



UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM MEDICINA

Armando Morales Júnior

**EFEITO DA INFLAMAÇÃO SOBRE OS
BIOMARCADORES DO DISTÚRBO MINERAL
ÓSSEO NA LESÃO RENAL AGUDA**

**EFFECT OF INFLAMMATION ON BIOMARKERS
OF BONE MINERAL DISORDER IN ACUTE
KIDNEY INJURY**

São Paulo

2018

Armando Morales Júnior

**EFEITO DA INFLAMAÇÃO SOBRE OS
BIOMARCADORES DO DISTÚRBO MINERAL
ÓSSEO NA LESÃO RENAL AGUDA**

Dissertação apresentada à Universidade Nove de Julho para obtenção do título de Mestre em Medicina.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Aparecida Dalboni

São Paulo

2018

Morales Júnior, Armando.

Efeito da inflamação sobre os biomarcadores do distúrbio mineral ósseo na lesão renal aguda. / Armando Morales Júnior. 2018.
68 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2018.

Orientador (a): Prof^ª. Dr^ª. Maria Aparecida Dalboni.

1. Lesão renal aguda. 2. Inflamação. 3. Biomarcadores do distúrbio mineral ósseo.

I. Dalboni, Maria Aparecida. II. Título

CDU 616

São Paulo, 13 de dezembro de 2018.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): **ARMANDO MORALES JÚNIOR**

Título da Dissertação: **EFEITO DA INFLAMAÇÃO SOBRE OS BIOMARCADORES DO DISTÚRPIO MINERAL ÓSSEO NA LESÃO RENAL AGUDA**

Presidente: PROFA. DRA MARIA APARECIDA DALBONI  _____

Membro: PROFA. DRA. SAMIRAH ABREU GOMES  _____

Membro: PROFA. DRA. ROSA MARIA AFFONSO MOYSÉS  _____

TERMO DE APROVAÇÃO

**EFEITO DA INFLAMAÇÃO SOBRE OS
BIOMARCADORES DO DISTÚRBO MINERAL
ÓSSEO NA LESÃO RENAL AGUDA**

Armando Morales Júnior

Dissertação apresentada à Universidade Nove de Julho para obtenção do título de Mestre em Medicina.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Aparecida Dalboni

Presidente: Profa. Dra. Maria Aparecida Dalboni

Membro: Profa. Dra. Samirah Abreu Gomes

Membro: Profa. Dra. Rosa Maria Affonso Moysés

São Paulo, 13 de dezembro de 2018

Aos meus pais, que muitas vezes mesmo sem compreender os meus objetivos,
sempre me apoiam.

“ O que a gentileza livremente oferece, agradecimentos não podem pagar. ”

(thanks cannot pay, what kindness freely gives)

John Masefiel (1878 – 1967)

Acima de tudo, a Deus, responsável pelos acasos e coincidências em minha vida.

Agradeço também à minha família que foi sempre o meu maior incentivo.

A Profa. Dra. Maria Aparecida Dalboni, minha orientadora, pelo apoio, pela paciência, generosidade, compreensão, simplicidade e principalmente pela confiança em mim depositada. Obrigado por compartilhar comigo seu imenso conhecimento e ser peça fundamental na realização desta etapa de minha vida.

A Profa. Dra. Antonia Maria Oliveira Machado, diretora do Laboratório Central do Hospital São Paulo – UNIFESP, pelo apoio e constante estímulo.

A Ivone Braga de Oliveira e a Profa. Dra. Rosa Maria Affonso Moyses, do laboratório LIM 16 – FMUSP, por possibilitar a confirmação de algumas dosagens.

Ao Mário Marcos Sallai, pelo companheirismo, paciência nos momentos difíceis e constante estímulo para o meu mestrado.

A Shélica Colonhezi Castro, minha fiel parceira no trabalho, pela paciência, incentivo e por brilhantemente dar continuidade em nosso trabalho nos momentos que precisei estar ausente.

A Viviane Almeida Gouveia e Caren Cristina Grabulosa pela colaboração na realização das dosagens e a disposição de ajudar sempre da melhor forma possível.

Ao amigos Walter, Renato e José Roberto por participarem dos melhores momentos de aprendizado e felicidade de minha vida nos últimos meses, em especial ao Walter parceiro de todas as disciplinas cursadas e muitos momentos de estudos.

Agradeço também a tantos outros, professores e amigos, que dividiram comigo esses momentos e contribuíram para o meu crescimento, o meu mais sincero: MUITO OBRIGADO!

Agradeço também aos que sem perceberem e sem minha percepção, contribuíram para execução e finalização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,
mas lutei para que o melhor fosse feito.
Não sou o que deveria ser, mas, graças à Deus,
não sou o que era antes.”

Marthin Luther King

Introdução: Pacientes com Doença Renal Crônica e em diálise têm alta prevalência de distúrbio mineral ósseo. Recentemente a inflamação tem sido associada como fator de risco para dano ósseo nesta população por induzir aumento do fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF-23), um hormônio fosfatúrico e Esclerostina (uma proteína que inibe a formação óssea). Entretanto, ainda são raros os estudos em pacientes com lesão renal aguda (LRA) a respeito de alterações dos marcadores do metabolismo ósseo.

Objetivo: Investigar o efeito da inflamação sobre os biomarcadores do metabolismo mineral ósseo em pacientes com lesão renal aguda (LRA).

Material e Métodos: Foram incluídos 77 pacientes graves sem LRA (idade 74 ± 14) e 83 pacientes graves com LRA (idade 71 ± 17), admitidos na Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Os pacientes com LRA foram caracterizados pelo aumento de 0,3 mg/dL na creatinina sérica comparado com a creatinina da data de entrada na UTI (basal) no período de no máximo até 7 dias da admissão na UTI. Foram avaliados: FGF-23, Esclerostina, Interleucina-6 (IL-6), Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) e Interleucina-10 (IL-10) (por ensaio imunoenzimático - ELISA), Cálcio e fósforo (por método colorimétrico), Paratormônio (PTH) e 25 Vitamina D (por eletroquimioluminescência - ECLIA). Os resultados foram expressos como média ou mediana. O Test T e Mann-Whitney foram utilizados para analisar os grupos. **Resultados:** Observamos diferença nos níveis séricos de IL-6 (pg/mL) [LRA 21,2 (12,1-31,7) vs. Não-LRA 11,8 (7,0-19,3); $p < 0,01$], TNF- α (pg/mL) [LRA 8,0 (6,6- 10,6) vs. Não-LRA 7,0 (6,0-8,0); $p < 0,01$], IL-10 (pg/mL) [LRA 1,07 (0,95-1,54) vs. Não-LRA 0,97 (0,91-1,08); $p < 0,01$], fósforo (mg/dL) [LRA $4,5 \pm 1,7$ vs. Não-LRA $3,9 \pm 1,2$; $p = 0,01$], PTH (pg/mL) [LRA 7,8 (3,5-17,5) vs. Não-LRA 5,5 (2,9-10,7); $p = 0,04$], vitamina D (ng/mL) [LRA $13,6 \pm 7,6$ vs. Não-LRA $16,1 \pm 6,5$; $p = 0,01$] e esclerostina (pg/mL) [LRA $80,0 \pm 24,4$ vs. Não-LRA $15,2 \pm 4,8$; $p = 0,01$]. Não observamos diferença na albumina (g/dL) [LRA $2,9 \pm 0,5$ vs. Não-LRA $3,1 \pm 0,6$; $p = 0,09$], PCR (mg/L) [LRA 6,4 (1,8-15,0) vs. Não-LRA 6,2 (1,1-15,0); $p = 0,31$], cálcio (mg/dL) [LRA $7,9 \pm 1,1$ vs. Não-LRA $8,0 \pm 1,1$; $p = 0,24$] e FGF-23 (pg/mL) [LRA 48 (1,5-149) vs. Não-LRA 58 (1,5-193); $p = 0,35$]. Além disso, observamos que os pacientes com APACHE II apresentaram maiores níveis séricos de creatinina (mg/dL) [APACHE $1,8 \pm 1,4$ vs. Não-APACHE $1,0 \pm 0,6$; $p < 0,01$], cistatina C (ng/mL) [APACHE $1,8 \pm 1,0$ vs. Não-APACHE $1,1 \pm 0,6$; p

<0,01], TNF- α (pg/mL) [APACHE 9,2 \pm 4,9 vs. Não-APACHE 7,5 \pm 1,8; p <0,01] e PTH (pg/mL) [APACHE 13,9 \pm 18,0 vs. Não-APACHE 9,1 \pm 10,5; p = 0,04] e os pacientes que evoluíram para óbito tinham alterados creatinina (mg/dL) [Óbito 2,1 \pm 1,4 vs. Não-Óbito 1,3 \pm 1,0; p = 0,03], cistatina C (ng/mL) [Óbito 2,4 \pm 1,2 vs. Não-Óbito 1,3 \pm 0,7; p<0,01], IL-6 (pg/mL) [Óbito 22 \pm 9 vs. Não-Óbito 17 \pm 10; p = 0,04], TNF- α (pg/mL) [Óbito 12,1 \pm 6,2 vs. Não-Óbito 7,9 \pm 3,0; p<0,01], PCR (mg/L) [Óbito 15,9 \pm 12,9 vs. Não-Óbito 8,4 \pm 8; p<0,01], IL-10 (pg/mL) [Óbito 7,3 \pm 24 vs. Não-Óbito 2,0 \pm 8,4; p = 0,01] e fósforo (mg/dL) [Óbito 5,1 \pm 2,4 vs. Não-Óbito 4,1 \pm 1,4; p = 0,01]. **Conclusão:** A esclerostina foi maior em pacientes com LRA e como esperado os pacientes com LRA apresentaram maior estado de inflamação. É possível que mediadores inflamatórios tenham impacto sobre os osteócitos, aumentando a síntese de esclerostina. Para nosso conhecimento, este é o primeiro estudo que detectou altos níveis de esclerostina em pacientes com LRA. Entretanto, a hipótese do mecanismo inflamatório sobre os osteócitos e o impacto do aumento da esclerostina sobre desfechos devem ser investigados em estudo prospectivo.

Palavras-chave: lesão renal aguda, inflamação, biomarcadores do distúrbio mineral ósseo.

Introduction: Patients with chronic kidney disease and on dialysis have a high prevalence of bone mineral disorders. Recently, the inflammation have been associated to cause abnormalities in bone and mineral metabolism in end stage renal disease (ESRD) patients. These are linked with morbidity and mortality in this population. The Fibroblast Growth Factor 23 (FGF-23) a phosphaturic hormone, Sclerostin (SOST) (a protein that inhibit bone formation) and inflammation markers have been described as an important axis of the physiopathology of mineral bone disease (MBD). However, patients with acute kidney injury (AKI) which abruptly lose kidney function; have not been investigated to bone and mineral metabolism abnormalities. **Objective:** To investigate the effect of inflammation on mineral bone metabolism in patients with Acute Kidney Injury (AKI). **Material and Methods:** We included 77 severe patients without AKI (age 74 ± 14) and 83 severe AKI patients (age 71 ± 17) all admitted to the Intensive Care Unit. Patients with AKI were characterized by AKIN criteria that used a 0.3 mg/dL increase in serum creatinine within seven days of admission in the hospital. Serum markers of mineral bone metabolism and inflammation investigated were: FGF-23, SOST, Interleukin-6 (IL-6), Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) and Interleukin-10 (IL-10) (by enzyme-linked immunosorbent assay - ELISA), calcium and phosphorus (colorimetric method), parathyroid hormone and 25 vitamin D (by electrochemiluminescence immunoassay – ECLIA). Results were expressed on average or median. Test T and Mann-Whitney were used to analyze the groups. **Results:** We observed difference in serum levels of IL-6 (pg/mL) [AKI 21.2 (12.1-31.7) vs. No-AKI 11.8 (7.0-19.3); $p < 0.01$], TNF- α (pg/mL) [AKI 8.0 (6.6 -10.6) vs. No-AKI 7.0 (6.0-8.0); $p < 0.01$], IL-10 (pg/mL) [AKI 1.07 (0.95-1.54) vs. No-AKI 0.97 (0.91-1.08); $p < 0.01$], phosphate (mg/dL) [AKI 4.5 ± 1.7 vs. No-AKI 3.9 ± 1.2 ; $p = 0.01$] PTH (pg/mL) [AKI 7.8 (3.5-17.5) vs. No-AKI 5.5 (2.9-10.7); $p = 0.04$], vitamin D (ng/mL) [AKI 13.6 ± 7.6 vs. No-AKI 16.1 ± 6.5 ; $p = 0.01$] and sclerostin (pg/mL) [AKI 80.0 ± 24.4 vs. No-AKI 15.2 ± 4.8 ; $p = 0.01$]. We did not observe difference in albumin (g/dL) [AKI 2.9 ± 0.5 vs. No-AKI 3.1 ± 0.6 ; $p = 0.09$], C-reactive protein (mg/L) [AKI 6.4 (1.8-15.0) vs. No-AKI 6.2 (1.1-15.0); $p = 0.31$], calcium (mg/dL) [AKI 7.9 ± 1.1 vs. No-AKI 8.0 ± 1.1 ; $p = 0.24$] and FGF-23 (pg/mL) [AKI 48 (1.5-149) vs. No-AKI 58 (1.5-193); $p = 0.35$]. In addition, we observed that patients with APACHE II presented higher serum levels of creatinine (mg/dL) [APACHE

1.8 ±1.4 vs. Não-APACHE 1.0 ±0.6; p<0.01], cystatin C (ng/mL) [APACHE 1.8 ±1.0 vs. Não-APACHE 1.1 ±0.6; p <0.01], TNF-α (pg/mL) [APACHE 9.2 ±4.9 vs. Não-APACHE 7.5 ±1.8; p <0.01] e PTH (pg/mL) [APACHE 13.9 ±18 vs. Não-APACHE 9.1 ±10.5; p=0.04] and patients who progressed to death had altered creatinine (mg/dL) [Death 2.1 ±1.4 vs. No-Death 1.3 ±1.0; p=0.03], cystatin C (ng/mL) [Death 2.4 ±1.2 vs. No-Death 1.3 ±0.7; p<0.01], IL-6 (pg/mL) [death 22 ±9 vs. No-Death 17 ±10; p=0.04], TNF-α (pg/mL) [Death 12.1 ±6.2 vs. No-Death 7.9 ±3.0; p<0.01], C-reactive protein (mg/L) [Death 15.9 ±13 vs. No-Death 8.4 ±8; p<0.01], IL-10 (pg/mL) [Death 7.3 ±24 vs. No-Death 2.0 ±8.4; p=0.01] and phosphate (mg/dL) [Death 5.1 ±2.4 vs. No-Death 4.1 ±1.4; p=0,01].

Conclusion: Sclerostin was higher in AKI patients As expected, AKI patients presented higher inflammation state characterized by increased serum levels of IL-6, TNF-α and IL-10. It is possible these cytokines signaling sclerostin production from osteocytes. To our knowledge, this is the first study that detected high levels of sclerostin in AKI patients. However, the inflammatory mechanism and their impact on osteocyte associated to outcome, should be investigated.

Key words: acute kidney injury, inflammation, biomarkers of mineral bone disease.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mecanismos envolvidos na SIRS e CARS	03
Figura 2 – Modelo esquemático para a regulação do controle da formação óssea pela esclerostina.....	09
Figura 3 – Critérios AKIN de Lesão Renal Aguda.....	15
Figura 4 – Fluxograma do desenho da amostra.....	16
Figura 5 –Esquema básico do método ELISA.....	17
Figura 6 –Esquema básico do método de ECLIA.....	18

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Critérios de SIRS e Sepsis.....	02
Quadro 2 – Descrição dos ensaios de ELISA e suas respectivas sensibilidades.....	17
Quadro 3 – Descrição dos ensaios fabricados pela Roche e suas respectivas sensibilidades.....	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados epidemiológicos dos pacientes nos grupos CONT e LRA....	21
Tabela 2 – Dados bioquímicos e demográficos dos pacientes nos grupos CONT e LRA.....	22
Tabela 3 – Dados bioquímicos e demográficos dos pacientes conforme escore APACHE II.....	23
Tabela 4 – Dados bioquímicos e demográficos dos pacientes conforme mortalidade.....	24
Tabela 5 – Correlação entre os níveis séricos de creatinina, cistatina C, IL-6, IL-10, PCR, TNF- α , Ca, P, VIT D, PTH, FGF-23 e esclerostina.....	25

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Correlação entre os níveis séricos de creatinina e TNF- α	26
Gráfico 2 – Correlação entre os níveis séricos de creatinina e fósforo	27
Gráfico 3 – Correlação entre os níveis séricos de TNF- α e esclerostina	27
Gráfico 4 – Correlação entre os níveis séricos de interleucina - 6 e esclerostina.....	28
Gráfico 5 – Correlação entre os níveis séricos de vitamina D e interleucina - 6	28
Gráfico 6 – Correlação entre os níveis séricos de vitamina D e TNF- α	29
Gráfico 7 – Correlação entre os níveis séricos de vitamina D e PCR.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LRA	-	Lesão Renal Aguda
SIRS	-	Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica
CARS	-	Síndrome da Resposta Anti-inflamatória Compensatória
IL-10	-	Interleucina 10
IL-1Ra	-	Antagonista do Receptor da Interleucina 1
TNF	-	Fator de Necrose Tumoral
sTNF-R	-	Receptor Solúvel de Fator de Necrose Tumoral
TNF- α	-	Fator de Necrose Tumoral Alfa
IL-1 β	-	Interleucina1 Beta
IL-6	-	Interleucina 6
IL-8	-	Interleucina 8
DMO	-	Distúrbio Mineral Ósseo
DRC	-	Doença Renal Crônica
25 vitamina D	-	Calcidiol, 25 Hidroxivitamina D, 25(OH)D
1,25 vitamina D	-	Calcitriol, 1,25 Dihidroxivitamina D, 1,25(OH) ₂ D
DCV	-	Doença Cardiovascular
FGF-23	-	Fator de Crescimento de Fibroblastos 23
PTH	-	Paratormônio
Ca	-	Cálcio
P	-	Fósforo
Wnt	-	Wingless

- LRP5 - Receptor de Lipoproteína de Baixa Densidade 5
- LRP6 - Receptor de Lipoproteína de Baixa Densidade
- PCR - Proteína C Reativa

Introdução	1
Lesão Renal Aguda.....	2
Distúrbio Mineral Ósseo na DRC.....	5
LRA e Distúrbio Mineral Ósseo	10
Objetivo	11
Objetivo Geral.....	12
Objetivo Específico.....	12
Material e Métodos	13
Amostra.....	14
Critérios de Inclusão.....	14
Critérios de Exclusão	15
Métodos	16
Análise Estatística	18
Resultados	20
Discussão	30
Sumário dos Resultados Encontrados.....	35
Conclusão	36
Referências Bibliográficas	38
Anexos	48

Introdução

Lesão Renal Aguda

A lesão renal aguda (LRA) é uma das graves complicações em pacientes críticos, principalmente os hospitalizados, devido à alta mortalidade, morbidade e impacto econômico. A incidência de LRA é alta, uma meta-análise envolvendo 154 estudos com mais de 3 milhões de indivíduos mostrou que 1 em cada 5 adultos e 1 em cada 3 crianças em todo o mundo adquiriu LRA durante a hospitalização⁽¹⁾.

A maioria dos pacientes internados na unidade de terapia intensiva desenvolvem a síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS). A SIRS é a resposta orgânica sistêmica a diferentes insultos como trauma, queimadura ou endotoxinas e é diagnosticada por critérios (vide quadro 1) bem definidos em consensos internacionais⁽²⁾. Quando iniciada ou perpetuada por agente infeccioso, caracteriza a sepse que, e sendo acompanhada por disfunção orgânica (sepse severa), pode resultar em taxa de mortalidade de 80%⁽³⁾.

Quadro 1 – Critérios de SIRS e Sepse.

A síndrome da resposta inflamatória sistêmica está presente quando houver dois ou mais das seguintes condições	
Temperatura	> 38° C ou < 36° C
Frequência cardíaca	> 90 batimentos/minuto
Frequência respiratória	> 20 batimentos/minuto ou $p\text{CO}_2$ < 32
Contagem de leucócitos	> 12.000 células/mm ³ , < 4.000 células/mm ³ , ou > 10% de células imaturas (bastões)

Sepse está presente pelos mesmos critérios, na vigência de infecção.

A LRA que requer diálise é uma condição grave com uma taxa de mortalidade inaceitavelmente elevada de 40% a 50%, aumentando para 60% a 80% nos casos associados com disfunção de órgãos distantes, como insuficiência cardíaca e respiratória⁽¹⁾. Além disso, a LRA é complicação grave e prevalente no ambiente da terapia intensiva gerando impacto desfavorável no

desfecho do paciente grave. Sua presença implica em taxa de mortalidade que varia de 15 a 80% na terapia intensiva⁽⁴⁾.

Esta grande variabilidade da mortalidade nesses pacientes está associada à heterogeneidade da complexa fisiopatogenia da SIRS. Embora avanços na terapia de reposição de função renal e medidas de suporte têm sido adotadas, este panorama de mortalidade não tem se modificado nos últimos anos. Uma das principais causas de mortalidade está associada à extensão da lesão de órgãos ou sistemas que resultam do balanço entre duas forças: a resposta pró-inflamatória (caracterizada pela SIRS) na qual ocorre um recrutamento de mediadores e células inflamatórias onde se estabeleceu a lesão, e uma resposta anti-inflamatória (CARS – síndrome da resposta anti-inflamatória compensatória) que visa atenuar a injúria tissular e promover a cicatrização local (vide figura 1).

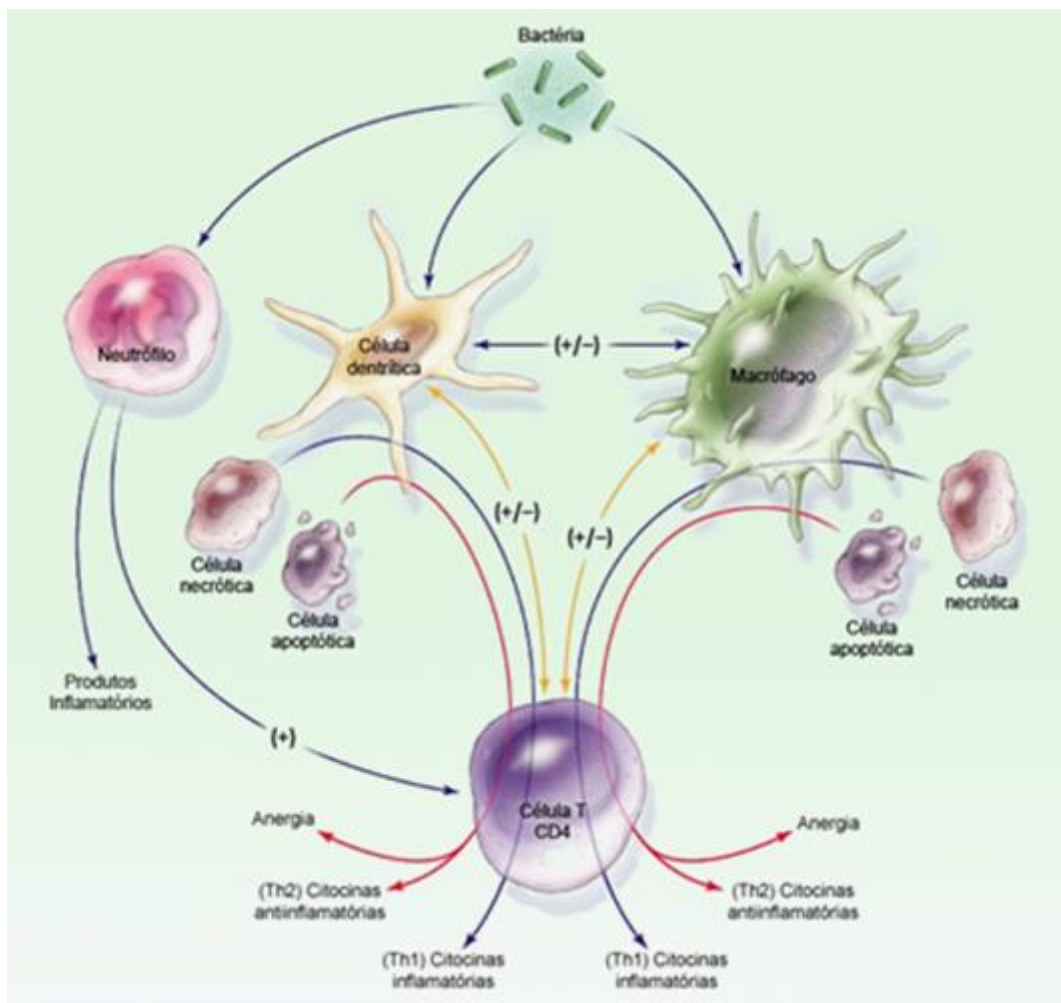


Figura 1– Mecanismos envolvidos na SIRS e CARS.

Resposta aos patógenos envolvendo a comunicação entre diferentes tipos de células imunológicas, incluindo macrófagos, células dendríticas e células T CD4. Macrófagos e células dendríticas são ativados pela fagocitose e digestão de bactérias, e pelo estímulo através de citocinas (como o interferon γ) secretado pela célula T CD4. As células T CD4 tornam-se ativas pela estimulação através das células apresentadoras de antígenos (macrófagos ou células dendríticas). Por exemplo, macrófagos e células dendríticas secretam IL-12, o que leva a célula T CD4 (célula T auxiliar tipo 1 [*Th1*]) a secretar citocinas inflamatórias. As células T CD4 podem ter um perfil anti-inflamatório (célula T auxiliar tipo 2 [*Th2*]) secretando IL-10, cuja função é suprimir a ativação do macrófago. Dependendo de vários fatores (tipo de organismo, local da infecção), macrófagos e células dendríticas responderam a infecção induzindo a produção de citocinas inflamatórias ou anti-inflamatórias, ou ainda causando uma redução global na produção de citocinas (anergia). Se, por exemplo, estas células tiverem ingerido previamente células necróticas, elas induzirão linfócitos com perfil inflamatório (*Th1*). A ingestão de células apoptóticas, por sua vez, pode induzir linfócitos com perfil anti-inflamatório (*Th2*) ou anérgicos. O sinal positivo denota ativação, e o sinal negativo, supressão; em casos onde ambos estiverem presentes a ativação ou supressão depende dos diversos fatores envolvidos. Fonte: Adaptado de Hotchkiss, R. S. ET AL. N Engl J Med 2003;348:138-150.

Ao contrário da SIRS, a CARS tem papel fundamental na atenuação da resposta inflamatória. Esta resposta imune secundária é caracterizada pela produção de moléculas imunomodulatórias que controlam as citocinas pró-inflamatórias⁽⁵⁾.

Principais representantes destas moléculas anti-inflamatórias monócitos-derivadas são a interleucina-10 (IL-10), o antagonista do receptor de interleucina-1 (IL-1Ra) e o receptor solúvel de TNF (sTNF-R). A IL-10 é a citocina anti-inflamatória mais potente e tem papel central na regulação da resposta imune a patógenos diversos. Ela é liberada por monócitos e inibe a produção do TNF- α , IL-1 β e IL-6 gerando mecanismo que, embora não conhecido na sua totalidade, é eficiente na atenuação da resposta inflamatória^(6,7). Entretanto, elevações de até 1000 vezes a sua taxa de produção basal são necessárias para antagonizar o efeito hemodinâmico gerado pela IL-8⁽⁸⁾.

Vários estudos demonstram que a LRA é uma doença caracterizada por inflamação sistêmica que pode levar a disfunção do órgão, ou ainda, a complicações não renais. Na LRA a IL-6 se apresenta aumentada após 2 horas^(9,10). De fato, o aumento das citocinas pró-inflamatórias está associado a desfechos adversos como ventilação mecânica prolongada⁽⁹⁾ e aumento da mortalidade⁽¹¹⁻¹³⁾.

Zhang et al. em um estudo de coorte com 960 pacientes adultos que foram submetidos a cirurgia cardíaca avaliaram os níveis de IL-6 e IL-10 no

pré-operatório e nos dias 1, 2 e 3 pós cirurgia e não observaram diferença na IL-10 no pré-operatório entre os pacientes que desenvolveram LRA. Entretanto, os níveis de IL-6 e IL-10 aumentaram nos 3 momentos pós-operatórios no grupo com LRA⁽¹⁴⁾.

Níveis elevados de TNF α também têm sido associados ao risco de LRA em pacientes com sepse e submetidos à cirurgia cardiovascular^(15,16).

O TNF- α estimula a síntese de outras citocinas pró-inflamatórias, moléculas de adesão e citocinas anti-inflamatórias, particularmente a IL-10. O equilíbrio entre as citocinas pró e anti-inflamatórias afeta o resultado clínico da LRA⁽¹⁷⁾. De fato, o TNF- α circulante em altas concentrações tem sido associado a desfechos clínicos adversos em pacientes com LRA⁽¹⁸⁾.

Distúrbio Mineral Ósseo na DRC

O distúrbio mineral ósseo (DMO) é uma complicação frequente nos pacientes com doença renal crônica (DRC), onde os mecanismos de controle da homeostase do cálcio e fósforo sofrem alterações de acordo com a diminuição da função renal⁽¹⁹⁾. A hipocalcemia, hiperfosfatemia e hipovitaminose D são comuns, principalmente nos pacientes com DRC em tratamento dialítico⁽²⁰⁾.

A vitamina D para agir no organismo precisa estar em sua forma ativa, existem duas formas de vitamina D pré-ativa, a primeira delas é o ergocalciferol (D2), encontrada em vegetais e frutas, e a segunda é o colecalciferol (D3), produzida por humanos através de estímulo de raios ultravioleta do tipo B sobre a pele. Quando chegam ao fígado, através da circulação sanguínea, são convertidas em 25 vitamina D pela enzima 25-hidroxilase, para em seguida serem convertidas nos rins em 1,25 vitamina D, através da ação da enzima 1 α -hidroxilase⁽²⁰⁾.

Sabe-se que a vitamina D regula o sistema renina-angiotensina-aldosterona, aumenta a secreção de insulina e a sensibilidade dela, inibe a proliferação de células musculares do tipo lisas vasculares, protege a função endotelial fisiológica, modula processos inflamatórios, inibe a atividade anticoagulante e inibe a hipertrofia e a proliferação de células miocárdicas.

Todos esses benefícios ajudam a explicar a relação entre a deficiência de vitamina D e o aumento da mortalidade quando pacientes apresentam hipovitaminose D, especialmente mortes por causa cardiovascular, como disfunção e/ou hipertrofia do ventrículo esquerdo observado nos pacientes com DRC⁽²¹⁾.

A hipovitaminose D na DRC está relacionada à deficiência da enzima 1 α -hidroxilase produzida pelos rins, também pode ser causada por uma dieta pobre em vitamina D, por baixa exposição ao sol e por causas multifatoriais, como perda de proteínas que se ligam à vitamina D, devido à proteinúria elevada⁽²²⁾.

Desta forma, a deficiência renal na produção de 1,25 vitamina D, fator que afeta a absorção intestinal de cálcio, levando a uma hipocalcemia⁽²³⁾ favorece a doença óssea e calcificação vascular no paciente renal crônico, agregando mais um fator de risco para DCV⁽²⁴⁾.

Os níveis de 1,25 vitamina D começam a diminuir no estágio 2 da DRC e continuam diminuindo à medida que a taxa de filtração glomerular declina⁽²⁵⁾, níveis baixos de 1,25 vitamina D são observados na grande maioria dos pacientes que iniciam hemodiálise, sendo que durante os primeiros 90 dias de diálise os níveis mais baixos se correlacionam significativamente com maior mortalidade⁽²⁶⁾. A hipovitaminose D entre os pacientes com DRC e no estágio dialítico é comumente observada associada ao hiperparatireoidismo secundário⁽²⁷⁾, resistência a eritropoietina⁽²⁸⁾, anemia⁽²⁹⁾, resposta imunológica comprometida^(30,31) e aumento de morbidade e mortalidade⁽³²⁾.

Na população em geral, os baixos níveis de 1,25 vitamina D foram associados à hipertrofia ventricular esquerda, insuficiência cardíaca e maior mortalidade⁽³³⁻³⁵⁾. Por outro lado, sabe-se pouco em relação a deficiência de vitamina D e sua associação entre os pacientes com LRA⁽³⁶⁾.

Adicionalmente, pacientes com DRC, principalmente em estágios dialíticos, também apresentam um aumento da síntese do Fator de Crescimento de Fibroblastos 23 (FGF-23), um hormônio secretado pelos osteócitos. Suas principais funções são controlar a reabsorção renal de fósforo^(37,38), modular a produção do PTH e da 1,25 vitamina D^(39,40) e participar

da homeostase mineral, sendo identificado como um hormônio fosfatúrico no início do ano 2000⁽⁴¹⁾. Desta forma, a hiperfosfatemia e hipovitaminose D, também é resultado do aumento da produção de FGF-23 no paciente renal crônico, especialmente quando em estágios avançados^(23, 42).

Uma das consequências da hipocalcemia, deficiência de calcitriol e da hiperfosfatemia no renal crônico é a hiperplasia das glândulas paratireoides seguida de hiperparatireoidismo secundário⁽²⁴⁾ em decorrência de elevada produção de paratormônio (PTH), que contribui para maior reabsorção óssea^(23,43). Todas essas alterações minerais e hormonais, incluindo o hiperparatireoidismo secundário, levam à uma importante desregulação da fisiologia do sistema esquelético na DRC e associação com maior mortalidade por calcificação vascular⁽⁴²⁾, sendo importante a monitorização do cálcio, fósforo, PTH e FGF-23, em pacientes com DRC nos estágios 3 a 5 da doença⁽²⁴⁾.

Nos últimos anos grande parte das observações clínicas e estudos experimentais mostraram que o FGF-23 é um biomarcador para DRC, uma vez que seus níveis se elevam antes das alterações de outros parâmetros séricos tais como, creatinina, fósforo, PTH e vitamina D⁽⁴⁴⁻⁴⁶⁾.

Isakova et al. em um estudo de coorte prospectivo multicêntrico analisou cerca de 4000 indivíduos e observaram que os pacientes com DRC apresentam níveis séricos elevados de FGF-23. Adicionalmente, observaram que os níveis de FGF-23 aumentam antes do aparecimento da hiperfosfatemia e do PTH⁽⁴⁶⁾.

Embora esteja descrito na DRC que o aumento do FGF-23 ocorra como uma resposta para diminuir a "retenção do fósforo", a precoce redução dos níveis séricos de fósforo associada a níveis já elevados de FGF-23 sugere que talvez a própria lesão renal, mesmo que leve, possa estimular a secreção do FGF-23, causando o aumento da produção de algum fator que estimularia sua secreção⁽⁴⁶⁾. Além disso, o FGF-23 pode ser considerado um preditor de pior desfecho em pacientes com DRC uma vez que o seu aumento está associado a progressão rápida da DRC e ao aumento da morbidade e mortalidade cardiovascular⁽⁴⁷⁻⁵¹⁾.

Além do complexo mecanismo do eixo Ca, P, PTH e FGF-23, a relação entre inflamação e o DMO na DRC já é conhecida há alguns anos, pois a presença de hiperfosfatemia, hipovitaminose D ou hiperparatireoidismo pode agravar as alterações vasculares, com lesão de células endoteliais e calcificação vascular, induzidas pela inflamação⁽⁵²⁾. Porém, recentemente, grupos distintos de pesquisadores mostraram que esta associação pode ser ainda mais estreita.

Em modelos experimentais de DRC e inflamação, foi demonstrado aumento da síntese de FGF-23 pelo osteócito. Este, por sua vez, é capaz de estimular a síntese hepática de IL-6 e proteína C reativa, criando um círculo vicioso de inflamação e alterações do metabolismo mineral⁽⁵³⁾. Portanto, podemos supor que pacientes com DRC e hiperparatireoidismo secundário, que comumente apresentam níveis muito elevados de FGF-23 teriam mais um estímulo para manter um estado permanente de inflamação, resultando em piora das lesões vasculares e ósseas.

A esclerostina é uma proteína secretada pelos osteócitos, codificada pelo gene SOST, expressa primariamente por osteócitos maduros, não expressa por osteócitos jovens e osteoblastos e é um potente antagonista da via de sinalização Wingless (Wnt)⁽⁵⁴⁾, uma via responsável pelo controle da osteoblastogênese⁽⁵⁵⁾.

Nos últimos anos a via de sinalização Wnt emergiu como um componente regulador do controle da formação e da reabsorção óssea⁽⁵⁶⁾. Várias são as vias de sinalização onde as proteínas Wnt participam, no entanto, a via Wnt / β -catenina⁽⁵⁷⁾ é a que está mais associada com a formação óssea.

A via de sinalização Wnt / β -catenina é ativada pela ligação de proteínas Wnt a complexos receptores de superfície celular compostos por membros da família Frizzled e de receptores de lipoproteínas de baixa densidade LPR5 e 6, que estabiliza a β catenina, induz sua translocação para o núcleo e ativa transcrição gênica. Também conhecida como via de sinalização canônica, controla a transcrição de células-tronco mesenquimais favorecendo a

diferenciação osteoblástica, promove a maturação e sobrevivência de osteoblastos e osteócitos e inibe a geração de osteoclastos^(58,59).

A esclerostina inibe a via de sinalização Wnt / β -catenina através de sua ligação a LRP5 ou 6⁽⁶⁰⁾, evitando a ligação das proteínas Wnt a seus receptores, desse modo, regula negativamente a formação óssea e consequentemente está associada a maior reabsorção óssea⁽⁶¹⁾. A esclerostina pode exercer seus efeitos inibitórios na formação óssea, inibindo não apenas a proliferação, diferenciação e função das células osteoblásticas, mas também facilitando sua apoptose⁽⁶²⁾.

Tem sido descrito que a expressão do gene SOST pode ser regulada por estímulos como, hormônios^(63,64), fatores de crescimento⁽⁶¹⁾ e forças mecânicas⁽⁶⁵⁻⁶⁷⁾. Os hormônios androgênicos, estrogênicos e PTH inibem a sua expressão^(68,69), por outro lado o excesso de glicocorticóides aumenta sua produção nos osteócitos⁽⁷⁰⁾. Em relação a vitamina D os dados são contraditórios⁽⁷¹⁾. Wijenayaka et al. mostraram que a 1,25 vitamina D induz a expressão de Sost / Esclerostina em células Saos-2 (linha celular derivada do osteossarcoma)⁽⁷²⁾, por outro lado St John et al. relataram inibição de sua transcrição⁽⁷³⁾, da mesma forma, foram relatados dados clínicos igualmente conflitantes sobre os efeitos da vitamina D nos níveis de Esclerostina circulante⁽⁷⁴⁻⁷⁸⁾.

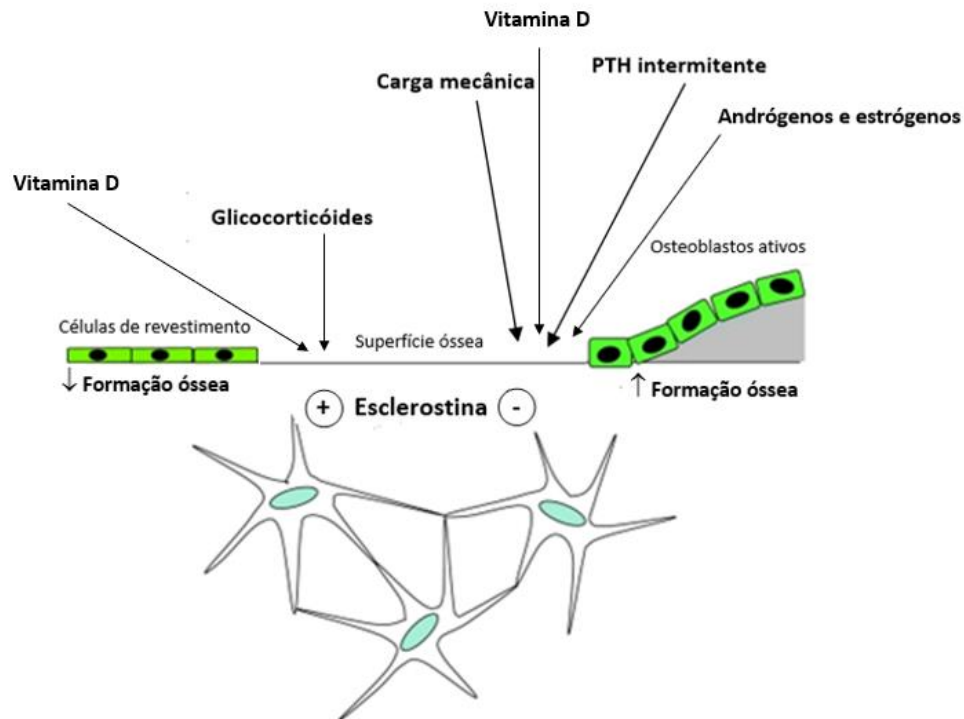


Figura 2 – Modelo esquemático para a regulação do controle da formação óssea pela esclerostina.

A esclerostina pode exercer o seu efeito inibitório na formação do osso, impedindo a ativação de células de revestimento, bem como a inativação de osteoblastos ativos.

Adaptado de: Moester, M. J. et al. *Calcif Tissue Int*, v. 87, n. 2, p. 99-107, Aug 2010.

Alguns estudos, relatam que pacientes com DRC apresentam aumento gradativo da esclerostina à medida que a função renal declina; sendo que no estágio 5 da doença os níveis estão cerca de 3 a 4 vezes superiores quando comparados com a população normal^(79,80). Ao contrário, Cejka et al. observaram um aumento da excreção renal de esclerostina no declínio da função renal, concluindo que o aumento da esclerostina na DRC não se deve exclusivamente a retenção renal⁽⁸¹⁾. Por sua vez, Sabah et al. sugerem um aumento de produção de esclerostina nos pacientes urêmicos⁽⁸²⁾. Entretanto, não está claro se o aumento da esclerostina sérica é atribuível à diminuição da depuração renal, ao excesso de produção ou a ambos.

LRA e Distúrbio Mineral Ósseo

O efeito da perda da função renal crônica sobre o metabolismo ósseo é melhor compreendido quando comparado com a perda da função renal aguda,

na qual pouco se sabe sobre alterações do distúrbio mineral ósseo e seus biomarcadores⁽⁸³⁾. A hipocalcemia e hiperfosfatemia são comumente observadas nos pacientes com LRA causada por rabdomiólise, entretanto a literatura sobre as alterações dos biomarcadores do distúrbio mineral ósseo nesta população é relativamente limitada⁽⁸⁴⁾.

Em um estudo com dois modelos animais de LRA induzida por toxina, observou-se que os níveis de FGF-23 aumentaram de forma independente das alterações séricas dos níveis de cálcio, fósforo, vitamina D ou PTH.

Adicionalmente pacientes submetidos a cirurgia cardíaca também apresentam níveis elevados de FGF-23 de forma independente de alterações nos níveis de metabólitos da vitamina D, PTH ou fosfato^(85,86).

Em relação a vitamina D, a sua deficiência entre os pacientes e sua associação com LRA é pouco conhecida⁽³⁶⁾; recentemente uma meta-análise enfatizou a falta de estudos expressivos que considerem medidas em série dos níveis de 25 vitamina D e 1,25 vitamina D, juntamente com outros marcadores do metabolismo da vitamina D⁽⁸⁷⁾.

Pacientes da UTI com deficiência de vitamina D, quando comparados aos que possuem níveis normais, apresentam taxas mais altas de LRA e frequentemente necessidade de terapia de reposição renal⁽⁸⁸⁾.

Baseado no complexo mecanismo fisiopatológico da inflamação vs. DMO na DRC, hipotetizamos que a inflamação pode também modular os biomarcadores do distúrbio mineral ósseo nos pacientes com LRA.

Objetivo

Objetivo Geral

O objetivo do presente estudo foi investigar a associação da inflamação sobre os biomarcadores do distúrbio mineral ósseo em pacientes com LRA.

Objetivo Específico

Avaliar a associação de citocinas pró e anti-inflamatórias com FGF-23, esclerostina, PTH, 25 vitamina D, cálcio e fósforo.

Material e Métodos

Métodos**Amostra**

Trata-se de um estudo do tipo coorte transversal retrospectivo, onde os soros de todos os pacientes que participaram do primeiro estudo principal “Polimorfismo genético de pacientes graves com LRA”, aprovado pelo comitê de Ética da Universidade Federal de São Paulo sob nº. 1520/05 (Anexo 1) e do Hospital Israelita Albert Einstein sob nº. 06/381 (Anexo 2), estavam armazenados em freezer -80°C há 8 anos e com previsão de realização de futuras investigações, conforme termo de consentimento livre e esclarecido.

Desta forma, foram estudados soros de 160 pacientes graves, avaliados pelo escore de APACHE II⁽⁸⁹⁾ internados em Unidade de Terapia Intensiva (UTI), sendo o grupo controle composto por pacientes que não desenvolveram LRA e o grupo caso composto por pacientes que desenvolveram LRA.

Grupo Controle (CONT) – pacientes de Terapia Intensiva sem Lesão Renal Aguda.

Grupo Caso (LRA) – pacientes de Terapia Intensiva com Lesão Renal Aguda.

O nível sérico basal de creatinina foi definido como o nível obtido na admissão na UTI.

Critérios de Inclusão

Para inclusão no estudo, os indivíduos preencheram os seguintes critérios:

1. Preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, por parte do paciente, ou dos familiares ou responsáveis (somente em casos de impossibilidade do paciente). CEP Einstein 06/381 e CEP UNIFESP 1520/05.
2. Homens e mulheres maiores de 18 anos de idade.
3. Internação em UTI há menos de 24 horas com critérios de SIRS.
4. Pacientes que evoluíram para LRA no máximo em até 7 dias conforme os critérios AKIN “Stage1” (Figura 3)

AKIN SCORE		
	Cr Criteria	Urine Output (UO) Criteria
STAGE 1	Increased Cr x 1,5 or $\geq 0,3$ mg/dl	UO < 0,5 ml/kg/hr x 6 hr
STAGE 2	Increased Cr x 2,0	UO < 0,5 ml/kg/hr x 12hr
STAGE 3	Increased Cr x 3 or Cr ≥ 4 mg/dl (with acute rise of $\geq 0,5$ mg/dl)	UO < 0,3 ml/kg/hr x 24hr or anuria x 12hr

Figura 3 – Critérios AKIN de Lesão Renal Aguda.

Critérios de Exclusão

Quaisquer dos seguintes itens foram considerados critérios de exclusão do estudo:

1. Pacientes terminais não mais considerados para medidas de reanimação.
2. Transplantados renais.
3. Participantes de programa dialítico.
4. Doenças infecciosas.
5. Doenças degenerativas.
6. Impossibilidade de assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

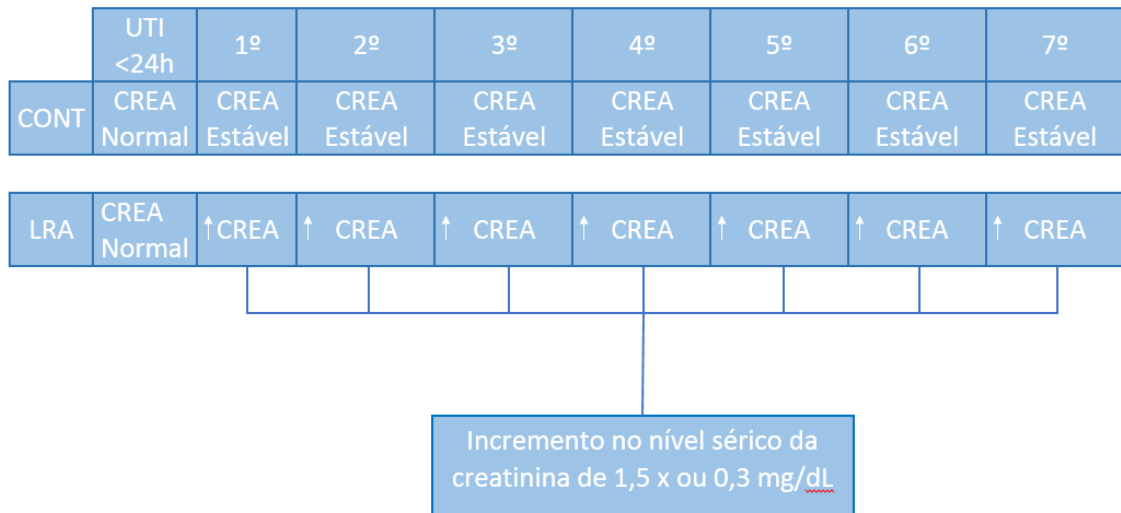
Métodos

Figura 4 – Fluxograma do desenho da amostra.

O paciente do grupo CONT manteve sua creatinina sérica estável e dentro dos valores de referência, sendo sua amostra coletada no 7º dia. O paciente do grupo LRA teve sua amostra coletada no dia em houve o incremento no nível sérico da creatinina.

Métodos

Foram coletados 10 mL de sangue em tubo com ativador de coágulo jateado na parede e gel separador para obtenção de soro, após a coleta o material foi centrifugado a 3.500 rpm por 15 minutos à 4°C. Em seguida o soro foi aliquotado em criotubos e armazenados em freezer -80°C para posterior análise.

As dosagens de FGF-23, TNF- α , SOST, IL-6 e IL-10 foram analisadas por kits de ensaios comerciais por método enzimaimunométrico (Enzyme Linked Immunosorbent Assay – ELISA) (Figura 5), de acordo com os protocolos dos fabricantes, conforme quadro 2.

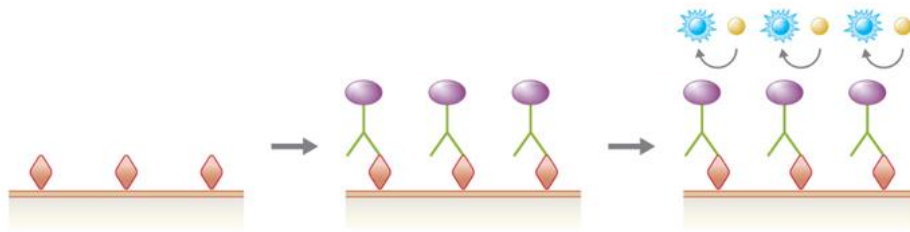
Métodos

Figura 5 – Esquema básico do método ELISA.

Os imunoenaios enzimáticos, como o ELISA direto aqui mostrado, usam um conjugado enzima-anticorpo para fornecer um substrato detectável ao local de um antígeno. O substrato pode ser uma molécula incolor que é convertida em um produto final colorido ou uma molécula fluorescente inativa que fluoresce após a ativação da enzima.

Fonte: https://cnx.org/contents/5CvTdmJL@4.4:SQQuHr8C@3/EIAs-and-ELISAs#OSC_Microbio_20_04_EIA

Quadro 2 – Descrição dos ensaios de ELISA e suas respectivas sensibilidades.

ANALITO	FABRICANTE	CATÁLOGO	SENSIBILIDADE
FGF-23	Immutopics, Inc. – USA	60-6600	1,5 pg/mL
TNF- α	R&D Systems – USA & Canada	HSTA00D	0,106 pg/mL
Esclerostina	R&D Systems – USA & Canada	DSST00	1,74 pg/mL
IL-6	R&D Systems – USA & Canada	HS600B	0,039 pg/mL
IL-10	R&D Systems – USA & Canada	HS100C	0,09 pg/mL

FGF-23 – Fator de Crescimento de Fibroblastos 23, TNF- α – Fator de Necrose Tumoral alfa, IL-6 – Interleucina 6, IL-10 – Interleucina 10.

As dosagens Ca e P foram analisadas por método colorimétrico e as dosagens de 25(OH)D e PTH por método eletroquimioluminométrico (electrochemiluminescenceimmunoassay – ECLIA) (Figura 6), através de kits de ensaios comerciais fabricados pela ROCHE DIGNÓSTICA de acordo com as instruções de bula, na plataforma modular Cobas® 6000. As sensibilidades dos testes encontram-se no quadro 3.

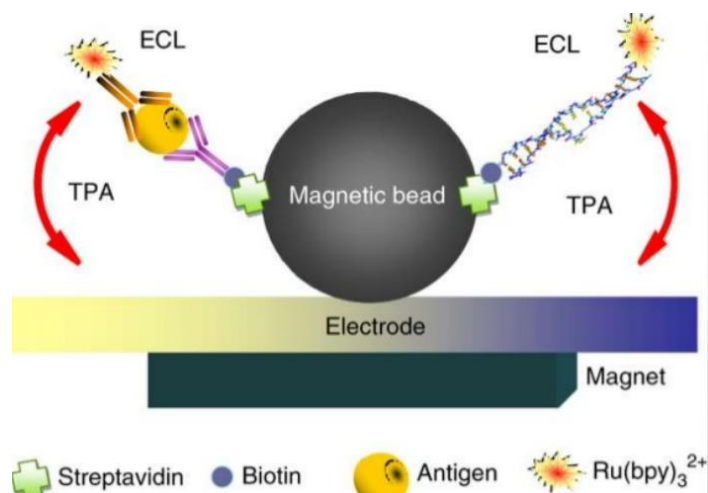
Métodos

Figura 6 – Esquema básico do método ECLIA.

O anticorpo monoclonal biotilado, antígeno e anticorpo monoclonal específico marcado com complexo de rutênio formam um complexo sanduíche. Após a adição de micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo liga-se a fase sólida através da interação da biotina e estreptavidina. Micropartículas são capturadas magneticamente na superfície do eletrodo, ocorre uma aplicação de corrente elétrica ao eletrodo que induz uma emissão quimioluminescente, medida por um fotomultiplicador.

Fonte: https://www.slideshare.net/anurag_yadav/electrochemiluminescence

Quadro 3 – Descrição dos ensaios da Roche e suas respectivas sensibilidades

ANALITO	REFERÊNCIA	SENSIBILIDADE
Cálcio	05061482190	0,8 mg/dL
Fósforo	03183793122	0,31 mg/dL
25(OH)D	07464215190	3,0 ng/mL
PTH	04892470190	1,20 pg/mL

25(OH)D - 25 Hidroxivitamina D, PTH – Paratormônio.

Análise Estatística

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste Kolmogorov-Smirnov. As variáveis numéricas contínuas, expressas de acordo com sua distribuição paramétrica ou não paramétrica em média e desvio padrão ou mediana e percentis (25-75%), respectivamente. Os dados categóricos são descritos em valores absolutos e porcentagem da amostra total. A análise entre os grupos foi realizada pelo teste t não pareado para as variáveis que apresentaram

Métodos

distribuição paramétrica e o Mann-Whitney para não paramétricas. A correlação entre as variáveis foi analisada pelo teste de Pearson e Spearman, quando apropriados.

Um nível de significância de 5% ($p < 0,05$) foi estabelecido para os testes estatísticos. As análises foram realizadas pelo software IBM SPSS - Statistical Package for the Social Sciences para Windows (IBM Corp., Armonk, N. Y., U.S.A.) versão 24 e os gráficos pelo software GraphPad Prism 6 (GraphPad Software Inc., California, U.S.A.).

Resultados

Foram avaliados 160 pacientes compondo 2 grupos, definidos como grupo CONT (n = 77) e grupo LRA (n = 83).

Tabela 1 – Dados epidemiológicos dos pacientes nos grupos CONT e LRA.

	CONT (n = 77)	LRA (n = 83)	p
APACHE II	19 ±5	23 ± 7	<0,01
SEPSE	21 (27%)	27 (33%)	0,47
HAS	35 (45%)	39 (47%)	0,87
DM	18 (23%)	23 (28%)	0,53
DCV	22 (29%)	19 (23%)	0,41
DVA	18 (23%)	28 (34%)	0,15
ESTATINA	11 (14%)	14 (17%)	0,65
VM UTI	18 (23%)	31 (37%)	0,06
ÓBITO	3 (4%)	14 (17%)	<0,01

HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica, DM – Diabetes Mellitus, DCV – Doença Cardiovascular, DVA – Droga Vasoativa, VM UTI – Ventilação Mecânica na Unidade de Terapia Intensiva.

De acordo com o descrito na tabela 1, apenas APACHEII e óbito apresentaram diferenças entre os grupos.

Tabela 2 – Dados bioquímicos e demográficos dos pacientes nos grupos CONT e LRA.

	CONT (n = 77)	LRA (n = 83)	p
Idade, anos	74 ±14	71 ±17	0,21
Gênero Feminino	38 (49%)	42 (50%)	0,98
IMC, Kg/m ²	26 ±5	27 ± 6	0,30
Creatinina, mg/dL	0,9 ±0,5	1,9 ±1,3	< 0,01
Cistatina C, ng/mL	0,90 (0,80-1,20)	1,50 (1,10-2,20)	< 0,01
Albumina, g/dL	3,1 ±0,6	2,9 ±0,5	0,09
IL-6, pg/mL	11,8 (7,0-19,3)	21,2 (12,1-31,7)	< 0,01
TNF-α, pg/mL	7,0 (6,0-8,0)	8,0 (6,6-10,6)	< 0,01
PCR , mg/L	6,2 (1,1-15,0)	6,4 (1,8-15,0)	0,31
IL-10, pg/mL	0,97 (0,91-1,08)	1,07 (0,95-1,54)	< 0,01
Cálcio Total, mg/dL	8,0 ±1,1	7,9 ±1,1	0,24
Fósforo, mg/dL	3,9 ±1,2	4,5±1,7	0,01
Paratormônio, pg/mL	5,5 (2,9-10,7)	7,8 (3,5-17,5)	0,04
Vitamina D, ng/mL	16,1 ±6,5	13,6 ±7,6	0,01
FGF-23, pg/mL	58 (1,5-193)	48 (1,5-149)	0,35
Esclerostina, pg/mL	15,2 ±4,8	80,0 ±24,4	0,01

IMC – Índice de Massa Corporal, IL-6 – Interleucina 6, TNF-α – Fator de Necrose Tumoral Alfa, PCR – Proteína C Reativa, IL-10 – Interleucina 10, FGF-23 – Fator de Crescimento de Fibroblastos 23.

Na tabela 2 observa-se conforme esperado, que os pacientes do grupo LRA apresentaram níveis séricos de creatinina e cistatina C significativamente mais elevados; as variáveis albumina, PCR, cálcio, e FGF-23 não apresentaram diferenças entre os grupos. As citocinas IL-6, TNF-α e IL-10 mostraram-se diferentes entre os grupos com seus níveis mais elevados no grupo LRA, houve diferença também nos demais marcadores do metabolismo mineral. Fósforo PTH e esclerostina apresentaram concentrações mais elevadas no grupo LRA e vitamina D reduzidas.

Tabela 3 – Dados bioquímicos e demográficos dos pacientes conforme escore APACHE II.

	APACHE II Escore < 20 (n = 85)	APACHE II Escore > 20 (n = 75)	p
Idade, anos	70 ±17	75 ±14	0,07
Gênero Feminino	45 (53%)	35 (47%)	0,43
IMC, Kg/m ²	27 ±5	26 ±6	0,33
Creatinina, mg/dL	1,0 ±0,6	1,8 ±1,4	<0,01
Cistatina C, ng/mL	1,1 ±0,6	1,8 ±1,0	<0,01
Albumina, g/dL	3,0 ±0,6	3,0 ±0,6	0,55
IL-6, pg/mL	17,5 ±9,9	18,0 ± 9,9	0,76
TNF-α, pg/mL	7,5 ±1,8	9,2 ±4,9	<0,01
PCR , mg/L	8,8 ±8,9	9,6 ±9,0	0,60
IL-10, pg/mL	2,4 ±10,8	2,8 ±11,6	0,80
Cálcio Total, mg/dL	7,9 ±1,1	8,0 ± 1,1	0,76
Fósforo, mg/dL	4,1 ±1,4	4,4 ±1,8	0,27
Paratormônio, pg/mL	9,1 ±10,5	13,9 ±18,0	0,04
Vitamina D, ng/mL	15,9 ±7,5	14,0 ±7,5	0,12
FGF-23, pg/mL	86 ±104	126 ±154	0,06
Esclerostina, pg/mL	50 ±192	47 ±131	0,90

IMC – Índice de Massa Corporal, IL-6 – Interleucina 6, TNF-α – Fator de Necrose Tumoral Alfa, PCR – Proteína C Reativa, IL-10 – Interleucina 10, FGF-23 – Fator de Crescimento de Fibroblastos 23.

Na tabela 3 observamos que os pacientes com maior escore APACHE II também apresentaram níveis séricos de creatinina e cistatina C significativamente mais elevados; as variáveis albumina, IL-6, PCR, IL-10, cálcio, fósforo, vitamina D, FGF-23 e esclerostina não apresentaram diferenças entre os grupos. O TNF-α e o PTH mostraram-se diferentes entre os grupos com seus níveis mais elevados nos pacientes com maior escore APACHEII.

Tabela 4 – Dados bioquímicos e demográficos dos pacientes conforme mortalidade.

	ÓBITO		p
	NÃO (n = 143)	SIM (n = 17)	
Idade, anos	72 ±16	75 ±14	0,58
Gênero Feminino	69 (48%)	11 (65%)	0,20
IMC, Kg/m ²	26 ±5	27 ±9	0,70
APACHE II	20 ±6	25 ±7	<0,01
Creatinina, mg/dL	1,3 ±1,0	2,1 ±1,4	0,03
Cistatina C, ng/mL	1,3 ±0,7	2,4 ±1,2	<0,01
Albumina	3,0 ±0,6	2,8 ±0,5	0,70
IL-6, pg/mL	17 ±10	22 ±9	0,04
TNF-α, pg/mL	7,9 ±3,0	12,1 ±6,2	<0,01
PCR, mg/L	8,4 ±8,0	15,9 ±12,9	<0,01
IL-10, pg/mL	2,0 ±8,4	7,3 ±24,0	0,01
Cálcio Total, mg/dL	8,0 ±1,0	7,6 ± 1,4	0,20
Fósforo, mg/dL	4,1 ±1,4	5,1 ±2,4	0,01
Paratormônio, pg/mL	11 ±15	14 ±15	0,50
Vitamina D, ng/mL	15,4 ±8	12,0 ±6	0,06
FGF-23, pg/mL	102 ±130	129 ±142	0,40
Esclerostina, pg/mL	43 ±161	97 ±202	0,20

IMC – Índice de Massa Corporal, IL-6 – Interleucina 6, TNF-α – Fator de Necrose Tumoral Alfa, PCR – Proteína C Reativa, IL-10 – Interleucina 10, FGF-23 – Fator de Crescimento de Fibroblastos 23.

Na tabela 4 os pacientes que evoluíram para óbito apresentaram maior escore APACHE II e níveis séricos de creatinina e cistatina C significativamente mais elevados, as variáveis albumina, cálcio, PTH, vitamina D, FGF-23 e esclerostina não apresentaram diferenças entre os grupos. As citocinas IL-6, TNF-α e IL-10 mostraram-se diferentes entre os grupos com seus níveis mais elevados no grupo que evoluiu para óbito, houve diferença também entre os

grupos nos níveis de PCR e fósforo que estavam mais elevados nos pacientes que evoluíram para óbito.

Tabela 5 – Correlação entre os níveis séricos de creatinina, cistatina C, IL-6, IL-10, PCR, TNF- α , Ca, P, VIT D, PTH, FGF-23 e esclerostina.

		CIST C	IL-6	IL-10	PCR	TNF- α	Ca	P	VIT D	PTH	FGF-23	ESCL
CREA	r	0,69	0,18	0,23	0,16	0,32	0,07	0,35	-0,11	0,17	0,03	0,14
	p	<0,01	0,02	<0,01	0,04	<0,01	0,40	<0,01	0,18	0,04	0,70	0,09
CIST C	r		0,30	0,30	0,30	0,56	-0,04	0,28	-0,35	0,15	0,01	0,14
	p		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,69	<0,01	<0,01	0,09	0,98	0,11
IL-6	r			0,43	0,46	0,55	-0,24	0,16	-0,28	0,03	-0,13	0,32
	p			<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,04	<0,01	0,72	0,09	<0,01
IL-10	r				0,31	0,51	-0,26	-0,01	-0,22	0,13	-0,18	0,07
	p				<0,01	<0,01	<0,01	0,93	<0,01	0,10	0,03	0,36
PCR	r					0,38	-0,30	-0,04	-0,24	0,12	-0,06	0,08
	p					<0,01	<0,01	0,63	<0,01	0,14	0,47	0,33
TNF- α	r						-0,22	0,15	-0,37	0,03	-0,16	0,26
	p						<0,01	0,07	<0,01	0,67	0,05	<0,01
Ca	r							0,16	0,14	-0,25	0,10	-0,06
	p							0,05	0,07	<0,01	0,19	0,43
P	r								-0,13	-0,17	-0,04	0,11
	p								0,11	0,04	0,60	0,18
Vit D	r									0,01	0,04	-0,04
	p									0,87	0,59	0,60
PTH	r										0,17	0,04
	p										0,03	0,60
FGF-23	r											-0,22
	p											<0,01

CREA – Creatinina, CIST C – Cistatina C, IL-6 – Interleucina 6, IL-10 – Interleucina 10, PCR – Proteína C Reativa, TNF- α – Fator de Necrose Tumoral Alfa, Ca – Cálcio, P – Fósforo, VIT D – Vitamina D, PTH – Paratormônio, FGF-23 – Fator de Crescimento de Fibroblasto 23, ESCL – Esclerostina.

Na análise de correlação foi observado que quanto pior a função renal representada pela maior creatinina e cistatina C, maiores foram os níveis séricos dos marcadores de inflamação, do fósforo, do PTH e menores os da vitamina D. Houve uma associação positiva entre as concentrações dos marcadores de inflamação e à medida que seus níveis séricos aumentam os do

cálcio e da vitamina D diminuem; a interleucina 6 se correlacionou positivamente com o fósforo e com a esclerostina; a interleucina 10 associou-se de forma negativa com o FGF-23; o TNF- α se associou positivamente com a esclerostina; o PTH se correlacionou com o FGF-23 de forma positiva e negativamente com o cálcio e o fósforo e a esclerostina se associou negativamente com o FGF-23, vide tabela 5.

Não observamos diferença entre os níveis de esclerostina em relação as doenças de base: sepse: $p = 0,26$; hipertensão arterial : $p = 0,71$ e diabetes mellitus: $p = 0,98$.

Não foi observada associação entre esclerostina e idade; esclerostina e dias de hospitalização; idade e dias de hospitalização, $r = - 0,08$ e $p = 0,30$; $r = 0,10$ e $p = 0,21$; $r = - 0,07$ e $p = 0,38$, respectivamente

Gráfico 1 – Correlação entre os níveis séricos de creatinina e TNF- α .

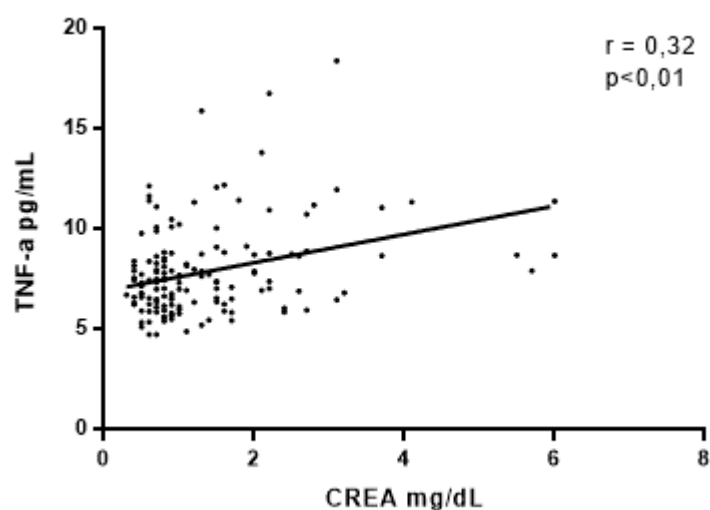


Gráfico 2 – Correlação entre os níveis séricos de creatinina e fósforo.

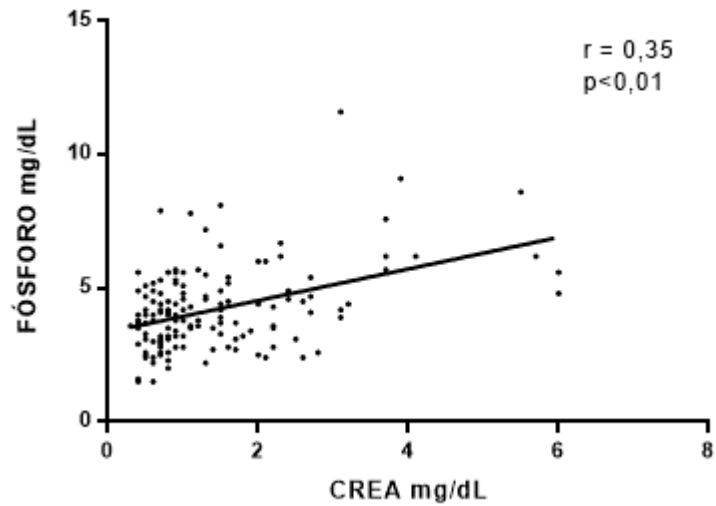


Gráfico 3 – Correlação entre os níveis séricos de TNF- α e esclerostina.

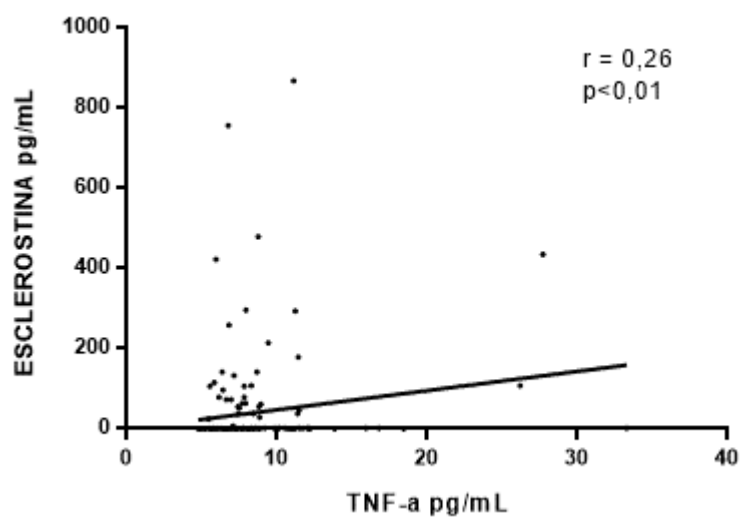


Gráfico 4 – Correlação entre os níveis séricos de interleucina 6 e esclerostina.

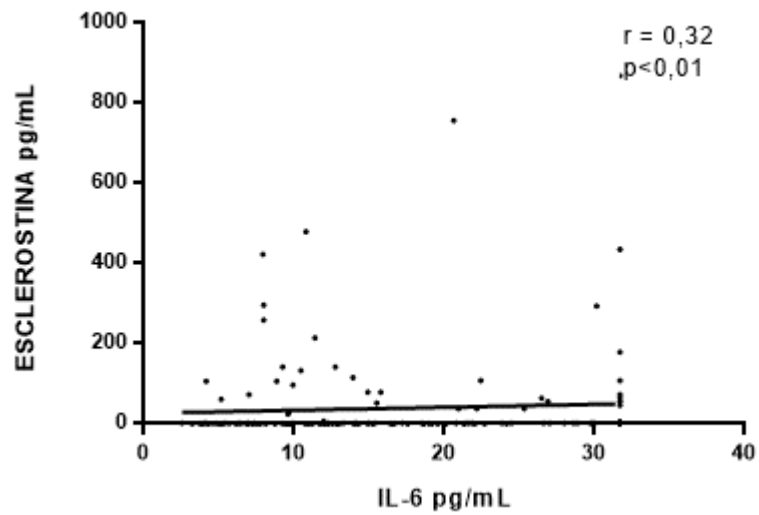


Gráfico 5 – Correlação entre os níveis séricos de vitamina D e interleucina 6.

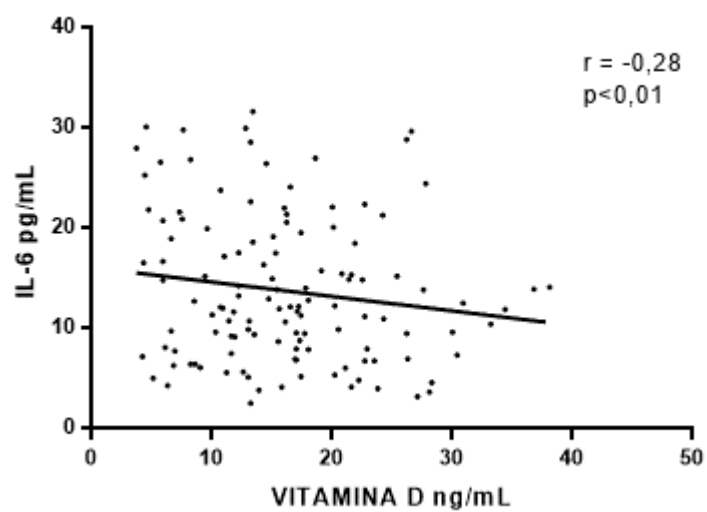


Gráfico 6 – Correlação entre os níveis séricos de vitamina D e TNF- α .

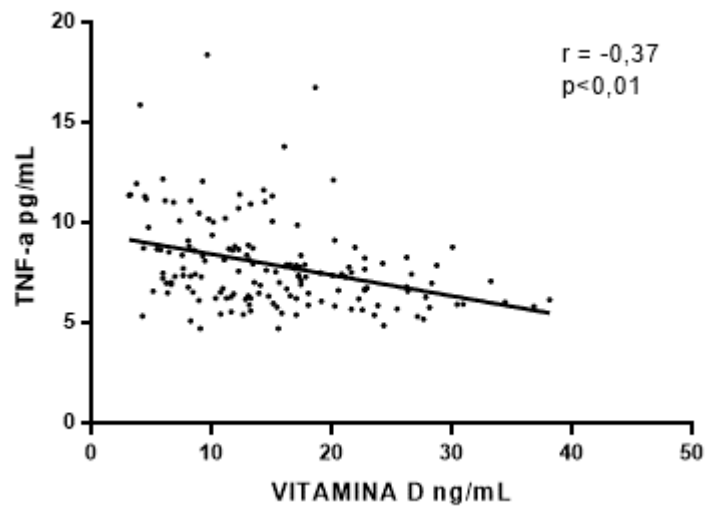
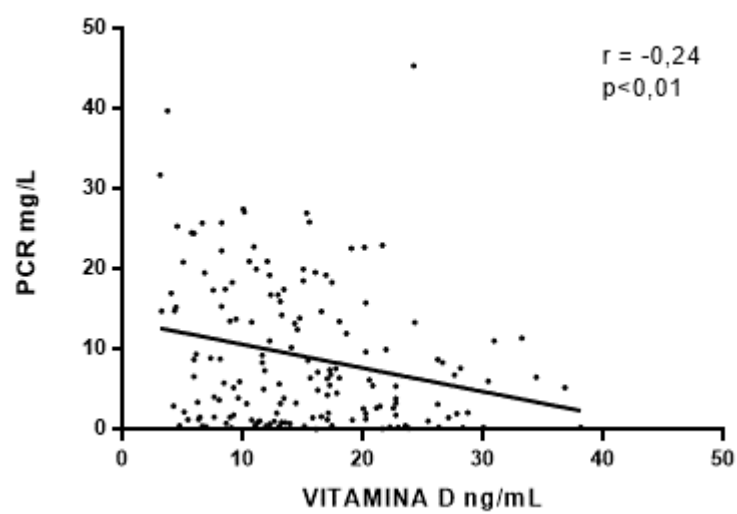


Gráfico 7 – Correlação entre os níveis séricos de vitamina D e PCR.



Discussão

O presente estudo avaliou o efeito da inflamação sobre os biomarcadores do distúrbio mineral ósseo em pacientes com LRA.

A creatinina e a cistatina C como esperado, se apresentaram mais elevadas no grupo LRA, caracterizando a perda da função renal aguda. A cistatina C, não é usada comumente, mas foi adicionada como marcador de função renal devido ao estado grave que estes pacientes apresentavam e que poderia refletir em menor massa muscular, consequentemente menores níveis de creatinina e subestimar a perda de função renal. Entretanto, a creatinina não foi menos sensível que a cistatina C para detectar a perda da função renal aguda nesta população.

A perda da função renal aguda sabidamente é uma doença grave. De fato, observamos maior escore de APACHE II e taxa de mortalidade nos pacientes que apresentaram maiores níveis séricos de creatinina e cistatina C. Além disso, os pacientes com maior escore de APACHE II estavam mais inflamados, com TNF- α significativamente maior nestes pacientes. A taxa de mortalidade também foi mais alta nos pacientes com maior escore APACHE II, além da PCR, TNF- α , IL-6, IL-10 e fósforo. Estes dados, corroboram para o complexo mecanismo entre LRA e SIRS com piores desfechos. Os pacientes com LRA apresentaram maiores níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias IL-6 e TNF- α comparado aos pacientes que não evoluíram para LRA. Embora a PCR não tenha sido diferente entre os grupos, se apresentou com valores cerca de 10 vezes maiores que os níveis de normalidade. O aumento destes mediadores inflamatórios, provavelmente refletem a sinalização da resposta inflamatória resultante do acúmulo de escórias tóxicas, representada neste estudo pela creatinina em decorrência da perda da filtração glomerular e sua associação positiva com IL-6, TNF- α , IL-10 e PCR. Além disso, a IL-10, também foi maior nos pacientes com LRA. Embora a IL-10 tenha propriedades de regular a inflamação, não observamos correlação negativa entre esta citocina e as pró-inflamatórias. Ao contrário, esta teve correlação positiva com IL-6, PCR e TNF- α . Tem sido descrito na literatura que a IL-10 deve ter concentração de 10 a 20 vezes maior que TNF- α e IL-6 para que esta tenha seu papel anti-inflamatório⁽⁹⁰⁾.

Nos últimos anos tem sido descrita uma estreita associação entre inflamação e DMO-DRC, baseado na descoberta de que o TNF- α e a IL-6 são capazes de aumentar a transcrição do FGF-23 em osteócitos⁽⁹¹⁾. O FGF-23, por sua vez, estimula a síntese hepática de IL-6 e PCR, indicando um ciclo vicioso de inflamação e produção de FGF-23⁽⁵³⁾. Além disso, algumas dessas citocinas são capazes de induzir a diferenciação e estimulação dos osteoclastos, aumentando a reabsorção e destruição óssea na DRC⁽⁹²⁾.

Desta forma, o distúrbio mineral ósseo é uma complicação comum da doença renal crônica, mas pouco tem sido estudado na LRA. Hipocalcemia associada com PTH elevado ou reduzido têm sido relatados em pequenos estudos de pacientes com LRA⁽⁹³⁻⁹⁶⁾.

No entanto, o presente estudo é o primeiro a avaliar a associação entre inflamação e distúrbio mineral ósseo em pacientes com LRA. Observamos que os pacientes com LRA já apresentavam aumento do fósforo, PTH, esclerostina e diminuição da vitamina D (25 vitamina D), resultados semelhantes a DRC e em decorrência da falência renal aguda. Devido nosso estudo ser composto por pacientes críticos, inflamados e idosos era esperado que os níveis da 25 vitamina D estivessem diminuídos em ambos os grupos; entretanto, os níveis de vitamina D foram menores ainda em pacientes com LRA. De fato, outros estudos também observaram níveis mais baixos de vitamina D em pacientes com LRA comparado a indivíduos saudáveis^(96,97).

O FGF-23 não foi diferente entre os grupos, embora os pacientes com maior escore de APACHE II, apresentaram maiores níveis séricos deste hormônio, o mesmo ocorreu em relação ao PTH. Entretanto, diferentemente do descrito para DRC, não houve associação entre citocinas pró-inflamatórias com FGF-23 e PTH. Em relação ao FGF-23, existem relatos do aumento deste pós cirurgia cardíaca, sugerindo o efeito da inflamação sistêmica sobre sua síntese⁽⁸⁵⁾. Observamos correlação entre FGF-23 e PTH, resultado esperado uma vez que o PTH aumenta a transcrição do FGF-23 diretamente, o que poderia contribuir para maior remodelação óssea e liberação de fatores ósseos locais que estimulam os osteócitos nesta população. Estudo recente relatou que níveis de FGF-23 estão elevados na LRA⁽⁹⁸⁾. Entretanto, no nosso estudo

os níveis de PTH estavam mais baixos comparado a este estudo, o que poderia refletir em menor concentração de FGF-23. Adicionalmente, estudos experimentais têm mostrado que tanto níveis altos quanto os baixos podem inibir a mineralização óssea pelo acúmulo de pirofosfato ou osteopontina, respectivamente⁽⁹⁹⁾.

Além dos marcadores de inflamação, o fósforo foi maior nos pacientes que evoluíram para óbito, os níveis elevados de fósforo associados a LRA/morte são consistentes com o relato de Leaf et al.⁽¹⁰⁰⁾.

Por sua vez, observamos associação negativa entre TNF- α , IL-6, IL-10 e PCR com cálcio e vitamina D; e associação positiva entre TNF- α e IL-6 com a esclerostina.

No presente estudo, os pacientes com LRA apresentaram maior nível sérico de esclerostina. Este é o primeiro estudo que descreve esta associação na LRA, diferentemente de Pelletier et al. que descrevem da associação positiva da esclerostina com a progressão da DRC⁽⁷⁹⁾. Entretanto, o aumento ocorreu de forma precoce com a perda de função renal aguda. Uma possível explicação para este aumento precoce, pode ser o efeito da inflamação sobre os osteócitos destes pacientes. De fato, Vincent et al. descreveram que o TNF- α aumenta a expressão de esclerostina⁽¹⁰¹⁾. Nós também, observamos associação positiva entre esclerostina com TNF- α e IL-6.

O aumento dos níveis de esclerostina com a progressão da doença renal crônica tem sido bem descrito por vários estudos. Mais recentemente, Cejka et al. demonstraram que o aumento de esclerostina sérica estava mais associado a um efeito sobre a produção aumentada pelos osteócitos que a perda da função renal⁽⁸¹⁾, por mecanismos ainda desconhecidos. Tem sido sugerido que os níveis de esclerostina poderiam estar relacionados ao PTH na DRC⁽¹⁰²⁾, no diabetes⁽¹⁰³⁾ ou no hiperparatireoidismo primário⁽¹⁰⁴⁾. No entanto, não observamos correlação significativa entre PTH e esclerostina. Em nossa população, esse efeito pode ter sido mascarado pelos baixos níveis de PTH observados, como ocorre nos estágios iniciais da DRC. Mecanismos independentes de PTH podem estar envolvidos na modulação da esclerostina⁽¹⁰⁵⁾.

Vale lembrar, que a esclerostina pode desempenhar um papel não só na baixa, mas também na alta remodelação óssea. Em um estudo retrospectivo de pacientes com hiperparatiroidismo secundário em hemodiálise, que comparou biópsias ósseas daquelas com e sem fraturas, foi observado que aqueles com história de fraturas apresentaram maior expressão de esclerostina no osso cortical, menor taxa de formação e menor mineralização⁽¹⁰⁶⁾. É importante ressaltar que, à medida que a DRC progride, a inibição da via Wnt aumenta⁽¹⁰⁷⁾. Adicionalmente, alguns estudos observacionais que avaliaram o impacto da esclerostina sérica nas taxas de mortalidade em pacientes com DRC mostraram resultados conflitantes. Alguns mostraram associação positiva entre esclerostina sérica e mortalidade, enquanto outros mostraram exatamente o contrário.

Embora tenhamos observado aumento da esclerostina na LRA, não podemos associá-la a desmineralização ou perda óssea. O tempo máximo de acompanhamento destes pacientes foi de 30 dias, impossibilitando avaliar o impacto da esclerostina ou ainda, mudanças de outros marcadores ósseos. Para esta avaliação deveríamos ter feito um seguimento com maior tempo nestes pacientes ou pelo menos nos pacientes que evoluíram para DRC pós LRA. Entretanto, nem sempre é possível este seguimento, já que muitas vezes esses pacientes não retornam após alta da UTI, dificultando a avaliação do impacto do aumento da esclerostina sobre o osso destes pacientes; que possivelmente se houver, deve ser mais tardia.

Desta forma, se faz necessário estudo longitudinal para avaliar o impacto do aumento dos biomarcadores ósseos nos pacientes com LRA, em especial a esclerostina.

SUMÁRIO DOS RESULTADOS ENCONTRADOS

- ✓ Os níveis séricos de IL-6, TNF- α , IL-10, PTH, fósforo e esclerostina estavam mais elevados nos pacientes com LRA.
- ✓ 25 Vitamina D estava diminuída nos pacientes com LRA.
- ✓ Pacientes com maior escore de APACHE II apresentaram níveis séricos de PTH e TNF- α mais elevados.
- ✓ Pacientes com maiores níveis séricos de IL-6, TNF- α , PCR, IL-10 e fósforo apresentaram maior taxa de mortalidade.

Conclusão

- ✓ Pacientes com LRA já apresentam alterações de biomarcadores do distúrbio mineral ósseo com maior nível sérico de PTH, Fósforo, esclerostina e menor nível de 25 vitamina D.
- ✓ TNF- α e IL-6 se associaram positivamente com esclerostina, sugerindo talvez ativação de osteócitos por estas citocinas.

Entretanto, a hipótese do mecanismo inflamatório sobre os osteócitos e o impacto do aumento da esclerostina sobre desfechos devem ser investigados em estudo prospectivo.

Referências Bibliográficas

1. Doi K, Rabb H. Impact of acute kidney injury on distant organ function: recent findings and potential therapeutic targets. *Kidney Int.* 2016;89(3):555-64.
2. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med.* 1992;20(6):864-74.
3. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med.* 2003;348(16):1546-54.
4. Nolan CA, RJ. Hospital-acquired acute renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 1998;9:9.
5. Opal SM, Steven_Opal@brown.edu, DePalo VA. Anti-Inflammatory Cytokines. *CHEST.* 2000;117(4):1162-72.
6. Van der Poll T, Jansen J, Levi M, ten Cate H, ten Cate JW, van Deventer SJ. Regulation of interleukin 10 release by tumor necrosis factor in humans and chimpanzees. *J Exp Med.* 1994;180(5):1985-8.
7. Donnelly RP, Freeman SL, Hayes MP. Inhibition of IL-10 expression by IFN-gamma up-regulates transcription of TNF-alpha in human monocytes. *J Immunol.* 1995;155(3):1420-7.
8. Pereira BJG. Cytokine Production in Patients on Dialysis. *Blood Purification.* 2017;13(3-4):135-46.
9. Liu KD, Altmann C, Smits G, Krawczeski CD, Edelstein CL, Devarajan P, et al. Serum interleukin-6 and interleukin-8 are early biomarkers of acute kidney injury and predict prolonged mechanical ventilation in children undergoing cardiac surgery: a case-control study. *Crit Care.* 2009;13(4):R104.
10. Hoke TS, Douglas IS, Klein CL, He Z, Fang W, Thurman JM, et al. Acute renal failure after bilateral nephrectomy is associated with cytokine-mediated pulmonary injury. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(1):155-64.
11. Simmons EM, Himmelfarb J, Sezer MT, Chertow GM, Mehta RL, Paganini EP, et al. Plasma cytokine levels predict mortality in patients with acute renal failure. *Kidney Int.* 2004;65(4):1357-65.
12. Ahlstrom A, Hynninen M, Tallgren M, Kuusela P, Valtonen M, Orko R, et al. Predictive value of interleukins 6, 8 and 10, and low HLA-DR expression in acute renal failure. *Clin Nephrol.* 2004;61(2):103-10.
13. Murugan R, Wen X, Shah N, Lee M, Kong L, Pike F, et al. Plasma inflammatory and apoptosis markers are associated with dialysis dependence and death among critically ill patients receiving renal replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant.* 2014;29(10):1854-64.

14. Zhang WR, Garg AX, Coca SG, Devereaux PJ, Eikelboom J, Kavsak P, et al. Plasma IL-6 and IL-10 Concentrations Predict AKI and Long-Term Mortality in Adults after Cardiac Surgery. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(12):3123-32.
15. Powell TC, Powell SL, Allen BK, Griffin RL, Warnock DG, Wang HE. Association of inflammatory and endothelial cell activation biomarkers with acute kidney injury after sepsis. *Springerplus.* 2014;3:207.
16. Kambhampati G, Ejaz NI, Asmar A, Aiyer RK, Arif AA, Pourafshar N, et al. Fluid balance and conventional and novel biomarkers of acute kidney injury in cardiovascular surgery. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 2013;54(5):639-46.
17. Balakrishnan VS, Guo D, Rao M, Jaber BL, Tighiouart H, Freeman RL, et al. Cytokine gene polymorphisms in hemodialysis patients: association with comorbidity, functionality, and serum albumin. *Kidney Int.* 2004;65(4):1449-60.
18. Kadiroglu AK, Sit D, Atay AE, Kayabasi H, Altintas A, Yilmaz ME. The evaluation of effects of demographic features, biochemical parameters, and cytokines on clinical outcomes in patients with acute renal failure. *Ren Fail.* 2007;29(4):503-8.
19. Martin KJ, Gonzalez EA. Metabolic bone disease in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(3):875-85.
20. Ng YM, Lim SK, Kang PS, Kadir KA, Tai MS. Association between serum 25-hydroxyvitamin D levels and carotid atherosclerosis in chronic kidney disease patients. *BMC Nephrol.* 2016;17(1):151.
21. Zheng Z, Shi H, Jia J, Li D, Lin S. Vitamin D supplementation and mortality risk in chronic kidney disease: a meta-analysis of 20 observational studies. *BMC Nephrol.* 2013;14:199.
22. Kim SM, Choi HJ, Lee JP, Kim DK, Oh YK, Kim YS, et al. Prevalence of vitamin D deficiency and effects of supplementation with cholecalciferol in patients with chronic kidney disease. *J Ren Nutr.* 2014;24(1):20-5.
23. Charytan DM, Fishbane S, Malyszko J, McCullough PA, Goldsmith D. Cardiorenal Syndrome and the Role of the Bone-Mineral Axis and Anemia. *Am J Kidney Dis.* 2015;66(2):196-205.
24. Bastos MG, Bregman R, Kirsztajn GM. [Chronic kidney diseases: common and harmful, but also preventable and treatable]. *Rev Assoc Med Bras (1992).* 2010;56(2):248-53.
25. Levin A, Bakris GL, Molitch M, Smulders M, Tian J, Williams LA, et al. Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. *Kidney Int.* 2007;71(1):31-8.

26. Wolf M, Shah A, Gutierrez O, Ankers E, Monroy M, Tamez H, et al. Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2007;72(8):1004-13.
27. Cunningham J, Locatelli F, Rodriguez M. Secondary hyperparathyroidism: pathogenesis, disease progression, and therapeutic options. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(4):913-21.
28. Saab G, Young DO, Gincherman Y, Giles K, Norwood K, Coyne DW. Prevalence of vitamin D deficiency and the safety and effectiveness of monthly ergocalciferol in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract.* 2007;105(3):c132-8.
29. Patel NM, Gutierrez OM, Andress DL, Coyne DW, Levin A, Wolf M. Vitamin D deficiency and anemia in early chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2010;77(8):715-20.
30. Youssef DM, Elshal AS, Abo Elazem AA. Assessment of immune status in relation to vitamin D levels in children on regular hemodialysis. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2012;23(2):267-73.
31. Zitt E, Sprenger-Mahr H, Knoll F, Neyer U, Lhotta K. Vitamin D deficiency is associated with poor response to active hepatitis B immunisation in patients with chronic kidney disease. *Vaccine.* 2012;30(5):931-5.
32. Wolf M, Thadhani R. Vitamin D in patients with renal failure: a summary of observational mortality studies and steps moving forward. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2007;103(3-5):487-90.
33. Krishnan AV, Feldman D. Molecular pathways mediating the anti-inflammatory effects of calcitriol: implications for prostate cancer chemoprevention and treatment. *Endocr Relat Cancer.* 2010;17(1):R19-38.
34. Zittermann A, Schleithoff SS, Gotting C, Fuchs U, Kuhn J, Kleesiek K, et al. Calcitriol deficiency and 1-year mortality in cardiac transplant recipients. *Transplantation.* 2009;87(1):118-24.
35. Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H, Renner W, Seelhorst U, Wellnitz B, et al. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin d and 1,25-dihydroxyvitamin d levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med.* 2008;168(12):1340-9.
36. Leaf DE, Waikar SS, Wolf M, Cremers S, Bhan I, Stern L. Dysregulated mineral metabolism in patients with acute kidney injury and risk of adverse outcomes. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2013;79(4):491-8.
37. Gattineni J, Baum M. Regulation of phosphate transport by fibroblast growth factor 23 (FGF23): implications for disorders of phosphate metabolism. *Pediatr Nephrol.* 2010;25(4):591-601.

38. Gattineni J, Bates C, Twombly K, Dwarakanath V, Robinson ML, Goetz R, et al. FGF23 decreases renal NaPi-2a and NaPi-2c expression and induces hypophosphatemia in vivo predominantly via FGF receptor 1. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2009;297(2):F282-91.
39. Krajisnik T, Bjorklund P, Marsell R, Ljunggren O, Akerstrom G, Jonsson KB, et al. Fibroblast growth factor-23 regulates parathyroid hormone and 1 α -hydroxylase expression in cultured bovine parathyroid cells. *J Endocrinol*. 2007;195(1):125-31.
40. Gattineni J, Twombly K, Goetz R, Mohammadi M, Baum M. Regulation of serum 1,25(OH)₂ vitamin D3 levels by fibroblast growth factor 23 is mediated by FGF receptors 3 and 4. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2011;301(2):F371-7.
41. Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet*. 2000;26(3):345-8.
42. Ix JH, Katz R, Kestenbaum BR, de Boer IH, Chonchol M, Mukamal KJ, et al. Fibroblast growth factor-23 and death, heart failure, and cardiovascular events in community-living individuals: CHS (Cardiovascular Health Study). *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(3):200-7.
43. Leysens C, KU Leuven CaEM, Leuven, Belgium, carlien.leysens@med.kuleuven.be, Verlinden L, KU Leuven CaEM, Leuven, Belgium, lieve.verlinden@med.kuleuven.be, et al. The future of vitamin D analogs. *Frontiers in Physiology*. 2014;5.
44. Smith ER, McMahon LP, Holt SG. Fibroblast growth factor 23. *Ann Clin Biochem*. 2014;51(Pt 2):203-27.
45. Wan M, Smith C, Shah V, Gullet A, Wells D, Rees L, et al. Fibroblast growth factor 23 and soluble klotho in children with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28(1):153-61.
46. Isakova T, Wahl P, Vargas GS, Gutierrez OM, Scialla J, Xie H, et al. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2011;79(12):1370-8.
47. Faul C, Amaral AP, Oskouei B, Hu MC, Sloan A, Isakova T, et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest*. 2011;121(11):4393-408.
48. Wolf M, Molnar MZ, Amaral AP, Czira ME, Rudas A, Ujaszasi A, et al. Elevated fibroblast growth factor 23 is a risk factor for kidney transplant loss and mortality. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(5):956-66.
49. Six I, Okazaki H, Gross P, Cagnard J, Boudot C, Maizel J, et al. Direct, acute effects of Klotho and FGF23 on vascular smooth muscle and endothelium. *PLoS One*. 2014;9(4):e93423.

50. Silswal N, Touchberry CD, Daniel DR, McCarthy DL, Zhang S, Andresen J, et al. FGF23 directly impairs endothelium-dependent vasorelaxation by increasing superoxide levels and reducing nitric oxide bioavailability. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2014;307(5):E426-36.
51. Nakano C, Hamano T, Fujii N, Matsui I, Tomida K, Mikami S, et al. Combined use of vitamin D status and FGF23 for risk stratification of renal outcome. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012;7(5):810-9.
52. Martola L, Barany P, Stenvinkel P. Why do dialysis patients develop a heart of stone and bone of china? *Blood purification.* 2005;23(3):203-10.
53. Singh S, Grabner A, Yanucil C, Schramm K, Czaya B, Krick S, et al. Fibroblast growth factor 23 directly targets hepatocytes to promote inflammation in chronic kidney disease. *Kidney international.* 2016;90(5):985-96.
54. Poole KE, van Bezooijen RL, Loveridge N, Hamersma H, Papapoulos SE, Lowik CW, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *Faseb j.* 2005;19(13):1842-4.
55. Diarra D, Stolina M, Polzer K, Zwerina J, Ominsky MS, Dwyer D, et al. Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling. *Nat Med.* 2007;13(2):156-63.
56. Canalis E. Wnt signalling in osteoporosis: mechanisms and novel therapeutic approaches. *Nat Rev Endocrinol.* 2013;9(10):575-83.
57. Monroe DG, McGee-Lawrence ME, Oursler MJ, Westendorf JJ. Update on Wnt signaling in bone cell biology and bone disease. *Gene.* 2012;492(1):1-18.
58. Baron R, Kneissel M. WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. *Nat Med.* 2013;19(2):179-92.
59. Gori F, Lerner U, Ohlsson C, Baron R. A new WNT on the bone: WNT16, cortical bone thickness, porosity and fractures. *Bonekey Rep.* 2015;4:669.
60. Li X, Zhang Y, Kang H, Liu W, Liu P, Zhang J, et al. Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling. *J Biol Chem.* 2005;280(20):19883-7.
61. Kamiya N, Kobayashi T, Mochida Y, Yu PB, Yamauchi M, Kronenberg HM, et al. Wnt inhibitors Dkk1 and Sost are downstream targets of BMP signaling through the type IA receptor (BMPRIA) in osteoblasts. *J Bone Miner Res.* 2010;25(2):200-10.
62. Drueke TB, Lafage-Proust MH. Sclerostin: just one more player in renal bone disease? *Clin J Am Soc Nephrol.* 6. United States 2011. p. 700-3.

63. Keller H, Kneissel M. SOST is a target gene for PTH in bone. *Bone*. 2005;37(2):148-58.
64. Bellido T, Ali AA, Gubrij I, Plotkin LI, Fu Q, O'Brien CA, et al. Chronic elevation of parathyroid hormone in mice reduces expression of sclerostin by osteocytes: a novel mechanism for hormonal control of osteoblastogenesis. *Endocrinology*. 2005;146(11):4577-83.
65. Tu X, Rhee Y, Condon KW, Bivi N, Allen MR, Dwyer D, et al. Sost downregulation and local Wnt signaling are required for the osteogenic response to mechanical loading. *Bone*. 2012;50(1):209-17.
66. Robling AG, Niziolek PJ, Baldrige LA, Condon KW, Allen MR, Alam I, et al. Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. *J Biol Chem*. 2008;283(9):5866-75.
67. Lin C, Jiang X, Dai Z, Guo X, Weng T, Wang J, et al. Sclerostin mediates bone response to mechanical unloading through antagonizing Wnt/beta-catenin signaling. *J Bone Miner Res*. 2009;24(10):1651-61.
68. Kim RY, Yang HJ, Song YM, Kim IS, Hwang SJ. Estrogen Modulates Bone Morphogenetic Protein-Induced Sclerostin Expression Through the Wnt Signaling Pathway. *Tissue Eng Part A*. 2015;21(13-14):2076-88.
69. Di Nisio A, De Toni L, Speltra E, Rocca MS, Tagliavero G, Ferlin A, et al. Regulation of Sclerostin Production in Human Male Osteocytes by Androgens: Experimental and Clinical Evidence. *Endocrinology*. 2015;156(12):4534-44.
70. Sato AY, Cregor M, Delgado-Calle J, Condon KW, Allen MR, Peacock M, et al. Protection From Glucocorticoid-Induced Osteoporosis by Anti-Catabolic Signaling in the Absence of Sost/Sclerostin. *J Bone Miner Res*. 2016;31(10):1791-802.
71. Delgado-Calle J, Sato AY, Bellido T. Role and mechanism of action of sclerostin in bone. *Bone*. 2017;96:29-37.
72. Wijenayaka AR, Prideaux M, Yang D, Morris HA, Findlay DM, Anderson PH, et al. Early response of the human SOST gene to stimulation by 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2016;164:369-73.
73. St John HC, Hansen SJ, Pike JW. Analysis of SOST expression using large minigenes reveals the MEF2C binding site in the evolutionarily conserved region (ECR5) enhancer mediates forskolin, but not 1,25-dihydroxyvitamin D3 or TGFbeta1 responsiveness. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2016;164:277-80.
74. Ardawi MS, Rouzi AA, Al-Sibiani SA, Al-Senani NS, Qari MH, Mousa SA. High serum sclerostin predicts the occurrence of osteoporotic fractures in postmenopausal women: the Center of Excellence for Osteoporosis Research Study. *J Bone Miner Res*. 2012;27(12):2592-602.

75. Dawson-Hughes B, Harris SS, Ceglia L, Palermo NJ. Effect of supplemental vitamin D and calcium on serum sclerostin levels. *Eur J Endocrinol.* 2014;170(4):645-50.
76. Cidem M, Karacan I, Arat NB, Zengi O, Ozkaya M, Guzel SP, et al. Serum sclerostin is decreased following vitamin D treatment in young vitamin D-deficient female adults. *Rheumatol Int.* 2015;35(10):1739-42.
77. Pirgon O, Sandal G, Cetin H, Dundar B. Low serum sclerostin levels in newborns with vitamin D deficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2016;29(4):401-5.
78. Acibucu F, Dokmetas HS, Acibucu DO, Kilicli F, Aydemir M, Cakmak E. Effect of Vitamin D Treatment on Serum Sclerostin Level. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2017;125(9):634-7.
79. Pelletier S, Dubourg L, Carlier MC, Hadj-Aissa A, Fouque D. The relation between renal function and serum sclerostin in adult patients with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013;8(5):819-23.
80. Cejka D, Jager-Lansky A, Kieweg H, Weber M, Bieglmayer C, Haider DG, et al. Sclerostin serum levels correlate positively with bone mineral density and microarchitecture in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27(1):226-30.
81. Cejka D, Marculescu R, Kozakowski N, Plischke M, Reiter T, Gessl A, et al. Renal elimination of sclerostin increases with declining kidney function. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(1):248-55.
82. Sabbagh Y, Graciolli FG, O'Brien S, Tang W, dos Reis LM, Ryan S, et al. Repression of osteocyte Wnt/beta-catenin signaling is an early event in the progression of renal osteodystrophy. *J Bone Miner Res.* 2012;27(8):1757-72.
83. Neyra JA, Moe OW, Hu MC. Fibroblast growth factor 23 and acute kidney injury. *Pediatr Nephrol.* 2015;30(11):1909-18.
84. Zhang M, Hsu R, Hsu C, Kordesch K, Nicasio E, Cortez A, et al. FGF-23 and PTH levels in patients with acute kidney injury: A cross-sectional case series study. *Ann Intensive Care.* 2011. p. 21.
85. Christov M, Waikar SS, Pereira RC, Havasi A, Leaf DE, Goltzman D, et al. Plasma FGF23 levels increase rapidly after acute kidney injury. *Kidney Int.* 2013;84(4):776-85.
86. Leaf DE, Christov M, Juppner H, Siew E, Ikizler TA, Bian A, et al. Fibroblast growth factor 23 levels are elevated and associated with severe acute kidney injury and death following cardiac surgery. *Kidney Int.* 2016;89(4):939-48.
87. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357(3):266-81.

88. Li YC. Renoprotective effects of vitamin D analogs. *Kidney Int.* 2010;78(2):134-9.
89. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med.* 1985;13(10):818-29.
90. Susantitaphong P, Perianayagam MC, Tighiouart H, Liangos O, Bonventre JV, Jaber BL. Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphism and severity of acute kidney injury. *Nephron Clin Pract.* 2013;123(1-2):67-73.
91. David V, Martin A, Isakova T, Spaulding C, Qi L, Ramirez V, et al. Inflammation and functional iron deficiency regulate fibroblast growth factor 23 production. *Kidney Int.* 2016;89(1):135-46.
92. Viaene L, Behets GJ, Heye S, Claes K, Monbaliu D, Pirenne J, et al. Inflammation and the bone-vascular axis in end-stage renal disease. *Osteoporos Int.* 2016;27(2):489-97.
93. Massry SG, Arieff AI, Coburn JW, Palmieri G, Kleeman CR. Divalent ion metabolism in patients with acute renal failure: studies on the mechanism of hypocalcemia. *Kidney Int.* 1974;5(6):437-45.
94. Pinheiro da Silva F, Zampieri FG, Barbeiro HV, Filho FT, Goulart AC, Jorgetti V, et al. Decreased parathyroid hormone levels despite persistent hypocalcemia in patients with kidney failure recovering from septic shock. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2013;13(2):135-42.
95. Carlstedt F, Lind L, Joachimsson PO, Rastad J, Wide L, Ljunghall S. Circulating ionized calcium and parathyroid hormone levels following coronary artery by-pass surgery. *Scand J Clin Lab Invest.* 1999;59(1):47-53.
96. Leaf DE, Wolf M, Waikar SS, Chase H, Christov M, Cremers S, et al. FGF-23 levels in patients with AKI and risk of adverse outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012;7(8):1217-23.
97. Vijayan A, Li T, Dusso A, Jain S, Coyne DW. Relationship of 1,25 dihydroxy Vitamin D Levels to Clinical Outcomes in Critically Ill Patients with Acute Kidney Injury. *J Nephrol Ther.* 2015;5(1).
98. Sakan S, Basic-Jukic N, Kes P, Jelakovic B, Pavlovic DB, Peric M. SIGNIFICANCE OF FIBROBLAST GROWTH FACTOR 23 IN ACUTE KIDNEY INJURY. *Acta Clin Croat.* 2015;54(3):279-84.
99. Murali SK, Andrukhova O, Clinkenbeard EL, White KE, Erben RG. Excessive Osteocytic Fgf23 Secretion Contributes to Pyrophosphate Accumulation and Mineralization Defect in Hyp Mice. *PLoS Biol.* 2016;14(4):e1002427.

100. Leaf DE, Jacob KA, Srivastava A, Chen ME, Christov M, Juppner H, et al. Fibroblast Growth Factor 23 Levels Associate with AKI and Death in Critical Illness. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(6):1877-85.
101. Vincent C, Findlay DM, Welldon KJ, Wijenayaka AR, Zheng TS, Haynes DR, et al. Pro-inflammatory cytokines TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK) and TNF α induce the mitogen-activated protein kinase (MAPK)-dependent expression of sclerostin in human osteoblasts. *J Bone Miner Res.* 2009;24(8):1434-49.
102. Cejka D, Herberth J, Branscum AJ, Fardo DW, Monier-Faugere MC, Diarra D, et al. Sclerostin and Dickkopf-1 in renal osteodystrophy. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(4):877-82.
103. Kim SH, Yoon SY, Lim SK, Rhee Y. The effect of renal dysfunction on circulating sclerostin level in patients with type 2 diabetes. *Int J Endocrinol.* 2014;2014:715908.
104. Viapiana O, Fracassi E, Troplini S, Idolazzi L, Rossini M, Adami S, et al. Sclerostin and DKK1 in primary hyperparathyroidism. *Calcif Tissue Int.* 2013;92(4):324-9.
105. Morena M, Jaussent I, Dupuy AM, Bargnoux AS, Kuster N, Chenine L, et al. Osteoprotegerin and sclerostin in chronic kidney disease prior to dialysis: potential partners in vascular calcifications. *Nephrol Dial Transplant.* 2015;30(8):1345-56.
106. Santos MFP, Hernandez MJ, de Oliveira IB, Siqueira FR, Dominguez WV, Dos Reis LM, et al. Comparison of clinical, biochemical and histomorphometric analysis of bone biopsies in dialysis patients with and without fractures. *J Bone Miner Metab.* 2018.
107. Gracioli FG, Neves KR, Barreto F, Barreto DV, Dos Reis LM, Canziani ME, et al. The complexity of chronic kidney disease-mineral and bone disorder across stages of chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2017;91(6):1436-46.

Anexos

ANEXO

Anexo A – Parecer do Comitê de Ética da UNIFESP



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 7 de julho de 2006.
CEP 1520/05

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a) MARCELO COSTA BATISTA

Co-Investigadores: Beata Marie Redublo Quinto, Nilberto Moratti de Ávila Rocha, Miguel Cendoroglo Neto, Oscar Fernando Pavão dos Santos, Marcelino de Souza Durão Jr

Disciplina/Departamento: Nefrologia/Medicina da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: “Polimorfismo genético de citocinas: interface lípides-inflamação e sua influência e na ocorrência de insuficiência renal aguda e no desfecho do paciente grave”.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Intervenção diagnóstica.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: risco mínimo, desconforto leve, envolvendo coleta de sangue.

OBJETIVOS: Analisar o impacto dos polimorfismos de genes do TNF-alfa, IL-6 e IL-10, e da sua interação com o perfil das lipoproteínas, na ocorrência de insuficiência renal aguda e no desfecho do paciente grave. Caracterizar os polimorfismos de genes do TNF-alfa, IL-6 e IL-10 em uma população de pacientes internados no centro de terapia intensiva, comparando-os com uma população controle de indivíduos sem a síndrome da resposta inflamatória sistêmica.

RESUMO: O estudo tem desenho transversal, no qual serão estudados 400 pacientes internados no centro de terapia intensiva do Hospital Israelita Albert Einstein. Haverá um grupo controle constituído por 400 indivíduos da comunidade, pareados para sexo e idade. Será colhido sangue para análise da função renal, perfil lipídico, marcadores da SIRS e para extração do DNA visando estudo dos polimorfismos das citocinas TNF-alfa, IL-6 e IL-10. Para determinação de marcadores da SIRS, serão dosadas proteína C reativa e albumina.

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Estudo fundamentado, visando avaliar polimorfismos genéticos de citocinas em pacientes com insuficiência renal aguda.

MATERIAL E MÉTODO: Estão descritos os procedimentos e metodologia empregada..

TCLE: adequado.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: sem financiamento externo - R\$ 71 027,83.

CRONOGRAMA: 24 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: sem objetivo acadêmico.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 2/7/2007 e 26/6/2008.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

Anexo B – Parecer do Comitê de Ética do Hospital Israelita Albert Einstein



São Paulo, 03 de maio de 2006

Ref. CEP/Einstein Nº 06/381

CAAE 0001.0.028.174-06

Título: Polimorfismo genético de Citocinas: interface lípides-inflamação e sua influência na ocorrência de insuficiência renal aguda e no desfecho do paciente grave.

Investigador Principal: Dr. Marcelo Costa Batista

Ilmo. Sr.

Dr. Marcelo Costa Batista

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Israelita Albert Einstein **analisou e aprovou** o projeto de pesquisa supracitado, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Aproveitamos a oportunidade para orientar o pesquisador sobre os seguintes itens:

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV. 2d).
- O Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III. 3z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V. 3) que requeiram ação imediata.

Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein
Av. Albert Einstein, 627 – Morumbi – São Paulo – SP – 05651 901 – Brasil
Tel: (55 – 11) 3747 0291 Fax: (55 – 11) 3747 0273
Internet: www.einstein.br e-mail: cep@einstein.br

1

Anexo C – Escore APACHE II

APACHE II Scoring System and Mortality Estimates (Acute Physiology and Chronic Health Disease Classification System II)

Temperature (Degrees C)

Mean Arterial Pressure (mmHg)

Heart Rate

Respiratory Rate

A-aPO₂(FIO₂>50%) or PaO₂(FIO₂<50%)
2 > 70 (0 points)"/>

Arterial pH or HCO₃

Serum Na⁺ (mEq/L)

Serum K⁺ (mEq/L)

Serum Creatinine (ARF means Acute Renal Failu

Hematocrit

WBC Count(10⁹/L)

Glasgow

Age (years)

0 to 4 points:	4% non-op, 1% post-op
5 to 9 points:	8% non-op, 3% post-op
10 to 14 points:	15% non-op, 7% post-op
15 to 19 points:	24% non-op, 12% post-op
20 to 24 points:	40% non-op, 30% post-op
25 to 29 points:	55% non-op, 35% post-op
30 to 34 points:	Approx 73% both
35 to 100 points:	85% non-op, 88% post-op

References

1. Knaus WA, et al. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med.* 1985 Oct;13(10):818-29. PubMed ID: 3928249 [PubMed](#)