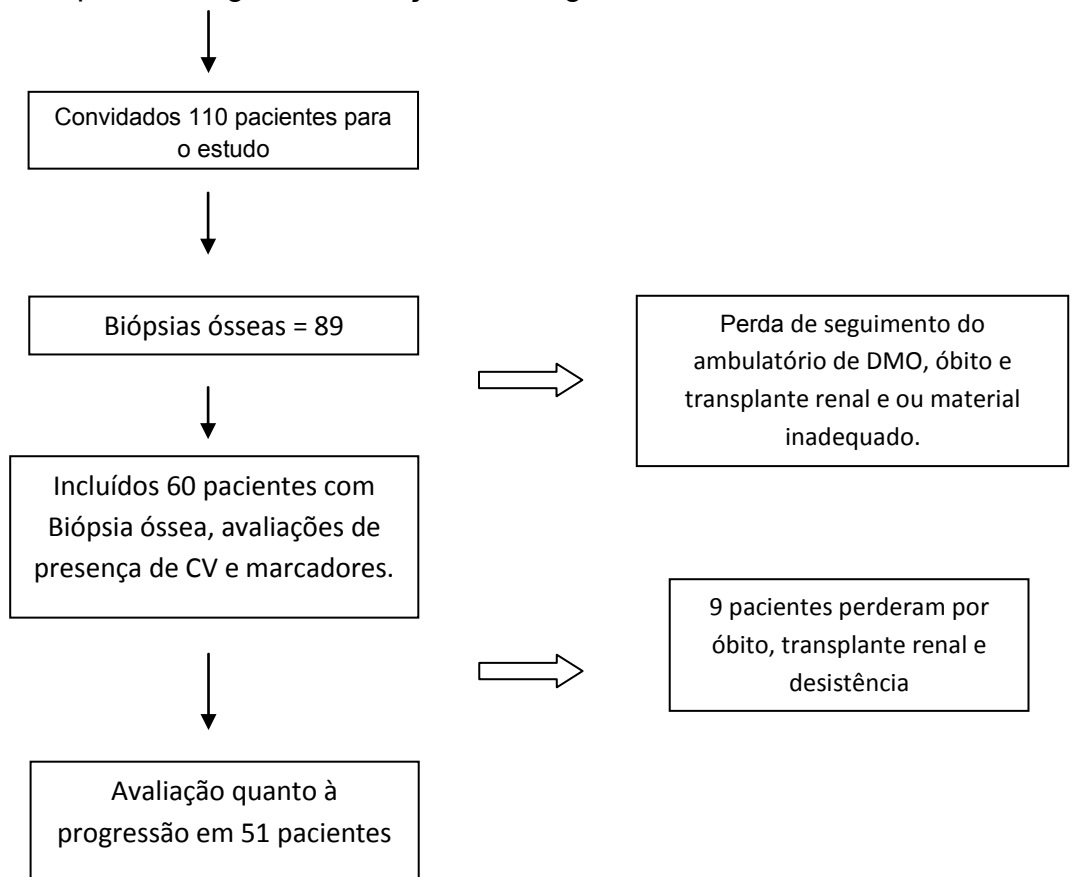
O critério de significância estatística para análise do modelo de regressão logística foi um valor de $p < 0,05$.

As análises foram feitas por intermédio do programa computacional SAS versão 9.3.

5. RESULTADOS

5.1 Dados Demográficos e Clínicos.

Entre abril de 2011 e fevereiro de 2014, 110 pacientes provenientes do centro de hemodiálise e do ambulatório de Distúrbios Minerais e Ósseos do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu foram convidados a participar desta coorte transversal. Vinte e um pacientes recusaram a participar ao serem informados da biópsia óssea, 89 pacientes assinaram o termo de consentimento informado. Dois pacientes foram excluídos, devido perda de qualidade dos fragmentos ósseos para análise de histomorfometria. Sessenta pacientes realizaram o delineamento completo, entretanto para a segunda avaliação radiológica houve a perda de 9 pacientes sendo quatro por óbitos, um por transplante e quatro pacientes se recusaram a completar a segunda avaliação radiológica.



Fluxograma de inclusão.

Foram analisados 60 pacientes prevalentes em diálise crônica com tempo de diálise superior a seis meses do início da terapia dialítica, acompanhados no serviço entre junho de 2011 a junho de 2014. A amostra estudada está caracterizada na tabela 5, 35 pacientes foram do sexo feminino (58,33%), com predomínio da raça branca (80%), a média de idade foi de $56,7 \pm 13,8$. As doenças que causaram a falência renal foram: diabetes mellitus (43,34%), hipertensão arterial (23,33%), glomerulopatias (16,67%), causa indeterminada (10%) e outras causas (6,66%). A mediana do tempo em diálise foi de 41 meses [24,0;82,5] variando de 6 a 304 meses e a mediana do Kt/V foi de 1,4[1,2;1,6].

Os quelantes de fósforo estavam sendo usados por 90% dos pacientes sendo sevelamer em 88,34% dos casos, carbonato de cálcio em 3,7% e em associação de quelantes em 5,55%. O uso de análogos de vitamina D foi revelado em 28 pacientes (46,67%), uso de Inibidor da Enzima Conversora de Angiotensina (IECA) em 25 pacientes (41,67%) e, estatinas em 39 pacientes (65%). A média do índice de massa corpórea (IMC) foi de $27,1 \pm 5,7$, os valores de medianas para o ângulo de fase foi de 5,8[4,9;6,7] e para o PNA de 1,0[0,9;1,2].

A presença de CV foi constatada em 75% da amostra analisada pelos dois métodos anteriormente citados e, 48,3% dos 51 pacientes avaliados no segundo momento apresentaram progressão da CV, com a mediana do intervalo entre os dois momentos de 14 meses [12,0;24,0].

Tabela 5 - Características demográficas e clínicas dos pacientes (n=60)

Variável	Valores
Idade (anos)	56,7±13,8
Sexo masculino n(%)	25(41,67)
Raça branca n(%)	48(80,0)
Fumo n(%)	3(5,0)
Calcificação n(%)	45(75,0)
Progressão CV n(%)	29(56,86)
PNA (g/kg/d)	1,0[0,9;1,2]
Remodelação, alto n (%)	37(61,7)
<u>Medicações</u>	
Sevelamer n (%)	53(88,3)
CaCO ₃ n(%)	5(8,3)
Calcitrol n(%)	28(46,7)
IECA n(%)	25(41,7)
Sinvastatina n (%)	39(65,0)
KT/V	1,4[1,2;1,6]
Tempo de diálise (meses)	41,0[24,0;82,5]
Intervalo de RX (meses)	14,0[12,0;24,0]
<u>Doença de Base</u>	
Diabetes n(%)	26(43,3)
HAS n (%)	14(23,3)
Glomerulopatias n (%)	10(16,7)
Indeterminadas n (%)	6(10,0)
Outras n(%)	4(6,7)
<u>Composição corporal</u>	
IMC	27,1±5,7
Porcentagem de gordura	32,3±8,6
Reactância (ohms)	58,0±16,8
Resistência (ohms)	550,4[507,8;654,1]
Ângulo de fase	5,8[4,9;6,7]
Água intracelular(l)	16,9[14,8;21,7]
Água intracelular (%)	52,2±5,2
Água extracelular(l)	16,6±4,3
Água extracelular (%)	47,8±5,2

Nota: foram apresentadas a frequência absoluta e relativa, média e desvio-padrão e mediana e os quartis, de acordo com o tipo de variável e sua distribuição. CaCO₃ – carbonato de cálcio; IECA – inibidor de enzima conversora de angiotensina; KT/V – dose de diálise; RX – raios X; HAS – hipertensão arterial sistêmica; IMC – índice de massa corpórea; PNA – Equivalente Proteico do Aparecimento do Nitrogênio Urêmico.

5.2 Avaliação Laboratorial

Na tabela 6 apresenta-se o perfil laboratorial dos pacientes. Os valores médios de hormônios tireoidianos, bicarbonato, albumina, cálcio e perfil lipídico encontram-se em intervalos normais. A média da hemoglobina foi de $11,7 \pm 1,7$ g/dl com 21,66% da amostra abaixo de 11 g/dl. A mediana do PCR foi de 0,6 [0,5;1,4] porém, 30% dos pacientes apresentavam $\text{PCR} \geq 1,0$, observa-se o aumento de fosfatase alcalina de 156,5 U/L [96,0;210,5] e PTH, 742,0 pg/mL [310,2;1465,2], sendo que 80% dos pacientes apresentavam PTH maior que 300 pg/mL e 5% abaixo de 100 pg/mL. A média da vitamina D foi de $26,1 \pm 11,9$ sendo 63,33% abaixo de 30 ng/mL e, a média do fósforo foi de $6,1 \pm 1,6$ mg/dl. As medianas da Leptina foi de 15,4 [6,5;88,5] ng/mL, da osteocalcina foi de 127,3 [49,8;265,3] ng/mL, da Fetuína A foi de 673,0 [499,4;812,2] $\mu\text{g/L}$ e da OPG foi de 400,4 [318,3;595,7] ng/mL, todos estes valores com alterações evidentes.

Tabela 6 - Dados Laboratoriais Gerais e Hormonais.

Variável	Valores
Fosfatase Alcalina (U/L)	156,5[96,0;210,5]
TSH (μ U/mL)	2,2[1,4;3,9]
T4 livre (ng/mL)	1,0[0,9;1,2]
Vitamina D (ng/mL)	26,1 $\pm$ 11,9
Creatinina (mg/dl)	9,3 $\pm$ 2,6
Uréia(mg/dl)	110,8 $\pm$ 35,7
Fósforo (mg/dl)	6,1 $\pm$ 1,6
Bicarbonato (mEq/L)	22,6 $\pm$ 2,6
Hemoglobina (g/dl)	11,7 $\pm$ 1,7
Ferritina sérica (ng/mL)	713,4[466,8;1140,4]
Sat trans(%)	28,9[22,3;41,4]
Glicose (mg/dl)	96,5[80,0;165,5]
PCR (mg/dl)	0,6[0,5;1,4]
Albumina sérica (mg/dl)	3,8 $\pm$ 0,5
HDL (mg/dl)	41,8 $\pm$ 14,0
Colesterol Total (mg/dl)	141,2 $\pm$ 35,3
LDL (mg/dl)	71,3 $\pm$ 33,4
TGL (mg/dl)	128,0[94,5;204,0]
Insulina (μ U/mL)	7,8[5,6;16,3]
Cálcio (mg/dl)	9,3 $\pm$ 1,0
Magnésio (mg/dl)	2,3[2,0;2,5]
PTH (pg/mL)	742,0[310,2;1465,2]
FGF23(Ru/mL)	3083,2[977,4;10320,6]
Leptina (ng/mL)	15,4[6,5;88,5]
Leptina/IMC	0,57[0,25;3,27]
Osteocalcina (ng/mL)	127,3[49,8;265,3]
Fetúina A (μ /L)	673,0[499,4;812,2]
Osteoprotegerina (ng/mL)	400,4[318,3;595,7]

Nota: Foram apresentadas, média e desvio-padrão e mediana e os quartis, de acordo com os tipos de variáveis.

5.3. Avaliação de Doença Óssea

Foram analisadas 60 biópsias ósseas. Histologicamente, 65% apresentaram doenças de alto remanejamento sendo 38,34% de osteíte fibrosa e 26,66% de doença mista. A doença adinâmica ocorreu em 30% e 5% de osteomalácia. Complicações relacionadas à biópsia óssea foram raras, dois casos com sangramento local moderado necessitaram de hospitalização, mas com boa evolução.

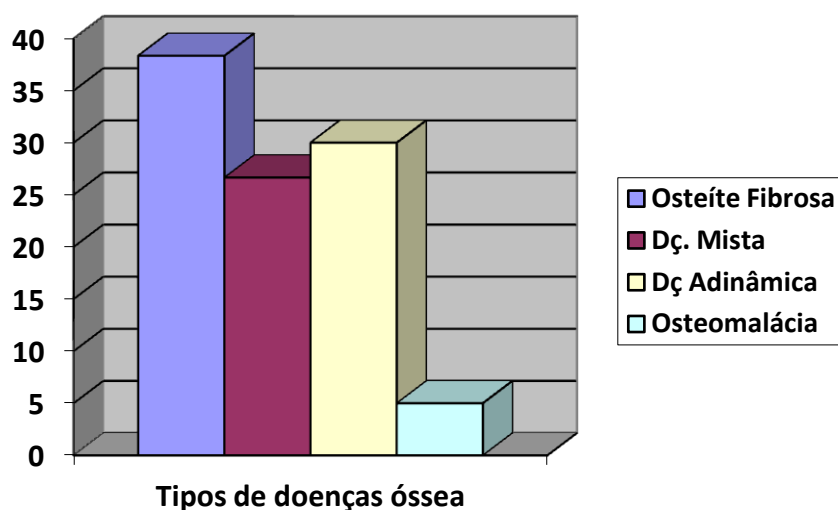


Figura 1- Distribuição de pacientes segundo tipo de doença óssea.

A tabela 7 mostra os marcadores de histomorfometria de acordo com os parâmetros estáticos e dinâmicos de formação e reabsorção ósseas.

Tabela 7- Caracterização de 60 pacientes segundo marcadores de histomorfometria óssea

Marcadores	Valores
<u>Formação</u>	
OV/BV (%)	3,2[1,3;5,1]
O.Th (µm)	13,3±3,3
OS/BS (%)	22,4[10,1;30,6]
Ob.S/BS (%)	2,1[1,3;5,1]
BFR/BS µm³/µm²/d	0,0020[0,0192;0,0645]
MS/BS (%)	5,7±4,4
MAR (µm/dia)	0,8±0,6
Mlt (d)	43,8[100,0;102,6]
<u>Reabsorção</u>	
ES/BS (%)	6,3±4,0
Oc.S/BS (%)	1,1[0,4;2,2]
<u>Estruturais</u>	
Tb.Th (µm)	102,2[85,6;113,8]
Tb.Sp (µm)	491,6[386,5;612,4]
Tb.N (mm)	1,8[1,4;2,2]
BV/TV (%)	17,4±6,6

Nota: Foram apresentadas média e desvio-padrão e mediana e os quartis, de acordo com o tipo de variável.

5.4 Calcificação Vascular

Foram avaliados 60 pacientes e comparados quanto à presença de CV, que ocorreu em 45 pacientes (75%). Analisadas as associações com características clínicas, nutricionais, laboratoriais e histomorfométricas. A comparação das características demográficas e clínicas dos pacientes segundo a CV estão mostradas na tabela 8, observa-se que pacientes com CV apresentavam maior idade ($p < 0,006$) e, menor ângulo de fase ($p < 0,015$).

Tabela 8 – Comparação dos pacientes quanto à calcificação segundo características clínicas, demográficas e nutricionais.

	Calcificação Vascular		Valor de p
	Presença (45)	Ausência (15)	
<u>Idade (anos)</u>	60,2±11,9	46,5±14,1	0,0006
<u>Raças</u>			
Branca	38(84,4)	10(66,7)	
Negra	4(8,9)	3(20,0)	
Parda	3(6,7)	2(13,3)	0,25
<u>Sexo masculino</u>	21(46,7)	4(26,7)	0,17
<u>Tabagismo</u>	3(6,7)	-(0,0)	0,57
<u>Tempo de diálise (meses)</u>	39,0[24,0;81,0]	49,0[17,0;84,0]	0,77
<u>Composição Corporal</u>			
Ângulo de Fase	5,4[4,5;6,6]	6,7[6,1;6,9]	0,015
PNA (g/kg/d)	1,0[0,9;1,2]	1,0[0,9;1,1]	0,40
<u>Diabetes Mellitus</u>	22(48,9)	3(20,0)	0,07
<u>Doença óssea</u>			
AD	15(33,3)	3(20)	
DM	13(28,9)	3(20)	
OF	15(33,3)	8(53,3)	
Osteomalácia	2(4,5)	1(6,7)	0,52
<u>Medicações</u>			
Sevelamer - Uso	40(88,9)	13(86,7)	0,75
CaCO₃ - Uso	02(4,4)	03(20)	0,09
<u>Calcitriol</u>	20(44,4)	8(53,3)	0,76
<u>IECA</u>	21(46,7)	4(26,7)	0,29
<u>Sinvastatina</u>	30(66,7)	9(60)	0,88

Valores expressos em porcentagens (Teste do qui-quadrado ou Exato de Fisher), médias e desvios-padrão (teste t de Student), medianas e quartis (teste de Wilcoxon);
AD – Adinâmica; DM – Doença Mista; OF – Osteíte fibrosa.

Não houve diferença entre pacientes com e sem CV quanto às variáveis laboratoriais e histomorfométricas (tabela 9).

Tabela 9 – Comparação dos pacientes quanto à calcificação e segundo variáveis laboratoriais e histomorfométricas

Variável	Presença de Calcificação Vascular		Valor p
	Sim (45)	Não (15)	
Laboratoriais			
Albumina (mg/dl)	3,8±0,4	3,9±0,6	0,67
Fósforo (mg/dl)	6,0±1,5	6,4±1,8	0,42
Magnésio (mg/dl)	2,25±2,14	2,24±1,99	0,93
PCR (mg/dl)	0,6[0,5;1,2]	0,5[0,5;2,4]	0,95
PTH (pg/mL)	737,0[316,4;1574,0]	747,5[191,0;1306,0]	0,53
FGF23(Ru/mL)	4065,8[996,9;10838,7]	2061,9[488,0;5766,7]	0,24
Leptina (ng/mL)	13,1[6,5;42,0]	15,5[3,0;106,5]	0,74
Leptina/IMC	0,54[0,26;1,66]	0,69[0,12;4,69]	0,56
Osteocalcina (ng/mL)	128,2[70,9;240,6]	114,8[34,4;297,4]	0,65
FetúinaA (µ/L)	694,35[537,38;844,40]	595,56[469,41;700,60]	0,11
Osteoprotegerina (ng/mL)	465,7[334,5;580,2]	335,7[275,3;595,7]	0,14
Fosfatase Alcalina (U/L)	156,0[99,0;226,0]	157,0[88,0;195,0]	0,60
TSH (µIU/mL)	2,2[1,5;3,8]	2,2[1,4;4,2]	0,92
T4 livre (ng/mL)	1,0[0,9;1,2]	1,0[0,9;1,3]	0,51
Vitamina D(ng/mL)	23,4[15,8;32,0]	29,5[21,0;37,3]	0,13
Histomorfometria			
<u>Remodelação</u>			
BFR/BS µm³/µm²/d	0,0098[0,0020;0,0609]	0,0296[0,0020;0,0928]	0,51
<u>Mineralização</u>			
OV/BV (%)	3,2[1,1;5,1]	3,4[2,6;5,1]	0,42
Mlt(d)	100,0[50,0;105,5]	63,9[41,9;100,0]	0,32
<u>Volume</u>			
BV/TV (%)	18,0±6,7	15,6±6,0	0,27

Teste t de Student (dados expressos em média) e teste de Wilcoxon (dados expressos em mediana)

5.5 Doença Óssea e Progressão da Calcificação Vascular

A avaliação quanto à progressão da CV ocorreu em 51 pacientes, 29 pacientes (56,86%) apresentaram progressão da calcificação e, na avaliação segundo a remodelação óssea, mostrou-se que a progressão da CV ocorreu independentemente do tipo de doença óssea. Observou-se um aumento significativo dos índices de Kaupilla/Adragão para ambos os tipos de remodelamento. Para o baixo remodelamento, o grupo que progrediu apresentou um acréscimo de 100% no escore de calcificação ($p<0,001$), para o alto remanejamento os pacientes apresentaram um aumento de 80% ($p<0,001$), conforme tabela 10.

Tabela 10 – Progressão da calcificação vascular (Índices Kaupilla/Adragão) segundo a doença óssea

Classificação da doença óssea	Calcificação Vascular		Valor p
	Basal	Seguimento	
Baixo remodelamento (n=13)	6,0[4,0;13,0]	12,0[9,0;17,0]	<0,001
Alto remodelamento (n=16)	7,5[3,0;14]	13,5[8,5;21]	<0,001
Testes de Wilcoxon			

Foram comparadas características clínicas, laboratoriais da composição corporal e histomorfométricas, conforme mostram as tabelas 11 e 12.

Pacientes com progressão da CV apresentaram a idade média $61,6 \pm 13,6$ anos ($p=0,004$), já aqueles que não apresentaram progressão da CV, a idade média foi $50,1 \pm 13,2$ anos.

Não houve diferença entre os grupos com e sem progressão da CV quanto às demais variáveis clínicas e demográficas.

Tabela 11- Comparação das características demográficas, clínicas e laboratoriais dos pacientes segundo progressão da CV.

	Progressão da CV		
	Sim (29)	Não (22)	Valor p
<u>Idade (anos)</u>	61,6±13,6	50,1±13,2	0,004
<u>Raça</u>			
Branca n(%)	23(79,4)	18(81,8)	
Negra n(%)	3(10,3)	3(13,6)	
Parda n(%)	3(10,3)	1(4,6)	0,77
<u>Sexo masculino n (%)</u>	16(55,2)	6(27,3)	0,08
<u>Tabagismo n (%)</u>	3(10,3)	-(0,0)	0,25
<u>Óbito n (%)</u>	9(31,0)	5(22,7)	0,73
<u>Diabetes Mellitus n(%)</u>	11(37,9)	10(45,4)	0,80
<u>Tempo de diálise(meses)</u>	39,0[24,0;90,0]	48,5[33,0;84,0]	0,83
<u>Intervalo de RX (meses)</u>	19,0[12,0;26,0]	13,5[12,0;24,0]	0,50
<u>Composição Corporal</u>			
Ângulo de fase	5,6±1,4	6,0±1,2	0,34
PNA (g/kg/d)	1,0[0,9;1,2]	1,0[0,9;1,1]	0,69
<u>Medicações</u>			
Sevelamer n (%)	26(89,6)	19(86,4)	0,72
CaCO ₃ n (%)	2(6,9)	3(13,6)	0,40
Calcitriol n (%)	12(41,4)	12(54,6)	0,52
Sinvastatina n (%)	18(62,1)	18(81,8)	0,22

Valores expressos em porcentagens (Teste do qui-quadrado ou Exato de Fisher), médias e desvios-padrão (teste t de Student), medianas e quartis(teste de Wilcoxon)

Para a análise da leptinemia observou-se uma grande variação de valores e, por esse motivo optou-se por realizar a correção pelo IMC, tornando-se os dados homogêneos e crescentes conforme aumenta a leptina sérica. Pôde-se observar que no grupo de pacientes que não apresentaram progressão da CV a leptina foi maior, 0,88[0,31;4,69] p<0,04.

Na avaliação univariada de parâmetros que se associam a progressão da calcificação, observou-se que 62 % daqueles que progrediram tinham maior Fetuína A > 673 µ/L, p=0,02; maior OPG, 493,7 [352,0;648,7], p=0,04. Outros parâmetros mostram diferenças, apesar de não serem estatisticamente significantes como o FGF23 de 3.954,3Ru/mL[1001,7;11099,3] com p=0,24; vitamina D insuficiente no grupo que progrediu a CV, 23,0[9,4;36,1], p=0,18 e com mineralização óssea, OV/BV, menores valores na progressão da CV 2,9[1,0;4,4]p=0,14.

Tabela 12 – Comparação de variáveis para a progressão ou não da CV.

Variável	Progressão da CV		Valor p
	Sim	Não	
Tempo de diálise (meses)	39,0[24,0;90,0]	48,5[33,0;84,0]	0,83
Intervalo de RX (meses)	19,0[12,0;26,0]	13,5[12,0;24,0]	0,50
Laboratoriais			
PCR (mg/dl)	0,5[0,5;0,9]	0,8[0,5;2,4]	0,02
PTH (pg/mL)	720,0[273,5;1574,0]	684,9[320,8;1163,8]	0,63
FGF23 (Ru/mL)	3954,3[1001,7;11099,3]	2290,0[577,8;5720,2]	0,24
Leptina (ng/mL)	10,2[3,9;30,4]	19,9[7,5;126,4]	0,09
Leptina/IMC	0,41[0,17;0,99]	0,88[0,31;4,69]	0,04
Osteocalcina (ng/mL)	164,3[68,8;252,9]	125,4[47,3;297,4]	0,90
Fetuína A (μ/L)	726,7[545,8;844,4]	579,97[488,1;697,5]	0,11
<673 n(%)	11(37,9)	14(70,0)	
>673 n(%)	18(62,1)	6(30,0)	0,02
Osteoprotegerina (ng/mL)	493,7[352,0;648,7]	359,0[288,2;484,7]	0,04
Fosfatase Alcalina (U/L)	140,0[92,0;194,0]	163,5[105,0;195,0]	0,47
TSH (μIU/mL)	1,9[1,2;2,8]	2,3[1,6;4,3]	0,23
T4 livre (ng/mL)	1,0[0,9;1,2]	1,0[0,9;1,2]	0,62
Vitamina D(ng/mL)	23,0[9,4;36,1]	28,9[21,0;34,5]	0,18
Albumina (mg/dl)	3,8±0,3	3,8±0,5	0,93
Fósforo (mg/dl)	6,0±1,5	6,0±1,6	0,98
Magnésio (mg/dl)	2,28±2,14	2,15±1,99	0,24
Remodelação			
BFR/BS μm ³ /μm ² /d	0,0067[0,0020;0,0604]	0,0251[0,0020;0,0645]	0,71
Mineralização			
OV/BV (%)	2,9[1,0;4,4]	4,6[2,0;6,0]	0,14
MLT (dias)	100,0[40,1;100,0]	99,9[54,5;728,2]	0,32
Volume			
BV/TV (%)	17,7±6,5	16,0±5,9	0,40

Teste t de Student (dados expressos em média) ou Teste de Wilcoxon (dados expressos em medianas).

Na análise múltipla foram identificados como fatores associados para a presença de CV, idade acima de 60 anos, o FGF23>3.000Ru/mL e a Fetuína A > 673μ/L conforme mostra a tabela 13. A chance de CV é 50,2 vezes se o paciente tiver mais que 60 anos, de 5,7 vezes se o FGF23 estiver acima de 3.000 RU/mL e 7,4 vezes se a Fetuína A for maior que 673 μ/L.

Tabela 13 - Regressão logística referente a fatores associados à presença de calcificação vascular.

Fatores	Razão chances	deIntervalo de de confiança	95%Coeficiente	Valor p
Idade (anos)				
<60 (31 casos)	1.0 (Referência)			
>=60 (25 casos)	50,118	4,062-618,394	3,914	0,002
FGF23 (Ru/mL)				
<3000(28 casos)	1.0(Referência)			
>=3000(28 casos)	5,674	1,000-32,946	1,736	0,05
Fetúina A (µ/L)				
<=673(29 casos)	1.0(Referência)			
>673(27 casos)	7,440	1,266-43,715	2,007	0,026

Considerando a progressão da calcificação vascular, identificou-se como fatores associados, a idade acima de 60 anos, a Fetúina A > 673µ/L e, o uso de estatina. A chance de progressão da CV é de 4,3 vezes se o paciente tiver mais de 60 anos, 6,4 vezes se a Fetúina A estiver acima de 673 e 5,6 vezes se não usar a sinvastatina (tabela 14).

Tabela 14 - Regressão logística referente a fatores associados para a progressão de calcificação vascular

Fatores	Razão chances	deIntervalo de de confiança	95%Coeficiente	Valor p
Idade (anos)				
<60 (27 casos)	1.0 (Referência)			
>=60 (23 casos)	4,313	1,003-18,548	1,462	0,049
Fetúina A (µ/L)				
<673(26 casos)	1.0(Referência)			
>=673(24casos)	6,424	1,476-27,962	1,860	0,013
Sexo				
Masculino (22 casos)	1.0(Referência)			
Feminino (28 casos)	0,383	0,097-1,509	-0,960	0,17
Uso de Sinvastatina				
Sim (35 casos)	1.0(Referência)			
Não (15 casos)	5,645	1,134-28,109	1,731	0,035

6. *DISCUSSÃO*

Os distúrbios do metabolismo ósseo e mineral presentes precocemente na DRC associam-se com a doença óssea e cardiovascular. Os mecanismos comuns entre essas doenças se apoiam nas crescentes evidências de que alterações na remodelação óssea participam do desenvolvimento de calcificações extra ósseas, particularmente vasculares.

A CV tem sido identificada como um preditor de mortalidade cardiovascular na população com DRC em terapia dialítica⁵⁴. Esta pesquisa observou associações de variáveis clínicas e laboratoriais naqueles com presença e progressão de CV. Entretanto, este estudo não evidenciou associações diretas da CV com o diagnóstico ou com os parâmetros estruturais, de formação que incluiu mineralização e reabsorção óssea.

Foram biopsiados 60 pacientes, cujas características demográficas não diferiram da população em hemodiálise no Brasil. Na biópsia óssea houve predomínio de doença de alto remodelamento em ambos os grupos com e sem calcificação, não havendo diferença estatística entre eles ($p=0,10$). Isto provavelmente dependeu de outros fatores e até de critérios de seleção deste estudo.

Em 2003, Araujo et al⁷⁶, mostraram, o perfil de osteodistrofia renal de 2507 pacientes dialíticos do Brasil e Uruguai, em análise retrospectiva de pacientes submetidos à biópsia óssea nas décadas de 1980 e 1990. A grande maioria (93,5%) fazia hemodiálise e os demais, diálise peritoneal ambulatorial contínua. Ao longo do período avaliado houve notória mudança no perfil das doenças ósseas, com redução na prevalência de intoxicação por alumínio e o aumento de osteíte fibrosa.

Mais recentemente, segundo dois estudos nacionais, Barreto et al⁷, avaliaram uma amostra de 101 sujeitos, com média de idade de 48 ± 13 anos (21 -81), em hemodiálise há mais de 3 meses, cujos critérios de exclusão foram o hiperparatireoidismo severo (caracterizado com $PTH > 1000 \text{ pg/mL}$), a insuficiência coronariana, hipertensão e ou diabetes mellitus descompensados. A biópsia óssea revelou uma predominância de doença adinâmica, ou de baixo remodelamento (56%). Outra série de Oliveira et al,⁷⁷ analisaram 41 pacientes em diálise peritoneal, com idade média de $50,3 \pm 10,2$ anos, 43,9% de diabéticos e, encontraram uma incidência de 48,9% com alto remodelamento e 51,1% com baixo remodelamento. Como o osso é um tecido dinâmico, influenciado por inúmeros fatores, desde a

causa, o tempo da doença renal, dieta, medicações, sedentarismo, ação hormonal, tempo e modalidade dialítica, justificam-se que a distribuição dos padrões de osteodistrofia nas populações não seja semelhante.

Nesta série, diversos dos parâmetros estudados foram considerados adequados como a dose de diálise, PNA, hemoglobina, bicarbonato sérico, albumina, cálcio, todos dentro do alvo segundo as diversas diretrizes de DRC^{78,79,80,81,82}. Incluindo o ângulo de fase ($\hat{A}$), considerado parâmetro prognóstico em pacientes em hemodiálise, mostrou-se adequado nesta amostra em valores esperados para normalidade, segundo Chertow et al⁸³. Enquanto fósforo, PTH, FGF 23, OPG, Leptina/IMC e osteocalcina, com valores variavelmente elevados, mas consistentes com populações que avaliaram relações com CV em pacientes em diálise crônica^{76,84,85}.

Nesta amostra (n=60), a calcificação foi detectada em 75% dos casos. A CV foi avaliada usando dois métodos, Adragão⁷¹ e Kauppila⁷⁰. A associação dos métodos foi praticada para aumentar a sensibilidade da avaliação e da severidade das calcificações e, por se tratarem de métodos eficazes e com baixo custo em relação ao padrão ouro, tomografia multislice, a qual é utilizada para a realização de outras definições diagnósticas, estando pouco disponível para avaliar a CV, devido o alto custo.

A prevalência encontrada foi semelhante à encontrada por Adragão et al⁷¹, que observaram CV em 74,7% de 123 pacientes dialíticos. Goodman et al⁸⁶, ao avaliar a presença de calcificação coronariana através de tomografia computadorizada em 66 pacientes submetidos a terapia dialítica crônica, observaram que no subgrupo com faixa etária entre 20 e 30 anos a CV ocorreu em 87,5%, o que é incomum na população de mesma faixa etária com função renal normal.

O estudo CORD *Calcification Outcome in Renal Disease*⁸⁷, trata da avaliação epidemiológica em 47 centros europeus de diálise que avaliou calcificação arterial e fatores de riscos envolvidos neste processo, progressão da CV, eventos cardiovasculares e mortalidade em seguimento de 24 meses. No CORD 933 pacientes em diálise crônica foram avaliados pelo método de Kauppila, com média de idade de 61,4anos, com média de tempo de tratamento de 38,2 meses, mostrou que o principal achado foram calcificações severas na aorta abdominal que estavam relacionados com a idade, duração de diálise e história de DCV.

Em nossos resultados, houve predominância do sexo masculino no grupo com calcificação, porém sem significância estatística ($p=0,08$). Em análise de outros estudos que avaliaram a progressão da calcificação, Honkanen et al ⁸⁷, encontraram maior prevalência do sexo masculino. Kiel et al ⁸⁸, em 2001 no *Framingham Heart Study* encontraram maior prevalência em mulheres na progressão da CV e, Scialla et al ⁸⁹ e, Jean et al ⁹⁰ não encontraram diferença no sexo relacionado com a presença de calcificação.

No seguimento desta população, 56,86% apresentaram progressão das calcificações. Kiel et al ⁸⁸ utilizando o método de Kauppila publicaram em 2000, o estudo de Framingham, com 554 sujeitos, sem história de doença renal, e, após 25 anos de seguimento, mostrou associação entre que a perda de massa óssea nas mulheres e a progressão da CV.

Nesta pesquisa, a regressão logística identificou como fatores associados à presença de CV, idade acima de 60 anos, FGF 23 >3.000 Ru/mL e fetuína A >673 mcg/L. A chance de apresentar calcificação foi de 50,2 vezes se idade estiver acima de 60 anos, de 5,7 vezes se o FGF 23 acima de 3.000 RU/mL e de 7,4 vezes se a fetuína A maior que 673 mcg/L.

A idade superior a 60 anos associada à presença e progressão da CV já foi relatada por outros autores ^{91,92}. Eles relatam que a senilidade induz a um aumento progressivo de depósito de cálcio na maioria das artérias. No envelhecimento, a calcificação da média pode desenvolver por múltiplos processos que incluem DRC, depleção hormonal, degradação da elastina que aparece em muitas formas de calcificação da média, mostrado por vários pesquisadores ^{93,94}. Embora a CV esteja associada à arteriosclerose, estudos mostram que independente da regulação, a calcificação dos vasos tem características com osteogênese ⁹⁵, através da expressão de proteínas usualmente encontradas no osso incluindo a matrix Gla ¹⁴.

Qin et al ¹⁴, relatam que os metabólitos da elastina podem ativar células dependentes de cálcio, e a matrix metaloproteinase, uma elastase que causa uma degradação da elastina liberando citocinas tais como TGF- β 1, que atraem várias células e induz a reação inflamatória na parede vascular. Esta liberação de citocinas também pode induzir a diferenciação de células musculares lisas ou fibroblastos que produzem proteínas específicas do osso e ajudam no processo de calcificação. Uma ou mais combinações destes fatores, contribuem para a

calcificação da média no envelhecimento.

No modelo de regressão logística para a progressão das calcificações, mostrou-se que indivíduos com idade maior que 60 anos tem 4,3 vezes mais chance de progredir a calcificação.

Nesta série, o FGF23 >3.000 Ru/mL, foi identificado como fator associado à presença de calcificação e, com valores de maior chance na ordem de 5,7 vezes. O reconhecimento do FGF23 como regulador de fósforo, cálcio e PTH, durante a fase de perda da função renal, e de forma muito intensa na fase de diálise, revelou a importância do controle ósseo sobre as alterações metabólicas da DRC, já que o osso é o principal tecido produtor de FGF23. O nível de fósforo é mantido relativamente normal até o último estágio da DRC, através de combinação de mecanismos reguladores: aumento direto do PTH, inibição renal da 1 α hidroxilase com consequente diminuição da secreção de calcitriol e aumento da secreção do FGF23, e com redução da expressão dos receptores de vitamina D (VDR) no osso e nas células das paratireóides contra regulando a elevação do PTH^{96,97}.

A DRC surge como condição ímpar em que a falência orgânica e os distúrbios associados, poderiam ser interpretados como consequência da insuficiência/deficiência de Klotho, que culminaria com repercussões fatais. Gutiérrez et al mostraram que o FGF23 elevado é marcador de mortalidade, principalmente cardiovascular no paciente com DRC^{35,96}.

No presente estudo houve associação entre a elevação do FGF23 com a presença de calcificação. Scialla et al³⁴, em uma recente coorte prospectiva de 3.860 pacientes, *Chronic Renal Insufficiency Cohort* (CRIC), com DRC estágio de 2 a 4, durante seguimento médio de 3,7 anos, 360 pacientes foram hospitalizados por Insuficiência Cardíaca Congestiva e 287 eventos arterioscleróticos e, encontraram que a elevação do FGF23 foi fator independentemente associado a maior risco nessa condição e eventos cardiovasculares. Brown et al⁹⁸, avaliaram uma coorte de 3.241 pacientes idosos com média de idade de 78 $\pm$ 5 anos, *Cardiovascular Health Study*, com seguimento médio de 10 anos e, os maiores quartis de FGF23 foram associados a maior incidência de eventos cardiovasculares e os pacientes que internaram com injúria renal aguda (119 internados), esses também apresentavam dentro do quartil com FGF23 maior.

Em outro estudo com a mesma coorte do CRIC, Scialla et al³⁰, avaliaram 1501 pacientes, com idade de 57 ± 12 anos, com taxa de filtração glomerular de 47 ± 17 ml/min./ $1,73 \text{ m}^2$, associando FGF23, fósforo e calcificação coronariana e em aorta, observada na tomografia computadorizada, a mediana de FGF23 foi de 134,5 RU/ml, permitindo observar os maiores níveis de FGF23 estiveram associados a menor nível de função renal e, não houve associação entre maiores níveis de FGF23 e calcificação coronariana e em aorta torácica nessa coorte. Ketteler et al⁹⁹, cita que Hsu et al, indiretamente enfatizaram que o FGF23 parece ser mais uma toxina miocárdica do que vascular.

Porém, vale ressaltar que nos estudos citados foram avaliados a associação de FGF23 com eventos cardiovasculares e calcificações em coortes de pacientes não dialíticos e em população idosa com função renal normal para a idade, diferentemente da população do presente estudo que avaliou pacientes em hemodiálise e, com altos valores de FGF23 ($>3.000 \text{ Ru/mL}$) dados expressivamente maiores do que os estudos citados, justificando a associação encontrada.

Oliveira et al¹⁰⁰, avaliaram uma coorte de 42 pacientes com DRC em tratamento conservador, estádios III e IV, normofosfatêmicos randomizados em dois grupos para receber durante 6 semanas doses de acetato de cálcio ou hidrocloreto de sevelamer. No início da avaliação, a maioria dos pacientes apresentava PTH e FGF23 elevados, com níveis normais de cálcio e fósforo. Após seis semanas do tratamento, observaram a redução dos níveis de PTH e na fração de excreção de fósforo, sem alteração nos níveis séricos de cálcio e fósforo. No grupo do sevelamer houve uma redução dos níveis de FGF23. Este resultado mostrou que o uso de quelantes de fósforo em pacientes com DRC com níveis normais de fósforo foi associado com melhora do controle do hiperparatireoidismo secundário e, o sevelamer foi capaz de diminuir o FGF23 sérico. Esse estudo tem importante implicação clínica sobre o desfecho de mortalidade e doença cardiovascular com o controle precoce do PTH e FGF23.

Estudos indicam que o grau de calcificação provavelmente reflete balanço entre fatores promotores e inibidores de calcificação^{52,61}. A DRC parece estar associada com ambos, aumentando os promotores, incluindo a hiperfosfatemia, hipercalcemia, LDL colesterol, hiperleptinemia e, diminuindo a quantidade de inibidores como a matrix Gla, a fetuína A, isto explica a alta prevalência e a

severidade de calcificações em pacientes em diálise⁶⁰.

Na análise múltipla, observou-se que a fetuína A apresentou associação significativa para valores acima da mediana, tanto na presença ($p < 0,026$) quanto na progressão da CV ($p < 0,035$), sendo 7,4 vezes a chance para a presença de CV com valores de fetuína A $> 673 \text{ g/L}$ e, 6,4 vezes para a progressão da CV.

Ix et al⁶⁴ em 2006, dados do “**Heart and Soul Study**”, encontraram associação entre altos índices de Fetuína A em pacientes coronarianos, não diabéticos, com síndrome metabólica, perfil lipídico aterogênico, hipertensão arterial, IMC e inflamação. Posteriormente, os mesmos autores em estudo experimental, encontraram associação entre Fetuína A com resistência à insulina e síndrome metabólica e, fizeram a hipótese que a Fetuína A poderia ser um preditor de doença coronariana. Na população estudada, síndrome metabólica foi diagnosticada em 64,9% dos casos.

Na análise univariada houve associação negativa entre ângulo de fase e CV, ou seja, o grupo de pacientes com calcificações vasculares apresentaram valores de ângulo de fase menores. Dittmar⁹² encontrou valores de ângulo de fase e resistência menores na população idosa em relação a adultos jovens, independente do gênero, justificado por uma possível alteração no balanço de fluídos entre os compartimentos intra e extravascular nesses pacientes, assim como, na DRC, desnutrição e em pacientes com edema, possivelmente sendo mais uma variável colinear que confirma a associação com a idade.

Em relação à análise univariada, foi encontrado uma associação entre níveis mais elevados de OPG e progressão da CV com $p = 0,04$.

Sigrist et al⁸⁴, mostraram além de CV, elevação da OPG em associação com todas as causas de mortalidade em pacientes estágio 4 e 5 da DRC. Kim RH et al¹⁰¹, relataram significativa ligação entre níveis elevados de OPG e espessamento vascular e, outros estudos como o de Kiechl S, et al¹⁰² e Othmane TH et al¹⁰³, encontraram altos níveis de OPG associados com progressão de calcificação coronariana e em carótidas na população geral. Em contraste, Bucay N et al¹⁰⁴, em 1998, mostraram em ratos deficientes do gene de OPG o desenvolvimento precoce de osteoporose e CV em aorta e artéria renal. Deste modo, mudanças nos níveis de OPG podem ser tanto a causa como a consequência de calcificação. Kim Rh et al¹⁰¹ apontaram que a OPG e a OPG/Fetuína A são fatores correlacionadas com o

aumento de calcificação em pacientes em hemodiálise.

Dentre os parâmetros de histomorfometria, não houve associação significativa com a progressão da calcificação. Quanto à classificação da dinâmica do osso, observou-se aumento significativo dos índices de Adragão e Kauppila tanto para pacientes com baixo quanto para alto remodelamento ($p < 0,001$). Barreto et al⁷, avaliaram calcificação coronariana em pacientes em hemodiálise, analisaram dados de histomorfometria sem a comparação em dois momentos da progressão e, concluíram que a calcificação é comum, severa e associado com a idade, distúrbios minerais e inflamação crônica.

Neste estudo, a progressão de calcificação esteve associada com idade acima de 60 anos, Fetuína A > 673mcg/L, conforme discutido anteriormente, e com o não uso de sinvastatina (OR:5,6).

Hutcheson et al¹⁰⁵, em 2014 publicaram revisão que apresenta dados controversos com o uso de estatinas para o tratamento de calcificação da válvula aórtica, Aronow et al¹⁰⁶, Moura et al¹⁰⁷, Novaro et al¹⁰⁸ e, Bellamy et al¹⁰⁰, em estudos retrospectivos e prospectivos mostraram algum grau de melhora com o uso de estatinas na progressão da doença de calcificação da válvula aórtica e, Rossebo et al¹¹⁰, Gerds et al¹¹¹ e, Chan¹¹² não encontraram redução em eventos cardiovasculares ou na progressão da calcificação da válvula aórtica com o uso de estatina. Guillaume et al¹¹³, avaliaram 161 pacientes em hemodiálise através de escore de CV por Raios X similar ao do presente estudo, com tempo médio de tratamento de 45 meses, (1 a 486 meses), com uma prevalência de calcificação de 83%, porém, o uso de estatina não apresentou efeito sobre o escore de calcificação. Apesar, dos dados controversos na literatura a população analisada neste estudo mostrou um benefício no uso de sinvastatina quanto a não progressão da CV.

Este estudo apresenta limitações quanto ao tamanho amostral, o que em parte pode ser justificado por incluir uma avaliação invasiva (biópsia óssea) na a qual ao ser esclarecido, em parte dos pacientes promove resistência à realização. Além disto, a ausência de métodos mais acurados para a dosagem de mediadores inflamatórios, hormonais, cofatores como o Klotho e, por ter avaliado as dosagens séricas dos marcadores apenas no momento inicial.

Acredita-se como ponto relevante deste estudo, o delineamento prospectivo; avaliação radiológica em dois momentos interpretados pelo mesmo examinador;

avaliação por histomorfometria na biópsia óssea e dosagens de marcadores que estão envolvidos no processo das calcificações.

7 - CONCLUSÕES

Concluindo, nesta série observou-se a alta prevalência de pacientes com calcificações vasculares assim como quanto à progressão.

A presença e a progressão da CV estiveram associadas com a idade maior que 60 anos, com o alto nível de FGF23 e com o efeito aparentemente paradoxal da fetuína A, que concentraram forte evidencia na CV.

A associação dos métodos de Adragão e Kauppila mostrou ser efetivo para o diagnóstico da presença e progressão da CV, ressaltando o baixo custo e a fácil aplicabilidade.

A busca do entendimento dos mecanismos ativos e predominantes nos vários estados de CV demanda estudos no sentido de desenvolver estratégias terapêuticas que possam impedir ou potencialmente reverter essa complicação.

8. REFERÊNCIAS

1. Coresh J, Holt DB, Astor BC, Briggs JP, Eggers PW, Lacher DA, et al. Chronic kidney disease awareness, prevalence, and trends among u.s. adults, 1999 a 2000. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16:180-8.
2. Romão Junior JE. Doença Renal Crônica: definição, epidemiologia e classificação. *J Bras Nefrol*. 2004;26 Supl 1:1-3.
3. SBN – Sociedade Brasileira de Nefrologia. Censo de Diálise SBN 2013, Disponível em: <[HTTP://www.censo-sbn.org.br/censosanteriores](http://www.censo-sbn.org.br/censosanteriores). Acesso em: 08 de maio de 2015, 2013.
4. Hujairi NM, Afzali B, Goldsmith DJ. Cardiac calcification in renal patients: what we do and don't know. *Am J Kidney Dis*. 2004;43:234-43.
5. Stenvinkel P, Pecoits-Filho R, Lindholm B. Coronary artery disease in end-stage renal disease: no longer a simple plumbing problem. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14:1927-39.
6. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl*. 2009;(113):S1-130.
7. Barreto DV, Barreto FC, Carvalho AB, Cuppari L, Cendoroglo M, Draibe SA, et al. Coronary calcification in hemodialysis patients: The contribution of traditional and uremia-related risk factors. *Kidney Int*. 2005;67:1576-82.
8. Bover J, Cozzolino M. Mineral and bone disorders in chronic kidney disease and end-stage renal disease patients: new insights into vitamin D receptor activation. *Kidney Int*. 2011;1:122-129.
9. Guérin AP, London GM, Marchais SJ, Metivier F. Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15:1014-21.
10. Raggi P, Boulay A, Chasan-Taber S, Amin N, Dillon M, Burke SK, et al. Cardiac calcification in adult hemodialysis patients. A link between end-stage renal disease and cardiovascular disease? *Am J Cardiol*. 2002;39: 695-701.
11. London GM1, Marty C, Marchais SJ, Guerin AP, Metivier F, de Vernejoul MC. Arterial calcifications and bone histomorphometry in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15:1943-51.
12. Bricker NS, Slatopolsky E. On the pathogenesis of the uremic state: an exposition of the "trade-off" hypothesis. *N Engl J Med*. 1972;286:1093-9.
13. Disthabanchong S. Lowering vascular calcification burden in chronic kidney disease: Is it possible? *World J Nephrol*. 2013;2:49-55.

14. Qin X, Corriere MA, Matrisian LM, Guzman RJ. Matrix metalloproteinase inhibition attenuates aortic calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26: 1510-6.
15. Peng A, Wu T, Zeng C, Rakheja D, Zhu J, Ye T, et al. Adverse effects of simulated hyper and hypophosphatemia on endothelial cell function and viability. *Plos One.* 2011;6:23268.
16. Di Marco GS, König M, Stock C, Wiesinger A, Hillebrand U, Reiermann S, et al. High phosphate directly affects endothelial function by downregulating annexin II. *Kidney Int.* 2013;83:213-22.
17. Sampaio EA, Lugon JR, Barreto FC. Pathophysiology of Secondary Hyperparathyroidism. *J Bras Nefrol.* 2008; 30 Supl 1:6-10.
18. Kanbay M, Goldsmith D, Akcay A, Covic A. Phosphate – The silent stealthy cardiorenal culprit in all stages of chronic kidney disease. 2009;27:220-30.
19. Palmer SC, Pinto AT, Saglimbene V, Craig JC, Macaskill P, Tonelli M, et al. Association of drug effects on serum parathyroid hormone, phosphorus, and calcium levels with mortality in CKD: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2015.
20. Goodman WG, Juppner H, Salusky IB, and Sherrard DJ. Parathyroid hormone (PTH), PTH-derived peptides, and new PTH assays in renal osteodystrophy. *Kidney International.* 2003;63: 1-11.
21. Souberbielle JCP, Roth H, Fouque DP. Parathyroid Hormone Measurement in CKD. *Kidney International.* 2010;77:93-100.
22. K/DOQI Clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis.* 2003; 42(4Supp3):S1-201.
23. Barreto FC, Barreto DV, Moysés RMA, Neves KR, Canziani MEF, Draibe SA, et al. K/DOQI-recommended intact PTH levels do not prevent low-turnover bone disease in hemodialysis patients. *Kidney International.* 2008;73: 771-7.
24. Ketteler M, Elder GJ, Evenepoel P, Ix JH, Jamal AS, Lafage-Proust MH et al. Revisiting KDIGO clinical practice guideline on chronic kidney disease – mineral and bone disorder: a commentary from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes controversies conference. *Kidney International.* 2015; 87: 502-8.
25. Bouillon R. Report on recent vitamin D research (ASBMR 2012). *IBMS BoneKEy.* 2013;63:1-5.
26. Morton AR. 25-Hydroxyvitamin D in Peritoneal Dialysis Patients: A Substrate for Investigation. *Peritoneal Dialysis International.* 2005;25: 343-7.
27. Castro LCG. The Vitamin D Endocrine System. *Arq. Bras. Endocrinol Metab.* 2011;55: 566-76.

- 28.Oliveira RB, Moysés RMA. FGF-23: state of the art. J Bras Nefrol. 2010;32:323-31.
- 29.Quarles LD. Skeletal secretion of FGF-23 regulates phosphate and vitamin D metabolism. Nat Rev Endocrinol. 2012;8:276-86.
- 30.Scialla JJ, Lau WL, Reilly MP, Isakova T, Yang HY, Crouthamel MH, et al. Fibroblast Growth Factor-23 is not associated with and does not induce arterial calcification. Kidney Int. 2013;83:1159-68.
- 31.Llach F, Yudd M. The importance of hyperphosphataemia in the severity of hyperparathyroidism and its treatment in patients with chronic renal failure. Nephrol Dial Transplant. 1998;13:57-61.
- 32.Christov M, Waikar SS, Pereira RC, Avasi A, Leaf DE, Goltzman D, et al. Plasma FGF23 levels increase rapidly after acute kidney injury. Kidney Int. 2013;84:776-85.
- 33.Drueke TB, Massy ZA. Circulating Klotho levels: clinical relevance and relationship with tissue Klotho expression. Kidney Int. 2012;83:13-5.
- 34.Scialla JJ, Xie H, Rahman M, Anderson AH, Isakova T, Ojo A, et al. Fibroblast Growth Factor-23 and Cardiovascular Events in CKD - Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study Investigators. J Am Soc Nephrol. 2014;25:349-60.
- 35.Gutiérrez OM, Mannstadt M, Isakova T, Rauh-Hain JA, Tamez H, Shah A, et al. Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. N Engl J Med. 2008;356:584-92.
- 36.Cirmanová V, Bayer M, Stárka L, Zajicková K. The effect of leptin on bone – an evolving concept of action. Physiol Res. 2008;57 Suppl 1:143-51.
- 37.Paula FJA, Rosen CJ. Bone remodeling and energy metabolism: new perspectives. Bone Res. 2013;1:72-84.
- 38.Cheng SP, Doherty GM, Chang YC, Liu CI. Leptin: The link between overweight and primary hyperparathyroidism? Med Hypotheses. 2011;76:94-6.
- 39.Hinoi E, Gao N, Jung DY, Yadav V, Yoshizawa T, Kajimura D, et al. An osteoblast-dependent mechanism contributes to the leptin regulation of insulin secretion. Ann N Y Acad Sci. 2009;1173 Suppl 1:E20-30.
- 40.Coen G. Leptin and bone metabolism. J Nephrol. 2004;17:187-9.
- 41.Roberts MA, Hare DL, Ratnaike S, Ierino FL. Cardiovascular biomarkers in CKD: pathophysiology and implications for clinical management of cardiac disease. Am J Kidney Dis. 2006;48:341-60.

- 42.Mallamaci F, Zoccali C, Tripepi G, Benedetto FA, Parlongo S, Cataliotti A, et al. Diagnostic potential of cardiac natriuretic peptides in dialysis patients. *Kidney Int.* 2001;59:1559-66.
- 43.Menon V, Gul A, Sarnak MJ. Cardiovascular risk factors in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2005;68:1413-8.
- 44.Stack AG, Saran R. Clinical correlates and mortality impact of left ventricular hypertrophy among new ESRD patients in the United States. *Am J Kidney Dis.* 2002;40:1202-10.
- 45.Fort J. Chronic renal failure: A cardiovascular risk factor. *Kidney Int.* 2005;68:S25-9.
- 46.Levin A. Prevalence of Cardiovascular damage in early renal disease. *Nephrol Dial. Transplant.* 2001;16 [Suppl 2]: 7-11.
- 47.Moysés RMA, Canziani MEF. Sevelamer and CKD-associated cardiovascular disease: going further, but far from there. *Kidney Int.* 2013;84:429-31.
- 48.Neves KR, Graciolli FG, Reis LMR, Pasqualucci CA, Moysés RMA, Jorgetti V. Adverse effects of hyperphosphatemia on myocardial hypertrophy, renal function, and bone in rats with renal failure. *Kidney Int.* 2004;66:2237-44.
- 49.Maizel J, Six I, Dupont S, Secq E, Dehedin B, Barreto FC, et al. Effects of sevelamer treatment on cardiovascular abnormalities in mice with chronic renal failure. *Kidney Int.* 2013;84:491-500.
- 50.Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, Lindholm B, Pecoits-Filho R, Riella M, et al. IL-10, IL-6, and TNF- α : Central factors in the altered cytokine network of uremia – The good, the bad, and the ugly. *Kidney Int.* 2005;67:1216-33.
- 51.Bover J, Evenepoel P, Torres PU, Vervloet MG, Brandenburg V, Mazzaferro S, et al. Pro: Cardiovascular calcifications are clinically relevant. *Nephrol Dial Transplant.* 2015;30:345-51.
- 52.Lanzer P, Boehm M, Sorribas V, Thiriet M, Janzen J, Zeller T, et al. Medial vascular calcification revisited: review and perspectives. *Eur Heart J.* 2014;35:1515-25.
- 53.Zoccali C, London GC. Vascular calcification is a surrogate marker, but not the cause of ongoing vascular disease, and it is not a treatment target in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2015;30:352-7.
- 54.London GM, Marchais SJ, Guérin AP, Boutouyrie P, Métivier F, de Vernejoul MC. Association of bone activity, calcium load, aortic stiffness, and calcifications in ESRD. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19:1827-35.

55. Adeney KL, Siscovick DS, Ix JH, Seliger SL, Shlipak MG, Jenny NS, et al. Association of serum phosphate with vascular and valvular calcification in moderate CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20:381-7.
56. Scialla JJ, Leonard MB, Townsend RR, Appel L, Wolf M, Budoff MJ, et al. Correlates of osteoprotegerin and association with aortic pulse wave velocity in patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6:2612-9.
57. Ozkok A, Caliskan Y, Sakaci T, Erten G, Karahan G, Ozel A, et al. Osteoprotegerin/RANKL axis and progression of coronary artery calcification in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7:965-73.
58. Kiechl S, Schett G, Wenning G, Redlich K, Oberhollenzer M, Mayr A, et al. Osteoprotegerin is a risk factor for progressive atherosclerosis and cardiovascular disease. *Circulation*. 2004;109:2175-80.
59. Morena M, Terrier N, Jaussent I, Leray-Moragues H, Chalabi L, Rivory JP, et al. Plasma osteoprotegerin is associated with mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17:262-70.
60. Hermans MMH, Brandenburg V, Ketteler M, Kooman JP, Van Der Sande FM, Boeschoten EW, et al. Association of serum fetuin-A levels with mortality in dialysis patients. *Kidney Int*. 2007;72:202-770. Kauppila LI, Polak JF, Cupples LA, Hannan MT, Kiel DP, Wilson PW. New indices to classify location, severity and progression of calcific lesions in the abdominal aorta: a 25-year follow-up study. *Atherosclerosis*. 1997;132:245-50.
61. Mehrotra R. Emerging role for fetuin-A as contributor to morbidity and mortality in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2007;72:137-40.
62. Stefan N, Hennige AM, Staiger H, Machann J, Schick F, Krober SM, et al. Alpha2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is associated with insulin resistance and fat accumulation in the liver in humans. *Diabetes Care*. 2006;29:853-7.
63. Suliman ME, García LE, Anderstam B, Lindholm B, Stenvinkel P. Vascular calcification inhibitors in relation to cardiovascular disease with special emphasis on Fetuin-A in chronic kidney disease. *Adv Clin Chem*. 2008;46:217-62.
64. Ix JH, Shlipak MG, Brandenburg VM, Ali S, Kettler M, Whooley MA. Association between human Fetuin-A and the metabolic syndrome – data from the heart and soul study. *Circulation*. 2006;113:1760-7.
65. Peres LAB, Pércio PPV. Mineral and bone disorders and vascular calcification in patients with chronic kidney disease. *J Bras Nefrol*. 2014;36:201-7.
66. Desjardins L, Liabeuf S, Renard C, Lenglet A, Lemke HD, Choukroun G, et al. FGF 23 is independently associated with vascular calcification but not bone mineral density in patients at various CKD stages. *Osteoporos Int*. 2012;23:2017-25.

67. Lorenzen J, Kramer R, Kliem V, Bode-Boeger SM, Veldink H, Haller H, et al. Circulating levels of osteopontin are closely related to glomerular filtration rate and cardiovascular risk markers in patients with chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest.* 2010;40:294-300.
68. Canziani MEF, Moysés RMA. Calcificação vascular na DRC. *J Bras Nefrol.* 2008;30 Supl 2:23-6.
69. Conselho Nacional de Saúde. Resolução n. 466 de 12 de dezembro de 2012, publicado no DOU em 13 de junho de 2013. Disponível em: <http://www.fmb.unesp.br/home/pesquisa/ComitedeEticaemPesquisa-novo/resolucao-n-466-cns.pdf> (acessado em: 03 de junho de 2014).
70. Kauppila LI, Polak JF, Cupples LA, Hannan MT, Kiel DP, Wilson PW. New indices to classify location, severity and progression of calcific lesions in the abdominal aorta: a 25year follow-up study. *Atherosclerosis.* 1997;132:245-50.
71. Adragão T, Pires A, Lucas C, Birne R, Magalhães L, Gonçalves M, et al. A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2004;19:1480-8.
72. Moorthi RN, Moe SM. Recent advances in the noninvasive diagnosis of renal osteodystrophy. *Kidney Int.* 2013;84:886-94.
73. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, et al. Bone Histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. *J Bone Miner Res.* 1987;6:595-610.
74. Frisancho AR. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. *Am J Clin Nutr.* 1981;34:2540-5.
75. Watson PE, Watson ID, Batt RD. Total body water volumes for adult males and females estimated from simple anthropometric measurements. *Am J Clin Nutr.* 1980;33:27-39.
76. Araújo SMHAA, Ambrosoni P, Lobão RRS, Caorsi H, Moysés RMA, Barreto FC, et al. The renal osteodystrophy pattern in Brazil and Uruguay: An overview. *Kidney Int.* 2003;63:54-6.
77. Oliveira RA, Barreto FC, Mendes M, Dos Reis LM, Castro JH, Britto ZM, et al. Peritoneal dialysis per se is a risk factor for sclerostin-associated adynamic bone disease. *Kidney Int.* 2015;87:1039-45.
78. KDIGO Anemia Group. KDIGO Clinical practice guideline for anemia in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2012; Supl 2:279-335.
79. Herzog CA, Asinger RW, Berger AK, Charytan DM, Díez J, Hart RG, et al. A clinical update from kidney disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int.* 2011;80:572-86.

80. Ribeiro-Alves AM, Gordan PA. Diagnosis of anemia in patients with chronic kidney disease. *J Bras Nefrol.* 2014;36(1 Suppl 1):9-12.
81. Bevilacqua JL, Canziani MEF. Monitoring of hemoglobin/hematocrit parameter's. *J Bras Nefrol.* 2007;Suppl 4:8-9.
82. Abensur H, Castro MCM. Iron replacement in anemia treatment. *J Bras Nefrol.* 2007; Suppl 4:10-2.
83. Chertow GM, Lazarus JM, Lew NL, Ma L, Lowrie EG. Bioimpedance norms for the hemodialysis population. *Kidney Int.* 1997;52:1617-21.
84. Sigrist MK, Taal MW, Bungay P, McIntyre CW. Progressive vascular calcification over 2 years is associated with arterial stiffening and increased mortality in patients with stages 4 and 5 chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007;2:1241-8.
85. Barreto DV, Barreto FC, Carvalho AB, Cuppari L, Draibe SA, Dalboni MA, et al. Association of changes in bone remodeling and coronary calcification in hemodialysis patients: a prospective study. *Am J kidney Dis.* 2008;52:1139-50.
86. Goodman WG, Goldin J, Kuizon BD, Yoon C, Gales B, Sider D, et al. Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med.* 2000;342:1478-83.
87. Honkanen E, Kauppila L, Wikström B, Rensma PL, Krzesinski JM, Aasarod K, et al. Abdominal aortic calcification in dialysis patients: results of the CORD study. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23:4009-15.
88. Kiel DP, Kauppila LI, Cupples LA, Hannan MT, Donnell CJO, Wilson PWF. Bone loss and the progression of abdominal aortic calcification over a 25 year period: the framingham heart study. *Calcif Tissue Int.* 2001;68:271-6.
89. Scialla JJ, Kao WHL, Crainiceanu C, Sozio SM, Oberai PC, Shafi T, et al. Biomarkers of vascular calcification and mortality in patients with ESRD. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2014;9:745-55.
90. Jean G, Bresson E, Terrat JC, Vanel T, Hurot JM, Lorriaux C, et al. Peripheral vascular calcification in long-haemodialysis patients: associated factors and survival consequences. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24:948-55.
91. Demer LL, Tintut Y. Vascular calcification pathobiology of a multifaceted disease. *Circulation.* 2008;117:2938-48.
92. Dittmar M. Reability and variability of bioimpedance measures in normal adults: effects of age, gender, and body mass. *Am J Phys Anthropol.* 2003;122:361-70.
93. O'Neill WC. Vascular Calcification: Not so crystal clear. *Kidney Int.* 2007;71:282-3.

- 94.Lee JS, Basalyga DM, Simionescu A, Isenburg JC, Simionescu DT, Vyavahare NR. Elastin calcification in the rat subdermal model is accompanied by up-regulation of degradative and osteogenic cellular responses. *Am J Pathol.* 2006;168:490-7.
- 95.Valttikuti R, Towler DA. Osteogenic regulation of vascular calcification: an early perspective. *Am J Phys Endocrinol Metab.* 2004;286:686-96.
- 96.Kanbay M, Nicoleta M, Selcoki Y, Ikizek M, Aydin M, Eryonucu B, et al. Fibroblast Growth Factor 23 and Fetuin A are independent predictors for the coronary artery disease extent in mild chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5:1780-6.
- 97.Andress DL. Adynamic bone in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2008;73:1345-54.
- 98.Brown JR, Katz R, Ix JH, Boer IH, Siscovick DS, Grams ME, et al. Fibroblast Growth Factor-23 and the long-term risk of hospital-associated aki among community-dwelling older individuals. *CJASN.* 2014;9:239-46.
- 99.Ketteler M, Biggar PH. FGF23: more a matter of the heart than of the vessels? *Nephrol Dial Transplant.* 2014; 29:1987-8.
- 100.Oliveira RB, Cancela ALE, Graciolli FG, Reis LM, Draibe SA, Cuppari L, et al. Early control of PTH and FGF23 in normophosphatemic CKD patients: a new target in CKD-MBD therapy? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5:286-91.
- 101.Kim HR, Kim SH, Han MJ, Yoon YS, Oh DJ. The Ratio of osteoprotegerin to Fetuin-A is independently associated with vascular Stiffness in Hemodialysis Patients. *Nephron Clin Pract.* 2013;123:165-72.
- 102.Kiechl S, Schett G, Wenning G, Redlich K, Oberhollenzer M, Mayr A, et al. Osteoprotegerin is a risk factor for progressive atherosclerosis and cardiovascular disease. *Circulation.* 2004;109:2175-80.
- 103.Othmane TH, Bakonyi G, Egresists J, Fekete BC, Fodor E, Jarai Z, et al. Effect of sevelamer on aortic pulse wave velocity in patients on hemodialysis: a prospective observational study. *Hemodial Int.* 2007;11 Suppl 3:S13-21.
- 104.Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev.* 1998;12:1260-8.
- 105.Hutcheson JD, Aikawa E, Merryman WD. Potential drug targets for calcific aortic valve disease. *Nat Rev Cardiol.* 2014;11:218-31.
- 106.Aronow WS, Ahn C, Kronzon I, Goldman ME. Association of coronary risk factors and use of statins with progression of mild valvular aortic stenosis in older persons. *Am J Cardiol.* 2001;88:693-5.

- 107.Moura LM, Ramos SF, Zamorano JL, Barros IM, Azevedo LF, Rocha-Gonçalves F, et al. Rosuvastatin affecting aortic valve endothelium to slow the progression of aortic stenosis. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:554-61.
- 108.Novaro GM, Tiong IY, Pearce GL, Lauer MS, Sprecher DL, Griffin BP.Effect of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on the progression of calcific aortic stenosis.*Circulation*. 2001;104:2205-9.
- 109.Bellamy MF, Pellikka PA, Klarich KW, Tajik AJ, Sarano E. Association of cholesterol levels, hydroxymethylglutaryl coenzyme-A reductase inhibitor treatment, and progression of aortic stenosis in the community. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40:1723-30.
- 110.Rossebo AB, Pedersen TR, Boman K, Brudi P, Chambers JB, Egstrup K, et al. Intensive lipid lowering with sinvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. *Engl J Med*. 2008;359:1343-56.
- 111.Gerdt E, Rossebo AB, Pedersen TR, Boman K, Brudi P, Chambers JB, et. al. Impact of baseline severity of aortic valve stenosis on effect of intensive lipid lowering therapy (SEAS Study). *Am J Cardiol*. 2010;106:1634-9.
- 112.Chan KL, Teo K, Dumesnil JG, Ni A, Tam J. Effect of Lipid lowering with rosuvastatin on progression of aortic stenosis: results of the aortic stenosis progression observation: measuring effects of rosuvastatin (ASTRONOMER) trial. *Circulation*. 2010;121:306-14.
- 113.Guillaume J, Bresson E, Terrat JC, Vanel T, Hurot JM, Lorriaux C, et al. Peripheral vascular calcification in long-haemodialysis patients: associated factors and survival consequences. *Nephrol Dialysis Transplant*. 2009;24:948-55.

ANEXOS

Anexo 1



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu – S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br
e-mail coordenadoria: tsarden@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de abril de 1997

Botucatu, 04 de Abril de 2011.

Of. 126/11-CEP

Ilustríssima Senhora
Prof^a. Dr^a. Jacqueline Socorro Costa Teixeira Caramori
Departamento de Clínica Médica da
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prezada Prof^a Jacqueline,

De ordem do Senhor Coordenador deste CEP, informo que Projeto de Pesquisa (**Protocolo CEP 3828-2011**) "**Influência do distúrbio mineral e ósseo na ocorrência e progressão da calcificação vascular em pacientes em diálise crônica**", a ser conduzido pelo Dr. João Henrique Castro, orientado por Vossa Senhoria, co-orientado pelo Prof. Dr. Pasqual Barretti, com a colaboração de Janaina da Silva Martins e Rosa Maria Affonso Moysés, recebeu do relator parecer favorável aprovado em reunião de 04 de abril de 2011.

Situação do Projeto: **APROVADO**. Ao final da execução deste Projeto, apresentar ao CEP "**Relatório Final de Atividades**".

Atenciosamente,

Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP.

Anexo 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar, como voluntário (a), da pesquisa – **“Influência do distúrbio mineral e ósseo na ocorrência e progressão da calcificação vascular em pacientes em diálise crônica”** – no caso de você concordar em participar, favor assinar ao final do documento. Sua participação não é obrigatória, e a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa ou desistência não trará nenhum prejuízo em seu tratamento, em sua relação com a equipe de saúde, ou com a instituição.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador responsável, e dos demais pesquisadores que poderão tirar suas dúvidas a qualquer momento em relação ao projeto, ou de sua participação.

JUSTIFICATIVA:

A realização desse trabalho se justifica no sentido de tentar esclarecer se existe alguma relação entre as alterações ósseas específicas e a calcificação vascular associado a outros fatores de riscos como Diabetes Mellitus, hipertensão, alterações dos níveis de colesterol e triglicérides e outros fatores.

OBJETIVOS:

O objetivo principal desse estudo é tentar esclarecer se a doença óssea está associada à doença dos vasos sanguíneos dos pacientes em diálise, uma vez que essas doenças podem dificultar o tratamento dos renais crônicos e aumentar as chances de acidente vascular encefálico (derrame) e infarto do miocárdio.

Para isso, será necessário primeiro descobrir quais pacientes possuem calcificação vascular e analisaremos os ossos desses pacientes. Não há previsão de tratamento durante esse estudo, portanto os pacientes não serão divididos em grupos. Entretanto, no caso de ser evidenciado qualquer tipo de condição que mereça tratamento, será comunicado imediatamente ao paciente, bem como à equipe médica responsável por seu acompanhamento.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO:

Se você concordar em participar desse estudo, você será entrevistado pela equipe da pesquisa, suas medidas de peso, altura e circunferência abdominal será anotada, e juntamente com exames de sangue.

Os pacientes com mais de 18 anos, e que estejam em hemodiálise há mais de 03 meses poderão, se quiserem se submeter à avaliação dos vasos sanguíneos através de RX simples do abdome; e dos ossos, através de uma biópsia do osso da bacia.

A biópsia do osso da bacia é feita na sala própria para esse fim, localizada dentro da diálise, por médico nefrologista e sob anestesia local e sedação. Essa biópsia já é feita quando necessário, não para pesquisa, mas para ajudar no tratamento dos pacientes renais crônicos e transplantados. Nesse caso a biópsia será utilizada para pesquisa, mas também para o diagnóstico da sua doença óssea. Caso você não queira participar da pesquisa, mas seja indicada uma biópsia óssea durante seu tratamento, a realização será exatamente igual à da pesquisa.

O procedimento será agendado com antecedência mínima de 20 dias e no dia agendado você deverá comparecer em jejum para ser encaminhado à sala de biópsias, com aparelhos de monitorização de pressão, pulso e oximetria. Você deverá vestir roupas adequadas e será puncionada uma veia no braço que não contenha fístula para a administração de uma medicação que causa sonolência, porém não anestesia geral. Será realizada anestesia na borda lateral do osso da bacia, onde realizaremos uma pequena incisão de aproximadamente 3 cm, que dará passagem a um trefina (agulha especial para osso), e com o auxílio de uma furadeira apropriada será retirado um fragmento de osso de aproximadamente 0,5cm de largura por 1 cm de espessura. Posteriormente a pele é suturada (pontos) e feito curativo. O procedimento todo não deve exceder 20 minutos, e devido à medicação, você não se lembrará de qualquer desconforto. Essa pequena amostra de osso servirá para o diagnóstico da doença óssea, para avaliar intoxicações por Alumínio e Ferro, além de identificar o tipo de doença óssea.

RISCOS E DESCONFORTOS:

A coleta dos exames de sangue de veia do braço, e avaliação dos vasos pelo RX de abdome trazem riscos desprezíveis a sua saúde.

A biópsia do osso da bacia requer um preparo prévio com o uso do antibiótico “tetraciclina” por 2 ciclos de 3 dias com intervalo de 10 dias entre os ciclos, o que pode causar alguma dor de estômago e náuseas. Para esse procedimento não é necessário internação e poucas complicações são esperadas, normalmente ocorrem dor no local do corte da pele e hematomas (roxo). O uso da furadeira possibilita um procedimento rápido e sem a necessidade de “forçar” o osso. São raras complicações importantes, como lesões de nervo ou sangramento, ocorrendo em menos de 1% dos casos. Os pontos serão retirados na própria unidade em 7 dias. Em todos procedimentos será respeitada a privacidade dos pacientes, e não serão expostas partes íntimas. As aferições de peso, altura e circunferência de abdome será realizada em consultório individual pela equipe de pesquisadores.

BENEFÍCIOS:

A sua participação trará benefícios a sua saúde, bem como ajudará a compreender melhor a relação entre a doença dos ossos e a calcificação dos vasos nos renais crônicos.

A avaliação bioquímica realizada com o sangue coletado será capaz de identificar os pacientes com diabetes por falta de insulina, ou por dificuldade de ação desse hormônio, além de avaliar alterações de outros hormônios, tais como os da tireoide e paratireoide.

O RX de abdome para avaliação de calcificação de vaso (aorta) é capaz de indicar de forma indireta, mas com boa correlação quais pacientes estão sob maior risco de sofrerem um infarto ou derrame, dando chance de tratamento antes que esse evento ocorra.

A avaliação dos ossos através da biópsia é a maneira mais confiável de saber sobre a condição de seu esqueleto, possibilitando o tratamento adequado e reduzindo o risco de fraturas, além de ser a única forma de diagnosticar com certeza a presença de intoxicação por alumínio e ferro.

CUSTO/REEMBOLSO PARA O PARTICIPANTE:

Os pacientes que concordarem em participar desse estudo não arcarão com nenhum gasto decorrente de sua participação. As consultas, exames e

procedimentos serão totalmente gratuitos. Por outro lado, os participantes não receberão qualquer tipo de reembolso ou gratificação devido a sua participação.

CONFIDENCIALIDADE DA PESQUISA, FORMA DE ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA AOS PACIENTES:

Será garantido o sigilo e a privacidade dos participantes envolvidos nessa pesquisa, serão divulgados apenas os dados diretamente relacionados aos objetivos da pesquisa, sem porem revelar a identidade dos pacientes envolvidos.

Todos os participantes dessa pesquisa permanecerão em seguimento no ambulatório de distúrbios minerais e metabolismo ósseo do Hospital das Clinicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, bem como todos os pacientes que por ventura se recusar em participar, ou retirarem sua autorização no decorrer do estudo.

CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, NOME DO ENTREVISTADO(A), RG/CPF, declaro que li as informações contidas nesse documento, fui devidamente informado(a) pelo pesquisador(a) – (NOME DO PESQUISADOR(A)) – dos procedimentos que serão utilizados, riscos e desconfortos, benefícios, custo/reembolso dos participantes, confidencialidade da pesquisa, concordando ainda em participar da pesquisa. Foi-me garantido que posso retirar o consentimento a qualquer momento, sem que isso leve a qualquer penalidade. Declaro ainda que recebi uma cópia desse Termo de Consentimento.

Assinatura do Paciente:_____

Assinatura do Pesquisador Responsável:_____