

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA

VANESSA CORRÊA FANCHINI

AVALIAÇÃO DA HEMODIAFILTRAÇÃO SOBRE HEPCIDINA EM
PACIENTES IDOSOS COM DOENÇA RENAL CRÔNICA

SÃO PAULO, SP
2021

VANESSA CORRÊA FANCHINI

**AVALIAÇÃO DA HEMODIAFILTRAÇÃO SOBRE HEPCIDINA EM
PACIENTES IDOSOS COM DOENÇA RENAL CRÔNICA**

Dissertação apresentada à
Universidade Nove de Julho
para a obtenção do título de
Mestrado no Programa de
Pós-Graduação em Medicina
- Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª. Maria
Aparecida Dalboni

**SÃO PAULO, SP
2021**

Fanchini, Vanessa Corrêa.

Avaliação da hemodiafiltração sobre hepcidina em pacientes idosos com doença renal crônica. / Vanessa Corrêa Fanchini. 2021. 56 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2021.

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

1. Hepcidina. 2. Inflamação. 3. Anemia. 4. Hemodiafiltração. 5. Doença renal crônica.

I. Dalboni, Maria Aparecida. II. Título

CDU 616



São Paulo 06 de maio de 2021

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluna: VANESSA CORRÊA FANCHINI

Título da dissertação: AVALIAÇÃO DA HEMODIAFILTRAÇÃO SOBRE HEPCIDINA EM PACIENTES IDOSOS COM DOENÇAS RENAL CRÔNICA.

Presidente: PROFA. DRA. MARIA APARECIDA DALBONI

Membro: PROFA. DRA. ROSILENE MOTTA ELIAS

Membro: PROFA. DRA. MELANI RIBEIRO CUSTÓDIO

DEDICATÓRIA

Dedico a realização desse estudo a todos meus familiares e amigos que muito me ajudaram durante esse longo processo de evolução e aprendizado no desenvolvimento desse trabalho. Principalmente à minha mãe Ivani Aparecida Corrêa pelo incentivo constante e em especial ao meu namorado Alexandre Ferreira do Nascimento por todo apoio, paciência e ajudas constantes que mesmo de longe esteve sempre presente e por muitas vezes deixou de lado seus momentos de descanso para me auxiliar de alguma maneira. Além disso, dedico aos pacientes que são acometidos pela Doença Renal Crônica, pois todos meus esforços foram na tentativa de conseguir elucidações que possam auxiliar de alguma forma o tratamento dessa doença.

AGRADECIMENTOS

Agradeço muito todo auxílio, orientação, aprendizado e amizade que obtive com a Profª Drª Maria Aparecida Dalboni ao longo desses anos, sendo fundamental para o desenvolvimento do presente estudo. Assim, como a ajuda essencial da Profª Drª Rosilene Motta Elias com as aulas, direcionamentos e aprendizados constantes durante esse período.

Aos colaboradores do Hospital Sancta Maggiore/ Prevent Senior pelo auxílio com a seleção dos pacientes, informações clínicas e laboratoriais fundamentais para a realização deste trabalho.

Ao Profº Dr. Cléber Pinto Camacho pelos ensinamentos e aprendizados com a disciplina de bioestatística e à Universidade Nove de Julho pela oportunidade de poder desenvolver o estudo com o acompanhamento de excelentes professores.

Agradecimento em especial a todos os pacientes que aceitaram a participação no estudo, sem os quais seria impossível a realização da nossa pesquisa.

RESUMO

Introdução: A Doença Renal Crônica (DRC) é caracterizada pela perda progressiva e irreversível da função renal, com conseqüente redução da produção de eritropoetina, hormônio responsável pela eritropoiese. Portanto, a perda da função renal pode resultar em anemia e apesar do tratamento com uso de agentes estimulantes de eritropoiese (AEEs) alguns pacientes são hiporresponsivos devido ao estado de micro inflamação causado pelo acúmulo de toxinas urêmicas e da hepcidina, hormônio que tem papel central na homeostase do ferro. A hemodiafiltração (HDF) é uma modalidade dialítica recente que por apresentar maiores taxas convectivas pode depurar maior espectro de moléculas reduzindo a inflamação. **Objetivos:** Avaliar a concentração sérica de hepcidina e biomarcadores inflamatórios pelo tratamento com HDF em pacientes idosos com DRC. **Material e métodos:** Foram incluídos 30 pacientes com idade entre 65 a 94 anos com DRC que previamente faziam tratamento com hemodiálise convencional e iniciaram o tratamento com HDF. Entretanto, 19 pacientes finalizaram o estudo e foram avaliados no tempo zero e após 12 meses de seguimento para os parâmetros hematimétricos, bioquímicos, hepcidina e citocinas inflamatórias. **Resultados:** Após 12 meses de tratamento observamos significativo aumento da hemoglobina, hematócrito, hepcidina, TNF- α , IL-10 e β 2-microglobulina e diminuição da proteína C reativa (PCR). **Discussão:** As concentrações séricas de hepcidina e β 2-microglobulina não se apresentaram reduzidas no seguimento nesta população idosa de doentes renais crônicos após 12 meses de acompanhamento do tratamento com HDF provavelmente devido a perda da função renal residual. O aumento dos níveis de hemoglobina e hematócrito observados podem ter sido decorrentes do tratamento com AEEs (89%) e suplementação de ferro (74%), sugerindo que não houve hiporresponsividade ou resistência ao tratamento nos pacientes do presente estudo. **Conclusão:** A hepcidina pareceu estar mais relacionada como um biomarcador de ferro independentemente da variação dos marcadores inflamatórios do que associada à resistência ao uso de AEEs.

Palavras-chave: hepcidina, inflamação, anemia, hemodiafiltração, doença renal crônica

ABSTRACT

Introduction: Chronic Kidney Disease (CKD) is characterized by a progressive and irreversible loss of kidney function, with a consequent reduction in the production of erythropoietin, the hormone responsible for erythropoiesis. Therefore, loss of renal function can result in anemia and despite of treatment with the use of erythropoiesis stimulating agents (ESAs), some patients are hyporesponsive due to the state of micro inflammation caused by the accumulation of uremic toxins and hepcidin, a hormone that plays a central role in iron homeostasis. Hemodiafiltration (HDF) is a recent dialysis modality that, due to its higher convective rates, can purify a larger spectrum of molecules, reducing inflammation. **Aims:** To evaluate the serum concentration of hepcidin and inflammatory biomarkers by treatment with HDF in elderly patients with CKD. **Material and methods:** Thirty patients aged 65 to 94 years with CKD who were previously treated with conventional hemodialysis and started treatment with HDF were included. However, 19 patients completed the study and were evaluated at time zero and after 12 months of follow-up for hematimetric, biochemical, hepcidin and inflammatory cytokine parameters. **Results:** After 12 months of treatment, we observed a significant increase in hemoglobin, hematocrit, hepcidin, TNF- α , IL-10, β 2-microglobulin and a decrease in C reactive protein (PCR). **Discussion:** The serum concentrations of hepcidin and β 2-microglobulin were not reduced in follow-up in this elderly population of chronic kidney patients after 12 months with HDF treatment probably due to loss of residual renal function. The increase in hemoglobin and hematocrit levels observed may have been due to treatment with ESAs (89%) and iron supplementation (74%), suggesting that there was no hyporesponsiveness or resistance to treatment in the patients of the present study. **Conclusion:** Hepcidin appeared to be more related as an iron biomarker regardless of the variations of inflammatory markers than associated with resistance to the use of ESAs.

Keywords: hepcidin, inflammation, anemia, hemodiafiltration, chronic kidney disease.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Doença Renal Crônica (DRC)	12
1.2 Anemia na DRC.....	13
1.3 Biomarcadores do metabolismo do ferro.....	17
1.4 Hecpidina e metabolismo do ferro.....	18
1.5 Lactoferrina.....	22
1.6 Hemodiafiltração (HDF).....	23
2 OBJETIVOS.....	26
2.1 Objetivo geral	26
2.2 Objetivos específicos	26
3 JUSTIFICATIVA	27
4 HIPÓTESE	28
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
5.1 População do estudo	29
5.2 Critérios de inclusão e exclusão.....	29
5.3 Características da terapia renal substitutiva por HDF	31
5.4 Dosagem de hepcidina	31
5.5 Dosagem de lactoferrina.....	31
5.6 Dosagem das citocinas IL-6, IL-10 e TNF- α	31
6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	32
7 RESULTADOS	33
8 DISCUSSÃO	40
9 REFERÊNCIAS	43
10 ANEXOS	53

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Quadro 1 – Estadiamento e classificação da Doença Renal Crônica.....	13
Tabela 1 – Dados demográficos e bioquímicos dos pacientes no tempo zero (antes do início do tratamento por HDF) e no T12 (após 12 meses de tratamento com HDF).....	33
Tabela 2 – Marcadores inflamatórios dos pacientes no tempo zero (antes do início do tratamento por HDF) e no T12 (após 12 meses de tratamento com HDF).....	34
Tabela 3 - Dados hematimétricos e marcadores do metabolismo do ferro no tempo zero (antes do início do tratamento por HDF) e no T12 (após 12 meses de tratamento com HDF)	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismo fisiopatológico da anemia na doença renal crônica	15
Figura 2 - Ação da hepcidina no metabolismo do ferro.....	19
Figura 3 - Desenho do estudo.....	30
Figura 4 - (A) Mediana da hepcidina no tempo 0 e 12 meses (pós-HDF). (B) Mediana de β 2-microglobulina no tempo 0 e 12 meses (pós-HDF).....	35
Figura 5 - Comportamento da mediana de PCR (A), de TNF- α (B) e da IL-10 (C).....	36
Figura 6 - Mediana nos tempos T0 e T12 para hemoglobina (A) e hematócrito (B).....	37
Figura 7 - Gráfico da correlação entre hepcidina e ferritina.....	37
Figura 8 - Gráfico da correlação entre hepcidina e β 2-microglobulina.....	38
Figura 9 - Gráfico (A) mostrando a correlação entre hepcidina e transferrina, e no gráfico (B) mostrando a correlação entre hepcidina e CTLF.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS

AEEs – agentes estimulantes da eritropoiese
ALT – alanina aminotransferase
AVC – acidente vascular cerebral
CHCM – concentração de hemoglobina corpuscular média
COVID-19 – doença do coronavírus 2019
CTLF – capacidade total de ligação do ferro
Da – Dáltons
Dç - doença
DMT-1 – transportador de metal divalente
DNC – doenças neurológicas crônicas degenerativas
DRC – doença renal crônica
EDTA – ácido etilenodiaminotetracético
ELISA - *Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay*
EPO – eritropoetina
ERFE - eritroferrona
FAL – fosfatase alcalina
Fe – ferro
FGF-23 – fator de crescimento de fibroblastos-23
Hb – hemoglobina
HCM – hemoglobina corpuscular média
HD - hemodiálise
HDF – hemodiafiltração
HDL – lipoproteína de alta densidade
HIV – vírus da imunodeficiência humana
Ht - hematócrito
IFN- γ – interferon- γ
IL – interleucina
kDa – kiloDáltons
KDIGO - *Kidney Disease Improving Global Outcomes*
LDL – lipoproteína de baixa densidade
LTF - lactoferrina

PCR – proteína C reativa

Perif. – periférica

Qd – fluxo de dialisato

Qs – fluxo de sangue

RDW – *red cell distribution width* (amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos)

RTf – receptor de transferrina

SPSS – *Statistical Package for the Social Sciences*

TFG – taxa de filtração glomerular

TNF- α – fator de necrose tumoral- α

UFC-E – unidades formadoras de colônia eritróide

VCM – volume corpuscular médio

WHO – *World Health Organization*

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doença Renal Crônica (DRC)

A DRC é uma doença crônica caracterizada pela perda progressiva e irreversível da função renal (glomerular, tubular e endócrina). Essa doença é caracterizada pela diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG) abaixo de 60 mL/ min/ 1,73 m², e/ ou presença de lesão renal determinada por proteinúria/ dano estrutural com duração superior a três meses. Em sua fase mais avançada com TFG < 15 mL/ min/ 1,73 m² caracteriza-se a falência renal, necessitando de tratamento dialítico ou transplante.(1,2)

A DRC é um problema global de saúde pública emergente apresentando uma prevalência mundial em 2017 de 9,1% com 697.5 milhões de casos registrados em todos os estágios.(3) Em 2017 a DRC resultou em 1,2 milhões de mortes e a 12ª posição de causa-morte em todo o mundo. Além disso, milhões de mortes relacionadas às doenças cardiovasculares podem ser atribuídas à função renal prejudicada, segundo boletim da organização mundial de saúde (*World Health Organization - WHO*).(4)

O número estimado de pacientes com DRC em tratamento em diálise cresceu de aproximadamente 77.589 casos no ano de 2009 para cerca de 133.464 em 2018, segundo dados da Sociedade Brasileira de Nefrologia.(5) A prevalência de DRC vem aumentando no Brasil e em todo o mundo ao longo dos anos.

Os rins têm múltiplas funções, como produção de hormônios, controle do equilíbrio hidroeletrolítico, do metabolismo ácido-básico, da pressão arterial e excreção de produtos finais de diversos tipos de metabolismos presentes no organismo.(6) A função renal pode ser afetada de diversas formas, mas na prática clínica, tendo a função excretora maior correlação com os desfechos clínicos, essa medida é obtida através da Taxa de Filtração Glomerular (TFG).(6) A redução progressiva da TFG está associada ao declínio paralelo das demais funções renais e aumento do estado de micro inflamação, e portanto, é esperado o desenvolvimento de anemia, acidose metabólica, e alterações do metabolismo mineral e ósseo. O risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares é elevado sendo considerada a principal causa de mortalidade nesses pacientes.(7)

O estadiamento e classificação da doença propostos por *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO) para efeitos clínicos, epidemiológicos e conceituais, divide a doença em estádios de acordo com o grau de função renal do paciente avaliando as categorias de TFG e albuminúria (2,8), como observado no quadro 1. Nessa última atualização das

diretrizes foi dado um destaque à probabilidade de risco de ocorrência de desfecho(s) adverso(s) tais como mortalidade por diversas causas, principalmente por doença cardiovascular, progressão da DRC e necessidade de terapia renal substitutiva, representado esquematicamente por cores.(8) Em verde temos os casos de baixo risco, caso não haja a presença de nenhum marcador de dano renal, em amarelo o risco é moderadamente aumentado, em laranja o risco é alto e em vermelho o risco é muito alto.

			Estágios de albuminúria persistente (mg/g)			
			A1	A2	A3	
			Normal a levemente aumentada	Moderadamente aumentada	Severamente aumentada	
			< 30	30-300	> 300	
Estágios de TFG (ml/min/1,73 m ²)	1	Normal ou elevada	≥ 90	Verde	Amarelo	Vermelho
	2	Redução leve	60-89	Verde	Amarelo	Vermelho
	3a	Redução leve a moderada	45-59	Amarelo	Amarelo	Vermelho
	3b	Redução moderada a grave	30-44	Amarelo	Amarelo	Vermelho
	4	Redução severa	15-29	Vermelho	Vermelho	Vermelho
5	Falência renal	< 15	Vermelho	Vermelho	Vermelho	

Quadro 1: Estadiamento e classificação da Doença Renal Crônica. (Fonte: KDIGO, 2012).(8)

O manejo da DRC em população idosa assim como o diagnóstico operacional da anemia é uma questão em debate, pois a medida ideal da função renal para esta população ainda está para ser estabelecida.(9) Aproximadamente um terço dos idosos não apresentam declínio da função renal relacionada à idade, entretanto a redução na TFG está associado à coexistência hipertensão, doença cardiovascular e/ ou diabetes mellitus.(10) Os esforços no cuidado do paciente idoso com DRC em fase avançada devem se concentrar no alívio da carga de sintomas e deve ter uma decisão compartilhada entre a opção do tratamento dialítico ou conservador paliativo.(11)

A descoberta de um peptídeo de síntese predominantemente hepática com papel central na homeostase do ferro, denominado hepcidina, têm apresentado uma participação fundamental na patogênese da anemia, uma comorbidade extremamente comum em doentes renais crônicos.(12)

1.2 Anemia na DRC

A anemia é uma complicação muito frequente em pacientes com DRC que se manifesta desde os estágios iniciais, aumentando sua prevalência com a evolução da doença com impacto na morbidade e mortalidade nessa população e associada à pior prognóstico.(13–15) A anemia está presente em cerca de 30% dos pacientes em diálise (16,17) apesar do acesso ao tratamento com AEEs e suplementação de ferro levando à hipóxia, fadiga, dispneia, prejuízo da capacidade cognitiva, redução na qualidade de vida e aumento na mortalidade.

Durante a evolução da anemia crônica a elevação da sobrecarga fluxo/ volume ocasiona um aumento do trabalho cardíaco conduzindo a uma progressiva hipertrofia ventricular esquerda, na tentativa de adaptações hemodinâmicas para manutenção da oxigenação tecidual.(18) Essa situação ativa o sistema nervoso simpático, levando ao aumento da frequência cardíaca e do volume sistólico sobrecarregando o miocárdio podendo predispor ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca.(18)

A perda progressiva da filtração glomerular promove acúmulo de toxinas urêmicas plasmáticas que estão associadas com a ativação do sistema imune e, conseqüentemente, liberação de fatores pró-inflamatórios, que contribuem para um estado de micro inflamação nos pacientes com DRC.(19,20) O aumento do estresse oxidativo e inflamação aparecem em pacientes com DRC muito antes do início da terapia renal substitutiva.(21,22)

Cerca de 35 a 65% dos pacientes em hemodiálise apresentam sinais de inflamação que podem levar à supressão da eritropoiese pela ação de uma série de citocinas.(23) A presença de toxinas urêmicas estimulam o processo inflamatório crônico presente na DRC corroborando para a elevação dos níveis da PCR, uma proteína de fase aguda produzida pelo fígado, e de uma variedade de mediadores inflamatórios, tais como citocinas com atividades pró-inflamatórias, componente do sistema complemento, leucotrienos e prostaglandinas.(24) As citocinas pró-inflamatórias interleucina-1 (IL-1), a interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) são as principais citocinas envolvidas no mecanismo fisiopatológico da inflamação nesta população (24) tendo impacto sobre a proliferação de células tubulares e intersticiais, síntese de matriz extracelular (25), aumentam a atividade pró-coagulante do endotélio (26), estimulam a formação de espécies reativas de oxigênio (27), efeito direto na diferenciação eritrocitária e indução de apoptose (28), como também na apoptose de células tubulares renais e fibrose.(19,24,29,30).

O interferon- γ (IFN- γ) estimula a expressão do transportador de metal divalente (DMT-1) nos macrófagos levando aumento da captação de ferro, além de causar diminuição da expressão de ferroportina. Adicionalmente, a interleucina 10 (IL-10) aumenta a expressão dos receptores de transferrina nos monócitos, e com isso a captação de ferro ligado à transferrina, diminuindo a concentração de ferro sérico.(31,32) Dessa maneira, ocorre diminuição de ferro para eritropoiese contribuindo para anemia mesmo com reservas normais de ferro, caracterizando o quadro de deficiência funcional de ferro.(31) Além disso, o TNF- α , IFN- γ e a IL-1 inibem diretamente a diferenciação e proliferação das células progenitoras eritróides.(19)

A anemia nos pacientes com DRC é causada pela inflamação que leva a um déficit na produção de eritropoetina pelos rins, sendo a principal causa no desenvolvimento dessa comorbidade. Durante o processo inflamatório a produção de citocinas como TNF- α , IL-1, IL-6 e IFN- γ , sintetizados por células inflamatórias nas primeiras horas do início processo inflamatório atuam direta e indiretamente na eritropoiese e encurtando a vida útil dos eritrócitos.(33) A figura 1 demonstra esquematicamente o mecanismo fisiopatológico de desenvolvimento da anemia na DRC.

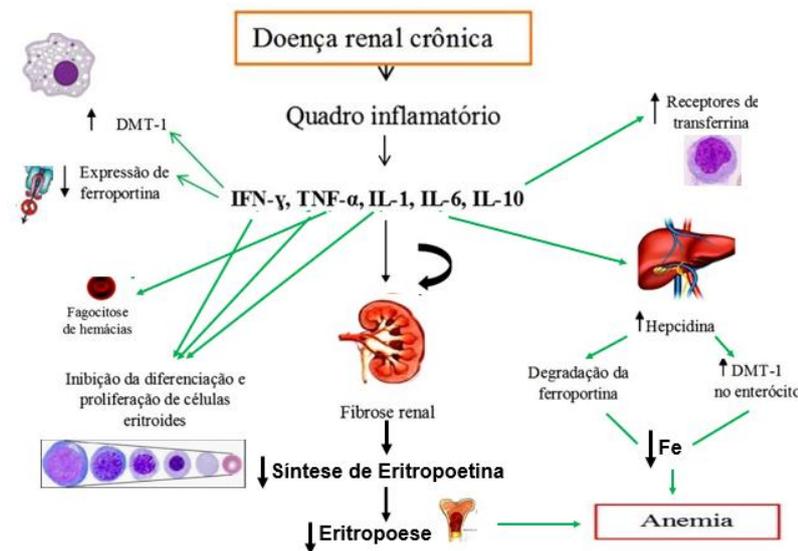


Figura 1: Mecanismo fisiopatológico da anemia na doença renal crônica.

Nos últimos anos, também se observou que a inflamação regula a síntese do hormônio Hecpidina.(34) Este hormônio é produzido pelo fígado e está associado ao balanço de ferro. Pacientes com DRC, assim como aqueles que apresentam outras doenças inflamatórias crônicas, apresentam níveis aumentados de hepcidina, provavelmente devido à inflamação crônica e redução da sua depuração renal.(35) Sendo assim, a hepcidina provavelmente desempenha um importante papel na anemia causada pela inflamação e na resistência ao tratamento com AEEs.(36,37)

A produção de hepcidina aumenta muito durante o processo inflamatório, sendo de grande importância na patogênese da anemia (33), sua síntese se eleva predominantemente, mas não exclusivamente pela IL-6.(38) Aumentos pequenos mas significantes podem ser evidenciados em estados inflamatórios sistêmicos leves, como por exemplo, na obesidade.(39)

Níveis plasmáticos baixo de ferro circulante com elevadas concentrações de ferritina e hepcidina são características encontradas na anemia causada pela inflamação, enquanto a hipoferremia na anemia ferropriva está associada a baixas concentrações de ferritina e hepcidina.(33)

O estudo de Yang et al. observou que pacientes com anemia e DRC apresentaram níveis de hepcidina significativamente maiores em relação ao grupo controle, apresentando correlação positiva entre as concentrações de hepcidina, ferritina sérica e IL-6.(40) Sewefy et al. observaram que pacientes em hemodiálise com altas concentrações séricas de hepcidina, IL-6, PCR e ferritina se associaram com 55% de resistência ao tratamento com AEEs e com menor concentrações hemoglobina.(41)

Em estudo prospectivo multicêntrico realizado com pacientes doentes renais crônicos não dialíticos, também foi observado que os níveis séricos de hepcidina se correlacionaram positivamente com a dose de AEEs.(42) Niihata et al. observaram que níveis mais elevados de hepcidina podem prever a progressão da anemia em pacientes com DRC em tratamento não dialítico.(43)

Múltiplos fatores podem reduzir o tempo de vida útil das hemácias para em torno de 90 dias, devido a heterogeneidade das doenças adjacentes à anemia causada pela inflamação.(44,45) A ativação de macrófagos ocasionada pelo processo inflamatório pode afetar o limite de reconhecimento da senescência das hemácias, antecipando assim sua destruição.(46)

O uso de agentes estimulantes de eritropoiese (AEEs) associada à suplementação de ferro é o tratamento preconizado para correção da anemia nos pacientes com DRC. Entretanto, alguns pacientes, geralmente os mais inflamados, mesmo com a correção dos estoques de ferro; necessitam de doses de AEEs superiores às habituais na tentativa de se manter os níveis recomendados de hemoglobina levando à resistência ou hiporresponsividade a esse tipo de tratamento.(23,36,47-49)

Aproximadamente 10-20% dos pacientes com DRC em estágio avançado apresentam hiporresponsividade à AEEs contribuindo para a morbidade e mortalidade.(50-55)

Em estudo prospectivo observacional realizado com 757 pacientes em tratamento com hemodiálise, níveis de hemoglobina inferiores a 11 g/dL foram associados ao maior risco de mortalidade. Além disso, o grau de resistência ao uso de agentes estimulantes da eritropoiese mostrou uma correlação altamente significativa com todas as causas de mortalidade analisadas no estudo e a eventos cardiovasculares fatais.(56) No estudo de Marcelli et al. foi

observada uma diminuição no índice de resistência ao uso de AEEs em pacientes em tratamento com HDF em comparação com a hemodiálise convencional.(57)

A atividade eritropoiética na medula também é inibida quando a saturação da transferrina, proteína plasmática transportadora de ferro, atinge um nível de 15 a 20% de saturação.(33) Devido ao processo inflamatório existente, a medula óssea promove um aumento na produção de leucócitos através da mediação de citocinas inflamatórias, alterando a razão de produção entre leucócitos e eritrócitos, portanto diminuindo a diferenciação das unidades formadoras de colônia eritróide (UFC-E).(33) A resistência à EPO é ocasionada pela diminuição do número de receptores de EPO nos precursores eritróides pelo efeito da hipoferrêmia, resultando, dessa maneira, em mais um fator na redução da proliferação de eritrócitos.(58)

A anemia nesses pacientes é geralmente do tipo normocítica e normocrômica com celularidade normal na medula óssea (59), com dosagem de hemoglobina variando entre 9 a 12 g/ dL.(45,60) A anemia é diagnosticada quando a concentração de hemoglobina (Hb) para homens fica abaixo de 13 g/dL e abaixo de 12 g/dL para mulheres segundo definição proposta pela Organização Mundial de Saúde, sendo estes critérios utilizados para diagnóstico e não para intervenção terapêutica.(45,61) Mesmo quando a concentração de hemoglobina está na faixa de normalidade é possível identificar a deficiência de ferro através da dosagem de ferritina sérica e da saturação da transferrina. Portanto, as recomendações indicam que sejam realizados hemograma, ferritina sérica e saturação da transferrina para acompanhamento de todos pacientes com DRC independentemente do estágio da doença.(45) A dosagem do conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos tem um baixo índice de variação e pode refletir a atividade hematopoiética ao tratamento com AEEs, e também é recomendada para avaliação da incorporação de ferro durante a eritropoiese.(45,48)

A presença de anemia associada a DRC eleva substancialmente o risco de acidente vascular cerebral (AVC) (62), mostrando que a anemia pode ser um marcador de severidade da DRC. O diagnóstico precoce e tratamento terapêutico da anemia são de extrema importância para que seus efeitos deletérios sobre o sistema cardiovascular e nervoso possam ser reduzidos.(45)

1.3 Biomarcadores do metabolismo do ferro

O excesso de ferro é armazenado de maneira não tóxica em uma proteína intracelular denominada ferritina, que é encontrada no citoplasma das células de diversos tecidos, sendo regulada por alguns mecanismos como sobrecarga de ferro e citocinas pró-inflamatórias.(48)

Apenas uma pequena quantidade de ferritina é secretada para a circulação. A degradação da ferritina em macrófagos e hepatócitos levam à liberação de ferro para restaurar os níveis séricos desse íon estimulados pela atividade eritropoiética, sendo utilizada como um biomarcador do metabolismo do ferro.(48) Na anemia causada pela inflamação ocorre um distúrbio da reutilização do ferro que se mantém sob a forma de depósito (ferritina). O aumento de citocinas inflamatórias estimula a síntese de hepcidina nos hepatócitos que consequentemente bloqueia a liberação de ferro nos macrófagos, fazendo com que aumente os estoques de ferro na forma de ferritina diminuindo a quantidade de ferro disponível para eritropoiese.(48)

Os critérios utilizados para deficiência de ferro em pacientes com DRC são diferentes em comparação com indivíduos com função renal normal.(63) A deficiência absoluta de ferro em pacientes com DRC é definida quando a saturação da transferrina está menor que 20% e a concentração de ferritina sérica inferior a 100 ng/mL e inferior a 200 ng/mL nos pacientes em tratamento pré-dialítico e em diálise, respectivamente.(63) A deficiência funcional de ferro é definida quando os estoques de ferro estão adequados, porém sua disponibilidade para eritropoiese é insuficiente, situação frequente quando os níveis de hepcidina estão aumentados.(63)

Os biomarcadores da homeostase do ferro existentes atualmente são de grande auxílio, mas ainda estão longe de serem exatos, podendo em certos casos resultar em diagnósticos imprecisos da anemia e ainda resultados terapêuticos insatisfatórios.(12) A avaliação da homeostase do ferro em pacientes com anemia é realizada através de uma variedade de testes laboratoriais que incluem ferritina, saturação da transferrina, ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro, receptor de transferrina solúvel, juntamente com parâmetros apresentados no hemograma e reticulócitos.(48,64)

O ferro circula ligado a transferrina para ser transportado para as células. A saturação da transferrina é um índice calculado entre a razão da concentração de ferro sérico e a capacidade total de ligação do ferro (CTLF). Assim, se a transferrina estiver carregando pouco ferro é reflexo de uma baixa saturação, como geralmente observado na DRC.(48,63)

1.4 Hpcidina e metabolismo do ferro

O gene responsável pela produção de hepcidina está localizado no cromossomo 19 e sua síntese é realizada por algumas células, tais como macrófagos, adipócitos, cardiomiócitos, células renais (túbulo distal), sendo os hepatócitos o principal produtor. A hepcidina é uma proteína que apresenta em sua forma ativa 25 aminoácidos contendo quatro pontes

Comentado [VF1]:

dissulfídicas entre oito resíduos de cisteína que lhe confere uma atividade antimicrobiana como descrita primeiramente por Krause et al.(65) Esse efeito antimicrobiano é devido à capacidade da hepcidina em levar a ferropenia apresentando ação bacteriostática e também por algumas espécies de bactérias terem o ferro como importante fator para patogenicidade.(14)

A hepcidina foi inicialmente isolada na urina humana por Park et al. em 2001 (66), porém, seu papel na homeostase do ferro foi descrito por alguns estudos posteriores (67,68) e então, foi denominada como principal peptídeo regulador dos fluxos de ferro no organismo.(69) Fisiologicamente, como observado no esquema na figura 2, condições de sobrecarga de ferro, infecção e inflamação mediada principalmente pela IL-6, aumentam a síntese da hepcidina principalmente nos hepatócitos. O aumento da síntese de hepcidina ocasiona uma diminuição da absorção de ferro da dieta pelos enterócitos duodenais e bloqueio da exportação deste metal proveniente do catabolismo de hemácias senescentes das reservas de macrófagos (34), levando a uma diminuição da disponibilidade de ferro para eritropoiese na medula óssea. Por outro lado, condições patológicas como deficiência de ferro e hipóxia levam a redução na sua produção.(34) Ela também é regulada negativamente pela ação de AEEs levando maior disponibilidade de ferro para a formação de novas hemácias na medula óssea.(34) A eritroferrona (ERFE), um hormônio produzido por eritroblastos em resposta à ação da EPO, é um mediador fisiológico da supressão da síntese de hepcidina durante a eritropoiese.(70)

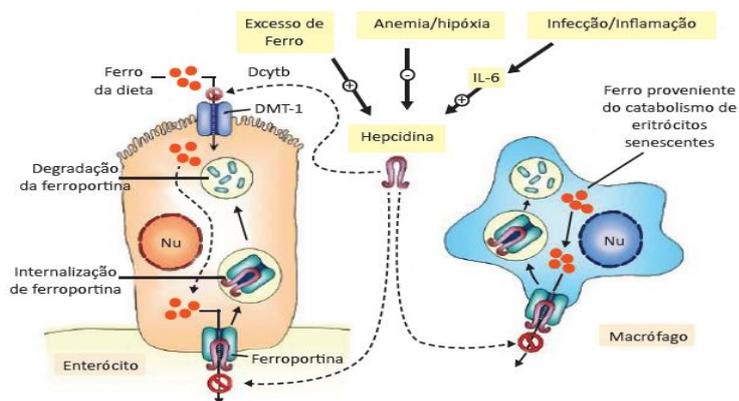


Figura 2: Ação da hepcidina no metabolismo do ferro. (Fonte: Grotto, Rev Bras Hematol. Hemoter., 2008).(71)

Os níveis de ERFE estão significativamente aumentados pelo tratamento com AEEs em pacientes com DRC podendo ser um regulador para a liberação de ferro à eritropoiese, pois se trata de um supressor eritróide da concentração de hepcidina.(48) Um estudo observacional retrospectivo investigando 24 pacientes em hemodiálise com anemia foi demonstrada uma correlação inversa significativa entre os níveis de hepcidina e ERFE.(72) Da mesma forma Honda et al. avaliando 59 pacientes em hemodiálise observaram que os níveis de ERFE tiveram uma correlação inversa com os de hepcidina e ferritina, e que as maiores concentrações de ERFE e o uso de AEEs reduziram os níveis de hepcidina.(73)

Níveis aumentados de hepcidina estão presentes na circulação de pacientes com DRC, portanto, diminuindo o suprimento de ferro e dificultando conseqüentemente a diferenciação e maturação dos eritroblastos, pois o ferro é um elemento fundamental para diferenciação dessas células na medula óssea.(74,75)

O metabolismo da hepcidina é muito alterado em pacientes com DRC tendo seus níveis aumentados com a evolução da perda de função renal, portanto apresentando uma correlação inversa com a TFG. No estudo de Troutt et al. os níveis de hepcidina estavam aproximadamente 20 vezes maiores avaliando 103 pacientes com DRC sem tratamento dialítico em comparação com indivíduos saudáveis.(76) No estudo de Ashby et al. pacientes em tratamento dialítico apresentavam níveis significativamente mais elevados em comparação ao grupo com DRC não dialítico.(77) Malyszko et al. também demonstraram que as concentrações de hepcidina em indivíduos em hemodiálise eram significativamente maiores em relação aos grupos com DRC e adultos saudáveis.(78)

Os fatores que estimulam a síntese de hepcidina regulam sua transcrição através da ativação do gene HAMP.(59) A hepcidina também pode ser sintetizada localmente como um peptídeo intrínseco pelas células epiteliais do túbulo e ducto coletor nos rins sendo secretada na urina.(59) Devido ao seu tamanho, fisiologicamente a hepcidina atravessa a membrana glomerular e é degradada no túbulo proximal. Em pacientes com DRC essa depuração fica prejudicada levando seu acúmulo no plasma, contribuindo para o sequestro de ferro nos macrófagos limitando, assim, a disponibilidade de ferro para eritropoiese. Portanto, esse mecanismo pode contribuir significativamente para anemia na DRC.(34)

A hepcidina exerce sua função através de sua ligação a uma proteína presente na membrana plasmática de macrófagos e enterócitos denominada ferroportina. A ferroportina é um transportador de vários metais como manganês, cobalto e zinco, porém sua maior afinidade é com o ferro, sendo o único poro por onde ocorre a saída de ferro das células.(79)

O complexo hepcidina-ferroportina é internalizado e após a sua formação e ação é posteriormente degradado nos lisossomos.(79) O ferro pode ser armazenado na ferritina intracelular ou liberado dos estoques através da ferroportina para ser disponibilizado para a circulação sanguínea através da captação mediada pela transferrina. O acúmulo de ferro nos hepatócitos e macrófagos reduz a passagem de ferro para o plasma resultando em baixa saturação da transferrina e menos disponibilização de ferro liberado para eritropoiese.(71)

A depuração da hepcidina é realizada através de sua degradação com a formação do complexo hepcidina-ferroportina no interior das células e de sua excreção renal.(13) O aumento de concentrações plasmáticas de hepcidina em pacientes com DRC tem sido também pela diminuição de sua excreção renal e/ ou remoção insuficiente no tratamento por diálise.(37,80) A hepcidina tem papel central entre a inflamação e os distúrbios no metabolismo do ferro nessa população, diminuindo consideravelmente a disponibilidade de ferro para a atividade eritropoiética, tendo grande impacto no desenvolvimento da anemia nesses pacientes(48,74) assim como na resistência à terapia com AEEs.(37,44) Uma correlação linear positiva entre os níveis de hepcidina e resistência a AEEs foi demonstrada no estudo de Panichi et al.(47), suportando o papel da hepcidina no desenvolvimento da resistência terapêutica à AEEs. Alguns estudos demonstraram que a indisponibilidade de ferro era comum nos pacientes em hemodiálise associada a altos níveis de hepcidina e aumento de biomarcadores inflamatórios.(47) Num estudo prospectivo observacional realizado com 757 pacientes em tratamento com hemodiálise observou-se que os níveis de hemoglobina inferiores a 11 g/dL estavam associados ao maior risco de mortalidade. Além disso, o grau de resistência ao uso de agentes estimulantes da eritropoiese mostrou uma correlação altamente significativa com todas as causas de mortalidade e a eventos cardiovasculares fatais.(56)

No estudo de Putten et al. a alteração nos níveis de hepcidina foi associada mais a marcadores de carga de ferro do que propriamente um marcador inflamatório, após avaliar pacientes estáveis com anemia, DRC e insuficiência cardíaca, cuidadosamente selecionados e apresentando baixo estado inflamatório.(81)

Muitos estudos vêm associando concentrações plasmáticas de hepcidina com marcadores de rigidez vascular, aterosclerose e doença cardiovascular. Em um estudo de Kali et al. de 2016, foi evidenciado uma associação positiva dos níveis de hepcidina com o aumento da espessura da camada íntima-média da carótida, mostrando uma correlação da hepcidina como um fator preditor de formação da placa de aterosclerose em pacientes com DRC em tratamento com hemodiálise.(82) Neste estudo foi suposto que níveis mais altos de hepcidina estão associados à doença aterosclerótica pela retenção de ferro nos macrófagos na

parede vascular. Esse sequestro de ferro intracelular pode resultar num ambiente pró-aterogênico, possivelmente mediado por estresse oxidativo que impede o efluxo de colesterol, pela resposta inflamatória e apoptose de macrófagos.(82)

A hepcidina é considerada um marcador inflamatório importante na DRC, estudos recentes vêm descobrindo novos marcadores que podem ter influência na atividade inflamatória, como a lactoferrina (LTF).

1.5 Lactoferrina

A lactoferrina (LTF), uma glicoproteína de 78kDa (83), presente em diversos fluidos corporais humanos (leite, saliva, lágrima, secreção nasal, fluido gastrointestinal, mucosa vaginal e sêmen) semelhante à transferrina em 44% na sua estrutura e composição (83,84), possuindo maior afinidade pelo ferro em pH mais baixos nos locais da inflamação que a transferrina. (85–87) O processo inflamatório ocasiona aumento de receptores de LTF na superfície de macrófagos ativados aumentando a internalização e estoques de ferro.

A LTF é uma glicoproteína que difere funcionalmente da transferrina por não transferir ferro às células eritropoiéticas devido à ausência de receptores nessas células, sendo retida rapidamente por macrófagos, aumentando os depósitos de ferro.(87)

A LTF tem uma importante função anti-inflamatória pela sua regulação negativa da IL-6. Como altos níveis de IL-6 estão envolvidos em distúrbios no metabolismo do ferro, nesse contexto, a LTF vem emergindo como potencial componente regulador da inflamação.(85,86) Além disso, alguns estudos vem demonstrando funções importantes na defesa antioxidante, protegendo os rins contra várias lesões, pois suprime a morte celular induzida pelo estresse oxidativo e a apoptose aumentando a autofagia, portanto, exercendo um papel antifibrótico nas células tubulares renais.(88)

Altos níveis de mRNA de LTF foram detectados nos rins humanos, indicando que sua produção por este órgão pode ter participação na imunidade inata, sendo expressas nas células que revestem os ductos coletores distais da medula.(89) Essa glicoproteína pode contribuir para a defesa imunológica dos rins por diminuir quantidades de ferro livre protegendo contra lesões oxidativas não microbianas, como a inflamação e isquemia.(89)

O estudo e avaliação de marcadores inflamatórios é muito importante em doenças que apresentam uma estimulação ativa do sistema imunológico como na DRC e a utilização de tratamentos que possam reduzir a inflamação são fundamentais por poder retardar a evolução de desfechos clínicos importantes que possam diminuir a qualidade de vida desses pacientes acometidos.

1.6 Hemodiafiltração (HDF)

Os rins humanos são capazes de filtrar eficientemente produtos provenientes de diversos metabolismos com tamanhos de massa entre 40 a 60 kDa.(62) O tratamento com hemodiálise convencional consegue remover apenas moléculas com massas menores (abaixo de 500Da.(62), conseqüentemente, esses pacientes apresentam um acúmulo de toxinas urêmicas com peso molecular > 500 Da ou ligadas a proteínas.(90)

Com a finalidade de promover a depuração de um espectro maior de moléculas de tamanho médio uma modalidade de diálise foi proposta em 1975 por Henderson et al. (91) que utiliza como princípios técnicas de difusão e convecção/ ultrafiltração através do desenvolvimento de uma membrana sintética com alta permeabilidade, porosidade e seletividade capaz de promover uma maior troca entre o sangue e a solução de diálise, denominada HDF. A utilização de dialisato ultrapuro, menor variação hemodinâmica, reposição automática do líquido de substituição e depuração de moléculas médias vêm contribuindo para diminuição da inflamação e suas conseqüências nos pacientes submetidos a esse tratamento.(92)

A HDF é capaz de remover da circulação moléculas de tamanho intermediário com massas de 500 a 15kDa, como a β_2 -microglobulina com 11.800Da e a hepcidina com 2.791Da.(93,94) Alguns estudos mostraram que a HDF pode remover moléculas maiores, com aproximadamente 30kDa, como FGF-23 (fator de crescimento de fibroblastos-23).(95) Esta técnica teve inicialmente limitações devido ao grande volume necessário para a solução de substituição, porém com a introdução automática de fluído de reposição pela produção *online* mostrou-se uma técnica clinicamente segura e com grande capacidade de depuração.(96,97)

A HDF *online* de alta eficiência demonstrou melhorar a anemia e reduzir a necessidade de maiores administrações de AEEs devido a um efeito associado com uma redução da resposta inflamatória.(47,97) A HDF está associada a vários benefícios clínicos em relação a hemodiálise convencional (98), sendo demonstrada em diversos estudos como: redução da mortalidade (56,99); redução o risco cardiovascular por fornecer um controle maior da hiperfosfatemia (100); melhora do quadro inflamatório (101); melhor resposta à ação de AEEs pelo aumento da remoção de substâncias de tamanhos médio a grande, como a hepcidina (47,57); aumento da estabilidade hemodinâmica (102,103); maior controle da sobrecarga de líquidos e hipertrofia ventricular esquerda (104); diminuição da disfunção endotelial e o enrijecimento das artérias (105); melhora do cálcio sérico (106); melhora da dor

de articulações (107); diminuição da amiloidose relacionada ao processo dialítico (108) e melhor qualidade de vida.(109)

No estudo de Marcelli et al. foi observado em 19.849 participantes no período de quase 2 anos uma diminuição no índice de resistência ao uso de AEEs em pacientes em tratamento com hemodiafiltração (HDF) em comparação com a hemodiálise convencional; sugerindo que a maior remoção de toxinas urêmicas por HDF possa ter contribuído para menor resistência a AEEs.(57)

Stefánsson et al. (62) em 2012 demonstraram que o tratamento com HDF reduziu em 38% os níveis séricos de hepcidina fazendo uma comparação com hemodiálise convencional.(62) Tessitore et al. (93) em 2017 verificaram que com apenas uma sessão de HDF houve uma redução dos níveis plasmáticos de hepcidina e TNF- α . Em contrapartida os participantes do estudo em tratamento com hemodiálise convencional, apresentaram níveis de hepcidina inalterados e aumento significativo de TNF- α .(93) Sendo assim, a HDF parece ter uma boa eficácia na remoção de moléculas médias e diminuição da inflamação.

Em 2002 um estudo de Bonforte et al. (97) reportou que o tratamento com HDF *online* se associou com aumento significativo de hemoglobina e sem uso de AEEs e reduziu a dose de EPO em pacientes tratados previamente com HD convencional.(97) Esses efeitos podem ser atribuídos a maior remoção de substâncias através do transporte convectivo e pela reinfusão de dialisato ultrapuro.(97)

Outro estudo em 2006 demonstrou que a HDF de alta eficiência proporcionou uma melhor correção da anemia com menores doses de AEEs quando comparada com a hemodiálise convencional.(110) Uma possível explicação para esses achados seria a maior remoção de moléculas médias que poderiam ser responsáveis pela resistência à AEEs, além da maior biocompatibilidade da membrana artificial, dialisato ultrapuro o que resultaria na diminuição do estímulo inflamatório crônico.(110)

Manduel et al., avaliaram as diferenças entre as modalidades dialíticas HDF convencional e HDF *online* e observaram diminuição da toxicidade urêmica provavelmente pela maior remoção de moléculas pequenas e médias, com aumento do Kt/V médio, demonstrando maior correção da anemia e diminuição da administração de EPO recombinante no tratamento com HDF *online*.(111) Além disso, a pressão sanguínea foi controlada mais facilmente pelo tratamento com HDF *online*.

Por outro lado, o estudo prospectivo de Wizemann et al. não observou diferença entre as modalidades de diálise (HD baixo-fluxo versus HDF *online*) para doses de EPO recombinante e hematócrito.(112) Assim, como outro estudo prospectivo de Ward et al.

comparando HDF *online* com HD de alto-fluxo não observou nenhuma mudança entre as dosagens de hemoglobina e hematócrito durante o período de observação dos participantes.(113)

Tendo em vista a pequena quantidade de estudos no Brasil demonstrando a eficácia do tratamento com HDF em diminuir as concentrações de hepcidina e a influência desse tratamento na anemia de pacientes com DRC, principalmente em indivíduos idosos, novos estudos se fazem necessários para essa avaliação.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar a concentração sérica de hepcidina após tratamento com HDF em pacientes idosos com DRC.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a concentração sérica de biomarcadores da inflamação (PCR, IL-6, TNF- α , IL-10 e LTF) e sua associação com os níveis de hepcidina e parâmetros hematimétricos (Hb e Ht) após tratamento com HDF em pacientes idosos com DRC.

3 JUSTIFICATIVA

A hepcidina é regulada pelo estado inflamatório e regula negativamente os estoques de ferro; contribuindo para anemia nos pacientes em diálise. Desta forma, utilizar de técnicas que removam as toxinas urêmicas que estão associadas a inflamação como é o caso da HDF, pode ter impacto sobre a anemia em pacientes com DRC.

4 HIPÓTESE

O tratamento com HDF é capaz de diminuir a concentração de hepcidina e biomarcadores inflamatórios e melhorar o estado anêmico de pacientes idosos com DRC.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 População do estudo

Um total de 30 pacientes idosos com idade entre 65 a 94 anos com DRC que previamente faziam tratamento com hemodiálise convencional em uma clínica de hemodiálise privada da cidade de São Paulo (Unidade de Hemodiafiltração do Hospital Sancta Maggiore/ Prevent Senior), foram selecionados e incluídos no estudo após lerem e assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Nove de Julho/ UNINOVE: C.A.A.E - 97475918.5.0000.5511; Número do Parecer: 2.962.842.

5.2 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos no estudo pacientes com DRC > 65 anos em hemodiálise convencional.

Foram excluídos do estudo e não selecionados pacientes com idade inferior a 18 anos, portadores de neoplasias em tratamento radio e/ou quimioterápico, história de infecção e/ou inflamação recente (< 1mês) em uso de antibióticos ou anti-inflamatórios, pacientes em tratamento com drogas imunossupressoras, acamados, com doenças neurológicas crônico degenerativas, com deficit neurológico periférico, uso crônico de corticoides, uso de terapia hormonal tópica ou sistêmica, obesidade mórbida, pacientes em cuidados paliativos, diagnóstico de insuficiência vascular periférica grave, portadores de doenças auto imunes em atividade, pacientes ortopédicos com osteoartrose de joelho e/ou quadril, pacientes portadores de prótese ortopédica, gestantes, infecção pelo vírus da hepatite B e/ou C, HIV, COVID-19 e aqueles que tenham realizado transplante renal.

Dos pacientes selecionados para o início do estudo foram excluídos aqueles que necessitaram ser transferidos para outros centros de diálise, diminuição da frequência semanal de diálise e cuidados paliativos.

Após inclusão no estudo mediante os critérios de inclusão e exclusão (Figura 3), 30 pacientes foram acompanhados por 12 meses. Entretanto, ao longo do seguimento, ocorreu a pandemia por COVID-19, o que contribuiu para a perda de 11 pacientes (4 óbitos, sendo 2 por COVID; 6 transferências de serviço e 1 transplante) e impossibilitando a inclusão de novos pacientes neste período; totalizando uma amostragem de 19 participantes até o final do estudo (Figura 3).

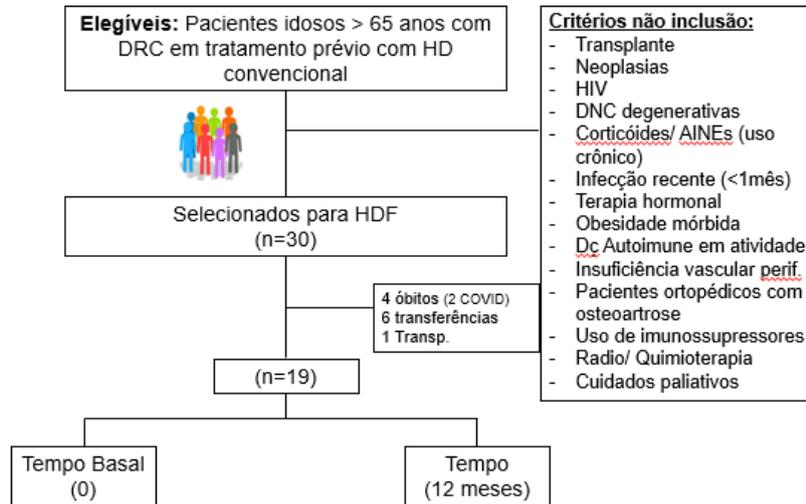


Figura 3. Desenho do estudo.

Foram coletadas amostras de sangue de todos os pacientes ($n = 30$) antes de iniciar a 1ª. Sessão de HDF (tempo zero/basal = T0). Estas amostras foram coletadas em tubo seco com gel separador centrifugadas a 3.500 rpm por 15 minutos, para obtenção de soro e posteriormente armazenadas à temperatura de -80°C para dosagem de hepcidina, lactoferrina e citocinas por ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). Uma coleta em tubo com EDTA também foi obtida para realização do hemograma para avaliação dos parâmetros hematimétricos (hemoglobina, hematócrito e índices hematimétricos -VCM, HCM, CHCM e RDW), sendo mensuradas no mesmo dia da coleta em analisador hematológico padrão. Também foram realizados exames bioquímicos proveniente da coleta de tubo seco com gel separador no dia da coleta para mensuração de ureia, creatinina, sódio, potássio, cálcio, fósforo, vitamina D, glicose, colesterol e frações, triglicérides, $\beta 2$ -microglobulina, proteínas totais, albumina, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina, ferritina, transferrina, ferro sérico, capacidade de ligação do ferro, índice de saturação da transferrina e PCR em analisadores bioquímicos automatizados. Também foi aferido a diurese residual e o Kt/V foi calculado após cada tempo do estudo.

Todos estes procedimentos de análises laboratoriais foram repetidos também após 12 meses (T12) para os 19 pacientes que permaneceram no estudo desde o início do tratamento com HDF.

5.3 Características da terapia renal substitutiva por HDF

As sessões de HDF foram realizadas no mesmo tipo de dialisador com fluxos semelhantes de sangue e dialisato. Todas as sessões de HDF seguiram os seguintes parâmetros: duração da sessão de 3 a 4hs de acordo com a função renal residual; tampão bicarbonato; dialisador de polissulfona de alto fluxo e alta eficiência; fluxo de sangue (Qs) de 350 a 400mL/min; fluxo de dialisato (Qd) de 800mL/min menos o fluxo de infusão, que foi de 80mL/min. A máquina de diálise utilizada foi a 5008 da Fresenius® com utilização de dialisato ultrapuro com reposição no modo pós-dilucional.

5.4 Dosagem de hepcidina

A mensuração da hepcidina foi realizada pelo teste de imunoenensaio enzimático ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA, catálogo: DHP250) do tipo sanduíche, de acordo com o preconizado pelo fabricante com limite de detecção 1.70 pg/mL.

5.5 Dosagem de lactoferrina

A mensuração de lactoferrina foi realizada pela metodologia de ELISA tipo sanduíche (RayBiotech, Norcross, GA, USA, catálogo: ELH-LTF) de acordo com o preconizado pelo fabricante com limite de detecção de 1.96 ng/mL.

5.6 Dosagem das citocinas IL-6, IL-10 e TNF- α

As dosagens das citocinas foram realizadas pela técnica de ELISA através dos kits: BioLegend, San Diego, CA, USA - Legend Max™ Human IL-6 ELISA Kit (catálogo: 430507) com limite de detecção de 1.6 pg/ mL; BioLegend, San Diego, CA, USA - Legend Max™ Human IL-10 ELISA Kit (catálogo: 430607) com limite de detecção de 2 pg/ mL; BioLegend, San Diego, CA, USA - Legend Max™ Human TNF- α ELISA Kit with Pre-coated Plate (catálogo: 430207) com limite de detecção de 3.5 pg/ mL, realizado de acordo com o preconizado pelo fabricante.

6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados foram registrados em uma planilha utilizando o programa Excel da Microsoft e a análise estatística realizada pelo software *SPSS for Windows* versão 26 (IBM Corp. Armonk, NY, USA). Para todas as análises estatísticas realizadas foi estabelecida uma significância inferior a 0,05 ($p < 0,05$).

As características demográficas e os resultados das análises laboratoriais dos participantes foram apresentados conforme padronização da estatística descritiva, demonstrados na tabela 1, 2 e 3.

A normalidade dos dados foi realizada pelo teste Shapiro-Wilk, sendo mais recomendado para casos com um número pequeno de amostras. As variáveis contínuas foram apresentadas por mediana e valor mínimo e máximo, pois os dados não seguiram uma distribuição normal. Os dados categóricos foram descritos em valores absolutos e porcentagem da amostra total.

A comparação das medidas nos dois momentos analisados T0 e T12 (pós-tratamento com HDF) foi realizada pelo teste de Wilcoxon, pois os dados seguiram uma distribuição não paramétrica. A intensidade de associação entre variáveis contínuas foi feita através da correlação de Spearman.

7 RESULTADOS

O estudo envolveu o acompanhamento de 19 pacientes idosos com média de idade de $77,5 \pm 7,2$ anos em tratamento com HDF com média de diurese residual de $642,1 \pm 302,4$ mL por um período de 12 meses cujos dados demográficos e bioquímicos estão descritos na tabela 1. A média do Kt/V (cálculo realizado para avaliar a qualidade da diálise) inicial dos pacientes foi de $1,42 \pm 0,35$. Na tabela 2 foram descritos os resultados de hepcidina, lactoferrina e marcadores inflamatórios e na tabela 3, os dados hematimétricos e marcadores do metabolismo do ferro dos pacientes no tempo zero (antes do início do tratamento por HDF) e no T12 (após 12 meses de tratamento com HDF). Entre os pacientes estudados durante o seguimento, 17/19 (89%) receberam 4000 UI/semana de AEEs e 14/19 (74%) foram suplementados com 100 mg de ferro /semana.

Tabela 1. Dados demográficos e bioquímicos dos pacientes no tempo zero (antes do início do tratamento por HDF) e no T12 (após 12 meses de tratamento com HDF)

	T0 (basal) Mediana (mín-máx)	T12 Mediana (mín-máx)	valor de p
Idade (anos)	$77,5 \pm 7,2^*$		
Masculino (%)	14 (73,7%)		
Peso (Kg)	67 (42,5-93)	65,2(40-89)	0,06
IMC (Kg/m ²)	24,3 (16,3-36)	24,3 (16-32)	0,15
Kt/V	1,28 (1,02-2,57)	1,63 (1,20-2,45)	0,035
Ureia (mg/dL)	122 (74-122)	168 (107-247)	0,004
Creatinina (mg/dL)	6,31 (3,2-12,4)	7,99 (4,6-14,2)	0,001
Sódio (mmol/L)	139 (131-153)	138 (135-147)	0,39
Potássio (mmol/L)	4,7 (3,1-6,3)	5,4 (4,0-6,4)	0,004
Fósforo (mg/dL)	4,3 (3,1-7,0)	4,6 (3,1-6,1)	0,95
Cálcio (mg/dL)	8,4 (6,9-9,6)	8,9 (7,9-11,2)	0,003
Vitamina D (ng/mL)	27 (16-79)	23 (9-49)	0,007
Glicose (mg/dL)	159 (70-401)	113 (76-282)	0,02
Colesterol (mg/dL)	150 (78-2250)	145 (82-258)	0,20
Triglicérides (mg/dL)	160 (50-370)	138 (43-651)	0,68
HDL (mg/dL)	38 (19-108)	40 (25-86)	0,88
LDL (mg/dL)	70 (14-132)	87 (37-133)	0,02
ALT (U/L)	18 (5-39)	21 (7-45)	0,01
FAL (U/L)	79 (60-171)	82 (49-181)	0,43
Proteínas totais (g/dL)	6,5 (5,6-7,5)	6,0 (5,4-7,5)	0,01
Albumina (g/dL)	3,9 (3,1-4,3)	4,0 (3,6-4,3)	0,30
β 2-microglobulina (mg/L)	13,3 (9,6-16,9)	17,9 (13,9-32,9)	0,001

*valor descrito em média \pm desvio padrão

valor de p obtido pelo teste de Wilcoxon

HDL-lipoproteína de alta densidade; LDL-lipoproteína de baixa densidade; ALT-*alanina aminotransferase*, FAL-*fosfatase alcalina*

Tabela 2. Marcadores inflamatórios dos pacientes no tempo zero (antes do início do tratamento por HDF) e no T12 (após 12 meses de tratamento com HDF)

	T0 (basal) Mediana (mín-máx)	T12 Mediana (mín-máx)	valor de p
Hepcidina (pg/mL)	72.500 (1.300-92.400)	92.900 (34.000-92.900)	0,01
PCR (mg/L)	6,31 (0,52-100,37)	3,39 (0,31-15,51)	0,006
IL-6 (pg/mL)	11,5 (0,2-86)	10,3 (0,6-193,9)	0,51
IL-10 (pg/mL)	1,70 (0,2-12,6)	4,70 (0,1-24,6)	0,01
TNF- α (pg/mL)	3,1 (0,6-48,3)	9,7 (2,2-106,6)	0,01
Lactoferrina (ng/mL)	355 (11-588)	354 (30-721)	0,84

valor de p obtido pelo teste de Wilcoxon
PCR-proteína C reativa, IL-interleucina, TNF- α – fator de necrose tumoral.

Tabela 3. Dados hematimétricos e marcadores do metabolismo do ferro no tempo zero (antes do início do tratamento por HDF) e no T12 (após 12 meses de tratamento com HDF)

	T0 (basal) Mediana (mín-máx)	T12 Mediana (mín-máx)	valor de p
Hemoglobina (g/dL)	9,9 (8,4-13,3)	11,7 (9,8-13,0)	0,006
Hematócrito (%)	30,2 (24,4-40,2)	33,6 (28,6-38,1)	0,03
VCM (fL)	90,7 (82,6-97,2)	93 (86,1-101,8)	0,002
RDW (%)	14,6 (12,2-16,8)	15,7 (12,4-19,6)	0,09
Ferro sérico (μ g/dL)	58 (32-101)	70 (23-187)	0,37
Ferritina (ng/mL)	212,6 (48,1-1602,2)	425,9 (38,2-1215,5)	0,06
Transferrina (mg/dl)	188 (124-227)	201 (150-253)	0,05
CLTF (μ g/dL)	201 (122-292)	274 (225-336)	0,001
Saturação Transferrina (%)	30,5 (17,1-63,8)	34,8 (9,1-124,7)	0,77

valor de p obtido pelo teste de Wilcoxon
VCM-volume corpuscular médio; RDW-amplitude de distribuição dos eritrócitos; CLTF-capacidade de ligação total do ferro.

Após 12 meses de tratamento com HDF houve um aumento significativo no cálculo do Kt/V como observado na tabela 1 pelo aumento da mediana de 1,28 para 1,63 ($p=0,035$). Observamos aumento significativo nas concentrações de creatinina, β 2-microglobulina (Tabela 1, Figura 4(B)) e hepcidina (Tabela 2, Figura 4 (A)) após 12 meses de seguimento.

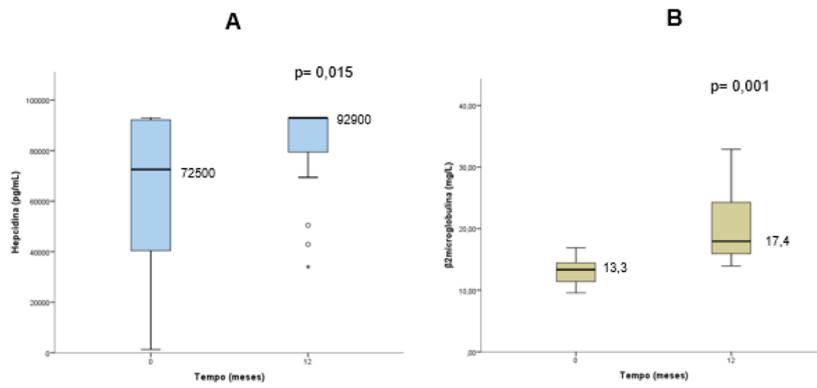


Figura 4. (A) Mediana da hepcidina no Tempo 0 e 12 meses (pós-HDF). (B) Mediana de $\beta 2$ -microglobulina no Tempo 0 e 12 meses (pós-HDF).

Em relação aos marcadores inflamatórios houve uma diminuição significativa dos níveis de PCR ($p=0,006$), aumento do TNF- α ($p=0,01$) e aumento da citocina anti-inflamatória IL-10 ($p=0,01$) como pode ser verificado na Tabela 2, Figura 5 (A), (B), (C); respectivamente. A IL-6 e lactoferrina não apresentaram diferenças entre os tempos observados no estudo como observado na tabela 2.

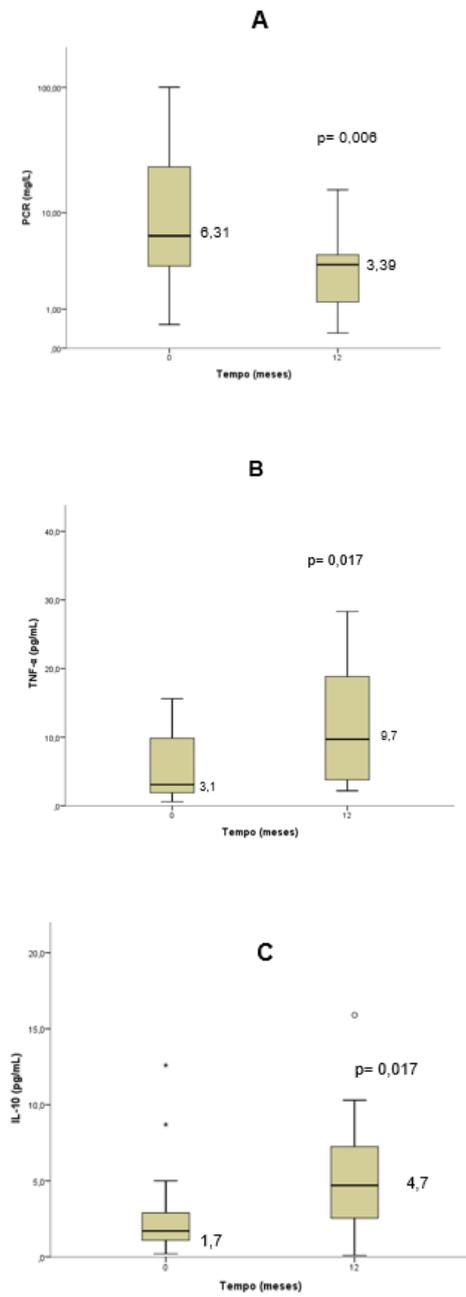


Figura 5. Comportamento da mediana de PCR (A), de TNF- α (B) e da IL-10 (C).

As medidas da hemoglobina e hematócrito aumentaram no T12 ($p=0,006$ e $p=0,031$, respectivamente), como pode ser observado na Tabela 3 e na figura 6 (A) e (B).

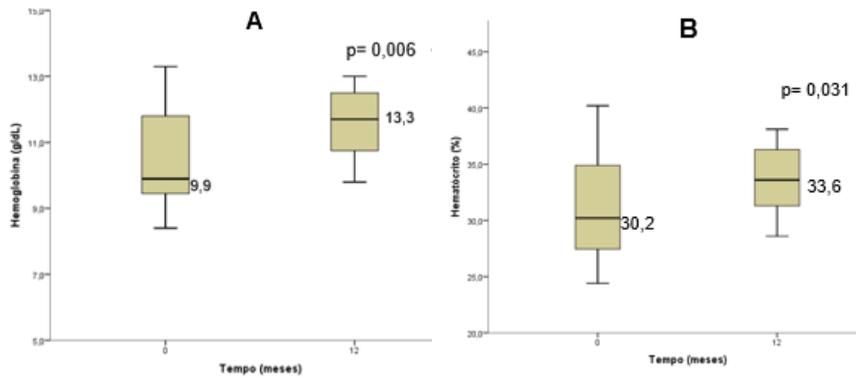


Figura 6. Mediana nos tempos T0 e T12 para hemoglobina (A) e hematócrito (B).

Observamos correlação positiva entre hepcidina e ferritina ($r=0,60$; $p=0,006$), como mostrado na Figura 7.

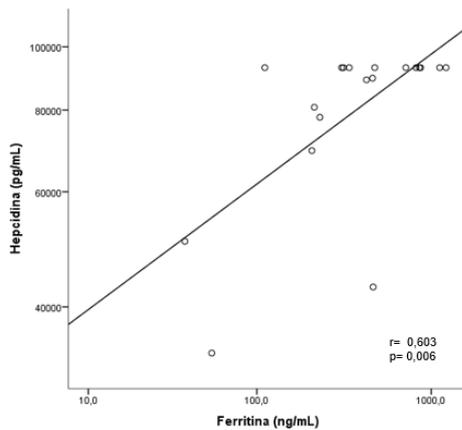


Figura 7. Gráfico da correlação entre hepcidina e ferritina.

Também observamos correlação entre hepcidina e $\beta 2$ -microglobulina ($r=0,62$; $p=0,004$), demonstrado na Figura 8.

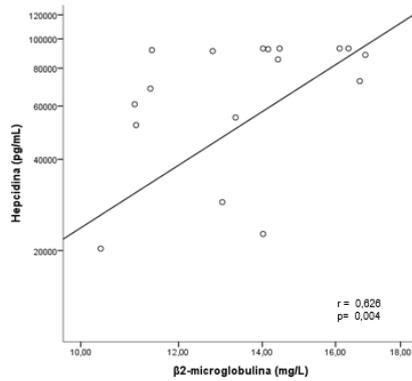


Figura 8. Gráfico da correlação entre hepcidina e β2-microglobulina.

A hepcidina apresentou-se com uma correlação negativa com a transferrina ($r = -0,51$; $p = 0,02$) e capacidade total de ligação do ferro ($r = -0,52$; $p = 0,02$), como observado na Figura 9 (A) e (B), respectivamente.

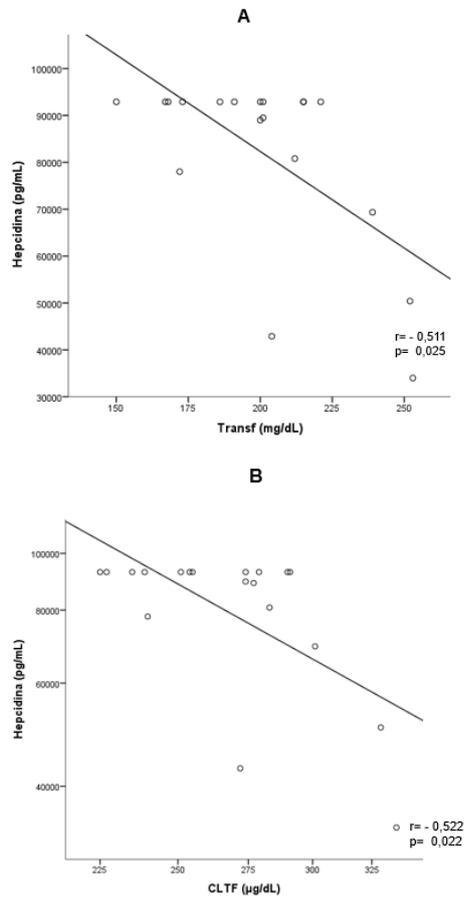


Figura 9. Gráfico (A) mostrando a correlação entre hepcidina e transferrina, e no gráfico (B) mostrando a correlação entre hepcidina e CLTF.

8 DISCUSSÃO

Após 12 meses de tratamento com HDF não observamos diminuição nas concentrações séricas de β 2-microglobulina e hepcidina provavelmente devido a perda da função renal residual nessa população idosa de doentes renais crônicos.

Adicionalmente, observamos correlação entre hepcidina e β 2-microglobulina ($r=0,62$; $p=0,004$). O aumento das concentrações de β 2-microglobulina pode contribuir para a sinalização da síntese de hepcidina; já que a β 2-microglobulina é uma toxina urêmica pró-inflamatória. Além disso, o aumento da concentração sérica de hepcidina pode ser resultado da agregação ou ligação a proteínas maiores como a α -2-macroglobulina, da presença de toxinas urêmicas e manutenção do estado inflamatório nessa população idosa.

O aumento da síntese de hepcidina observado na DRC é responsável pelo bloqueio da liberação de ferro dos macrófagos para a circulação fazendo com que este seja armazenado na forma de ferritina, portanto o aumento de hepcidina teve uma correlação positiva com a ferritina como pode ser observado no presente estudo, assim como observado por Hanudel et al. para coorte de pacientes com DRC dependente ou não de diálise.(114)

A menor concentração de PCR após 12 meses poderia indicar menor inflamação, entretanto os níveis observados após 12 meses são ainda indicadores de inflamação presente; assim como observado pelo aumento do TNF- α . Também foi evidenciado aumento da IL-10 que possui ação de atenuação da resposta inflamatória e sua diminuição está associada com aumento da PCR.(24) No presente estudo, observamos uma redução dos níveis de PCR e aumento das concentrações de IL-10 na provável tentativa de regulação da inflamação, refletida pelo aumento dos níveis de TNF- α e hepcidina. Entretanto, sabe-se que para a IL-10 contra regular estes biomarcadores inflamatórios, é necessário que as concentrações sejam maiores que 10 vezes as concentrações dos marcadores inflamatórios, o que não ocorreu em nosso estudo.

A IL-6 é uma das citocinas mais estudadas na DRC devido sua extensa atividade pró-inflamatória e geralmente apresenta-se com níveis elevados nessa doença.(24,115) Porém, pode ser observado resultados conflitantes na literatura em relação ao papel da IL-6 na doença renal crônica como observado no estudo de Salimi et al. onde não foi evidenciado alterações significativas de IL-6 em adultos com idade ≥ 60 anos num seguimento de 9 anos.(116) Em nossos achados, também não foi evidenciada elevação dos níveis de IL-6 após o acompanhamento de 12 meses de tratamento.

Embora não tenhamos observado correlação entre hepcidina e parâmetros inflamatórios (IL-6, IL-10, PCR e TNF- α), esta aumentou após 12 meses de HDF. De acordo com os achados de Malyszko et al., que avaliaram pacientes clinicamente estáveis dialisados por HDF também não observaram correlações significantes entre hepcidina, PCR, TNF- α e IL-6.(117)

Observamos diminuição da vitamina D ao longo do seguimento, entretanto, vale salientar que apenas 6 pacientes (31,6%) fizeram reposição com vitamina D. A insuficiência da vitamina D é altamente prevalente na DRC e apresenta uma correlação inversa com a hepcidina como observado na literatura. Zughaier et al. relataram que a melhora do status de vitamina D reduziu os níveis de hepcidina *in vitro* (cultura de monócitos) e *in vivo* em indivíduos com DRC.(17) Portanto, a redução do status de vitamina D presente nos pacientes do presente estudo pode também ter influenciado no aumento da hepcidina.

Embora a hepcidina tenha aumentado e se correlacionado positivamente com ferritina e negativamente com CLTF, observamos maiores níveis de hemoglobina e hematócrito. Na DRC a CLTF geralmente apresenta valores reduzidos frente às altas concentrações de hepcidina, provavelmente pelo efeito da hepcidina em impedir a disponibilização de ferro dos estoques.

No presente estudo, 89% dos pacientes estavam em uso de AEEs e 74% foram suplementados com ferro sérico, o que provavelmente resultou em aumento da hemoglobina e hematócrito, mesmo com aumento de marcadores inflamatórios e hepcidina. Embora, altas concentrações de hepcidina estejam frequentemente associadas à níveis baixos de hemoglobina, nossos resultados sugerem que a terapia com AEEs pôde melhorar o transporte de ferro e contribuir para melhorar a eritropoiese (118) como também observado por Ashby et al.(77) Desta forma, o mecanismo de regulação da hepcidina por mecanismos inflamatórios ou por alterações de mudanças no metabolismo do ferro ou ainda pelo efeito dos AEEs (78,82) continuam não sendo totalmente esclarecidos.

Este estudo apresenta algumas limitações: Devido a pandemia de COVID-19 foi necessária a interrupção das coletas de amostras biológicas por um período de tempo, sendo posteriormente retomada. Esta situação pode ter prejudicado a perda de seguimento dos pacientes ao longo do estudo, pois a extensão do acompanhamento pós-tratamento por HDF seria inicialmente de 3 e 6 meses sendo aumentada para 12 meses. Além disso, houve perda de 11/30 (37%) pacientes durante o seguimento, o que pode ter tido impacto nos nossos resultados.

Em resumo, nossos resultados mostraram que após que 12 meses de seguimento do tratamento com terapia renal substitutiva por HDF em população idosa de doentes renais crônicos não observamos redução na concentração sérica de hepcidina. O aumento dos níveis de hemoglobina e hematócrito observados podem ter sido decorrentes da ação de agentes estimulantes de eritropoiese e da administração de ferro, mostrando que não houve hiporresponsividade ao tratamento nos pacientes do presente estudo. A hepcidina pareceu estar mais relacionadas como biomarcador de ferro independentemente da variação dos marcadores inflamatórios do que associada à resistência ao uso de AEEs(77,81,118).

Nosso estudo piloto apresentou algumas deficiências, como a perda de seguimento de parte dos pacientes nos tempos previamente estabelecidos antes do início do estudo o que acabou tornando a amostra pequena para uma análise estatística mais robusta. Entretanto, nossas hipóteses devem ser confirmadas em estudo futuro tipo *cross-over* com tamanho amostral maior.

9 REFERÊNCIAS

1. Singh AK. Chronic kidney disease. *Decis Mak Med An Algorithmic Approach Third Ed.* 2009;352–3.
2. Stevens PE, Levin A. Evaluation and management of chronic kidney disease: Synopsis of the kidney disease: Improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. *Ann Intern Med.* 2013;158(11):825–30.
3. GBD Chronic Kidney Disease Collaboration. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet.* 2020;395(10225):709–33.
4. Luyckx VA, Stanifer JW, Tonelli M. The global burden of kidney disease and the sustainable development goals [Internet]. *Bulletin of the World Health Organization* 2018 p. 414-422D. Available from: <https://www.who.int/bulletin/volumes/96/6/17-206441-ab/es/>
5. Neves PDM de M, Sesso R de CC, Thomé FS, Lugon JR, Nasicmento MM. Brazilian Dialysis Census: analysis of data from the 2009-2018 decade. *Braz J Nephrol.* 2020;42(2):191–200.
6. Diretrizes Clínicas para o cuidado ao paciente com doença renal crônica no Sistema Único de Saúde. Ministério Da Saúde. 2014;(1):1–37.
7. Di Lullo L, House A, Gorini A, Santoboni A, Russo D, Ronco C. Chronic kidney disease and cardiovascular complications. *Heart Fail Rev.* 2015;20(3):259–72.
8. Kirsztajn GM, Filho NS, Draibe SA, Netto MV de P, Thomé FS, Souza E, et al. Fast reading of the KDIGO 2012: guidelines for evaluation and management of chronic kidney disease in clinical practice. *J Bras Nefrol.* 2014;36(1):63–73.
9. Musio F. Kidney Disease and Anemia in Elderly Patients. *Clin Geriatr Med* [Internet]. 2019;35(3):327–37. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cger.2019.03.009>
10. Lindeman RD, Tobin J, Shock NW. Longitudinal Studies on the Rate of Decline in Renal Function with Age. *J Am Geriatr Soc.* 1985;33(4):278–85.
11. Wong SPY, O’Hare AM. Making Sense of Prognostic Information about Maintenance Dialysis versus Conservative Care for Treatment of Advanced Kidney Disease. *Nephron.* 2017;137(3):169–71.
12. Agarwal AK, Yee J. Hecpidin. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2019;26(4):298–305.
13. Antunes SA, Canziani MEF. Hecpidin: an important iron metabolism regulator in

- chronic kidney disease. *J Bras Nefrol.* 2016;38(3):351–5.
14. Sonkar SK, Singh NK, Sonkar GK, Pandey S, Bhosale V, Kumar A, et al. Association of hepcidin and anemia in early chronic kidney disease. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2019;30(2):315–24.
 15. Keith DS, Nichols GA, Gullion CM, Brown JB, Smith DH. Longitudinal Follow-up and Outcomes among a Population with Chronic Kidney Disease in a Large Managed Care Organization. *Arch Intern Med.* 2004;164(6):659–63.
 16. Sesso RC intr., Lopes AA lbert., Thomé FS aldanh., Lugon JR onald., Watanabe Y, dos Santos DR inal. Report of the Brazilian Chronic Dialysis Census 2012. *J Bras Nefrol órgão Of das Soc Bras e Latino-Americana Nefrol.* 2014;36(1):48–53.
 17. Zughaier SM, Alvarez JA, Sloan JH, Konrad RJ, Tangpricha V. The role of vitamin D in regulating the iron-hepcidin-ferroportin axis in monocytes. *J Clin Transl Endocrinol [Internet].* 2014;1(1):e19–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcte.2014.01.003>
 18. Zalunardo N, Levin A. Anemia and the Heart in Chronic Kidney Disease. *Semin Nephrol.* 2006;26(4):290–5.
 19. Vianna HR, Soares CMBM, Tavares MS, Teixeira MM, Silva ACS e. Inflamação na doença renal crônica: papel de citocinas. *J Bras Nefrol.* 2011;33(3):351–64.
 20. Akchurin OM, Kaskel F. Update on inflammation in chronic kidney disease. *Blood Purif.* 2015;39(1–3):84–92.
 21. Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, McMonagle E, Morrow J, Iking TA, et al. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2004;65(3):1009–16.
 22. Sarnak MJ, Poindexter A, Wang SR, Beck GJ, Kusek JW, Marcovina SM, et al. Serum C-reactive protein and leptin as predictors of kidney disease progression in the Modification of Diet in Renal Disease Study. *Kidney Int.* 2002;62(6):2208–15.
 23. Del Vecchio L, Pozzoni P, Andrulli S, Locatelli F. Inflammation and resistance to treatment with recombinant human erythropoietin. *J Ren Nutr.* 2005;15(1):137–41.
 24. Rao M, Wong C, Kanetsky P, Girndt M, Stenvinkel P, Reilly M, et al. Cytokine gene polymorphism and progression of renal and cardiovascular diseases. *Kidney Int.* 2007;72(5):549–56.
 25. Nakamura T, Miller D, Ruoslahti E, Border WA. Production of extracellular matrix by glomerular epithelial cells is regulated by transforming growth factor- β 1. *Kidney Int [Internet].* 1992;41(5):1213–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.1992.183>

26. Bevilacqua MP, Pober JS, Majeau GR, Fiers W, Cotran RS, Gimbrone MA. Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium: Characterization and comparison with the actions of interleukin 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83(12):4533–7.
27. Sharma K, Cook A, Smith M, Valancius C, Inscho EW. TGF- β impairs renal autoregulation via generation of ROS. *Am J Physiol - Ren Physiol*. 2005;288(5 57-5):1069–77.
28. Santos EJF, Dias RSC, Lima JF de B, Filho NS, Dos Santos AM. Erythropoietin resistance in patients with chronic kidney disease: Current perspectives. *Int J Nephrol Renovasc Dis*. 2020;13:231–7.
29. Takase O, Marumo T, Imai N, Hirahashi J, Takayanagi A, Hishikawa K, et al. NF- κ B-dependent increase in intrarenal angiotensin II induced by proteinuria. *Kidney Int*. 2005;68(2):464–73.
30. Satoh M, Kashihara N, Yamasaki Y, Maruyama K, Okamoto K, Maeshima Y, et al. Renal interstitial fibrosis is reduced in angiotensin II type 1a receptor-deficient mice. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(2):317–25.
31. Guenter Weiss LTG. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med*. 2005;352(10):1011–23.
32. de Oliveira Júnior WV, Sabino A de P, Figueiredo RC, Rios DRA. Inflammation and poor response to treatment with erythropoietin in chronic kidney disease. *J Bras Nefrol Órgão Of Soc Bras e Latino-Americana Nefrol*. 2015;37(2):255–63.
33. Ganz T. Anemia of inflammation. *N Engl J Med*. 2019;381(12):1148–57.
34. Ganz T, Nemeth E. Heparin and Disorders of Iron Metabolism. *Annu Rev Med*. 2011;62(1):347–60.
35. T. Konz, M. Montes-Bayón SV. Heparin quantification: methods and utility in diagnosis. *Mettallomics*. 2014;6:1583–90.
36. Panichi V, Scatena A, Paoletti S, Migliori M. Impact of dialysis technique on renal anemia. *Contrib Nephrol*. 2011;171:261–5.
37. Young B, Zaritsky J. Heparin for clinicians. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4(8):1384–7.
38. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone heparin. *J Clin Invest*. 2004;113(9):1271–6.
39. Tussing-Humphreys LM, Nemeth E, Fantuzzi G, Freels S, Guzman G, Holterman

- AXL, et al. Elevated systemic hepcidin and iron depletion in obese premenopausal females. *Obesity* [Internet]. 2010;18(7):1449–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2009.319>
40. Yang LN, Zhang P, Tang F, Wang G, Li FE. Correlation between hepcidin level and renal anemia. *Genet Mol Res*. 2014;13(3):7407–10.
 41. El Sewefy DA, Farweez BA, Behairy MA, Yassin NR. Impact of serum hepcidin and inflammatory markers on resistance to erythropoiesis-stimulating therapy in haemodialysis patients. *Int Urol Nephrol* [Internet]. 2019;51(2):325–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11255-018-2062-z>
 42. Lee SW, Kim JM, Lim HJ, Hwang YH, Kim SW, Chung W, et al. Serum hepcidin may be a novel uremic toxin, which might be related to erythropoietin resistance. *Sci Rep*. 2017;7(1):1–8.
 43. Niihata K, Tomosugi N, Uehata T, Shoji T, Mitsumoto K, Shimizu M, et al. Serum hepcidin-25 levels predict the progression of renal anemia in patients with non-dialysis chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(12):4378–85.
 44. Macdougall IC, Cooper AC. Erythropoietin resistance: The role of inflammation and pro-inflammatory cytokines. *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17(SUPPL. 11):39–43.
 45. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Anemia na Doença Renal Crônica- Reposição De Ferro. Vol. 231, Portaria SAS/ MS nº 365 fevereiro de 2017. Ministério da Saúde. 2017.
 46. Libregts SF, Gutiérrez L, De Bruin AM, Wensveen FM, Papadopoulos P, Van Ijcken W, et al. Chronic IFN- γ production in mice induces anemia by reducing erythrocyte life span and inhibiting erythropoiesis through an IRF-1/PU.1 axis. *Blood*. 2011;118(9):2578–88.
 47. Panichi V, Scatena A, Rosati A, Giusti R, Ferro G, Malagnino E, et al. High-volume online haemodiafiltration improves erythropoiesis-stimulating agent (ESA) resistance in comparison with low-flux bicarbonate dialysis: Results of the REDERT study. *Nephrol Dial Transplant*. 2015;30(4):682–9.
 48. Honda H, Hosaka N, Ganz T, Shibata T. Iron Metabolism in Chronic Kidney Disease Patients. *Contrib Nephrol*. 2019;198:103–11.
 49. Van Der Putten K, Braam B, Jie KE, Gaillard CAJM. Mechanisms of Disease: Erythropoietin resistance in patients with both heart and kidney failure. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2008;4(1):47–57.
 50. Ogawa T, Nitta K. Erythropoiesis-stimulating agent hyporesponsiveness in end-stage

- renal disease patients. *Contrib Nephrol.* 2015;185:76–86.
51. Malyszko J, Mysliwiec M. Heparin in anemia and inflammation in chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res.* 2007;30(1):15–30.
 52. Hung SC, Lin YP, Tarng DC. Erythropoiesis-stimulating agents in chronic kidney disease: What have we learned in 25 years? *J Formos Med Assoc [Internet].* 2014;113(1):3–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfma.2013.09.004>
 53. Santos EJF, Hortegal E V., Serra HO, Lages JS, Salgado-Filho N, dos Santos AM. Epoetin alfa resistance in hemodialysis patients with chronic kidney disease: A longitudinal study. *Brazilian J Med Biol Res.* 2018;51(7):1–7.
 54. Petruilienė K, Žiginskienė E, Kuzminskis V, Nedzelskienė I, Bumblytė IA. Heparin serum levels and resistance to recombinant human erythropoietin therapy in hemodialysis patients. *Med.* 2017;53(2):90–100.
 55. Bárány P, Divino Filho JC, Bergström J. High C-reactive protein is a strong predictor of resistance to erythropoietin in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 1997;29(4):565–8.
 56. Panichi V, Tetta C. On-Line Hemodiafiltration in the Large RISCALD Study. *Contrib Nephrol.* 2011;175:117–28.
 57. Marcelli D, Bayh I, Merello JI, Ponce P, Heaton A, Kircelli F, et al. Dynamics of the erythropoiesis stimulating agent resistance index in incident hemodiafiltration and high-flux hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2016;90(1):192–202.
 58. Suragani RNVS, Cadena SM, Cawley SM, Sako D, Mitchell D, Li R, et al. Transforming growth factor- β superfamily ligand trap ACE-536 corrects anemia by promoting late-stage erythropoiesis. *Nat Med [Internet].* 2014;20(4):408–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nm.3512>
 59. Malyszko J, Malyszko JS, Matuszkiewicz-Rowinska J. Heparin as a therapeutic target for anemia and inflammation associated with chronic kidney disease. *Expert Opin Ther Targets [Internet].* 2019;23(5):407–21. Available from: <https://doi.org/10.1080/14728222.2019.1599358>
 60. Jurkowitz CT, Abramson JL, Vaccarino LV, Weintraub WS, McClellan WM. Association of High Serum Creatinine and Anemia Increases the Risk of Coronary Events: Results from the Prospective Community-Based Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(11):2919–25.
 61. National Kidney Foundation. NKF-DOQI clinical practice guidelines for the treatment of anemia of chronic renal failure. National Kidney Foundation-Dialysis Outcomes

- Quality Initiative. *Am J Kidney Dis.* 1997;30(4 Suppl 3):S192-240.
62. Stefánsson B V., Abramson M, Nilsson U, Haraldsson B. Hemodiafiltration Improves Plasma 25-Hepcidin Levels: A Prospective, Randomized, Blinded, Cross-Over Study Comparing Hemodialysis and Hemodiafiltration. *Nephron Extra.* 2012;2(1):55–65.
 63. Gafter-Gvili A, Schechter A, Rozen-Zvi B. Iron Deficiency Anemia in Chronic Kidney Disease. *Acta Haematol.* 2019;142(1):44–50.
 64. Wians FH, Urban JE, Keffer JH, Kroft SH. Discriminating between Iron Deficiency Anemia and Anemia of Chronic Disease Using Traditional Indices of Iron Status vs Transferrin Receptor Concentration. *Am J Clin Pathol.* 2001;115(1):112–8.
 65. Krause A, Neitz S, Mägert HJ, Schulz A, Forssmann WG, Schulz-Knappe P, et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett.* 2000;480(2–3):147–50.
 66. Park CH, Valore E V., Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, a Urinary Antimicrobial Peptide Synthesized in the Liver. *J Biol Chem.* 2001;276(11):7806–10.
 67. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, et al. A New Mouse Liver-specific Gene, Encoding a Protein Homologous to Human Antimicrobial Peptide Hepcidin, Is Overexpressed during Iron Overload. *J Biol Chem.* 2001;276(11):7811–9.
 68. Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B, Kahn A, et al. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(15):8780–5.
 69. Ruchala P, Nemeth E. The pathophysiology and pharmacology of hepcidin. *Trends Pharmacol Sci* [Internet]. 2014;35(3):155–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2014.01.004>
 70. Spoto, Kakkar, Lo, Devalaraja, Pizzini, Torino, et al. Serum Erythroferrone Levels Associate with Mortality and Cardiovascular Events in Hemodialysis and in CKD Patients: A Two Cohorts Study. *J Clin Med.* 2019;8(4):523.
 71. Grotto HZW. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2008;30(5).
 72. Masaki Hara, Yuya Nakamura, Hiroki Suzuki, Rin Asao, Masayuki Nakamura, Kazumasa Nishida, Sachiyo Kenmotsu, Masahiro Inagaki, Mayumi Tsuji, Yuji Kiuchi, Isao Ohsawa, Yoshikazu Goto HG. The hepcidin-25/erythroferrone ratio predicts improvement of anemia in hemodialysis patients treated with ferric citrate hydrate. *Nephrology.* 2019;24(8):819–26.
 73. Honda H, Kobayashi Y, Onuma S, Shibagaki K, Yuza T, Hirao K, et al. Associations

- among erythroferrone and biomarkers of erythropoiesis and iron metabolism, and treatment with long-term erythropoiesis-stimulating agents in patients on hemodialysis. *PLoS One*. 2016;11(3):1–10.
74. Nakanishi T, Kimura T, Kuragano T. The Heparin-Anemia Axis: Pathogenesis of Anemia in Chronic Kidney Disease. *Contrib Nephrol*. 2019;198:124–34.
 75. Touzot M, Lefebvre T, Maheas C, Ridel C, Puy H, Karim Z. A hepcidin-based approach for iron therapy in hemodialysis patients: A pilot study. *Hemodial Int*. 2020;24(2):188–94.
 76. Troutt JS, Butterfield AM, Konrad RJ. Heparin-25 concentrations are markedly increased in patients with chronic kidney disease and are inversely correlated with estimated glomerular filtration rates. *J Clin Lab Anal*. 2013;27(6):504–10.
 77. Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, Murphy KG, Duncan ND, Cairns TD, et al. Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney Int* [Internet]. 2009;75(9):976–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2009.21>
 78. Malyszko J, Malyszko JS, Pawlak K, Mysliwiec M. Heparin, iron status, and renal function in chronic renal failure, kidney transplantation, and hemodialysis. *Am J Hematol*. 2006;81(11):832–7.
 79. Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, Pinkus GS, Zon LI, Robine S, et al. The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab*. 2005;1(3):191–200.
 80. Tsuchiya K, Nitta K. Heparin is a Potential Regulator of Iron Status in Chronic Kidney Disease. *Ther Apher Dial*. 2013;17(1):1–8.
 81. Van Der Putten K, Jie KE, Van Den Broek D, Kraaijenhagen RJ, Laarakkers C, Swinkels DW, et al. Heparin-25 is a marker of the response rather than resistance to exogenous erythropoietin in chronic kidney disease/chronic heart failure patients. *Eur J Heart Fail*. 2010;12(9):943–50.
 82. Kali A, Yayar O, Erdogan B, Eser B, Buyukbakkal M, Ercan Z, et al. Is hepcidin-25 a predictor of atherosclerosis in hemodialysis patients? *Hemodial Int*. 2016;20(2):191–7.
 83. Weinberg ED. Human lactoferrin: a novel therapeutic with broad spectrum potential. *J Pharm Pharmacol*. 2001;53(10):1303–10.
 84. Wally J, Buchanan SK. A structural comparison of human serum transferrin and human lactoferrin. *BioMetals*. 2007;20:249–62.
 85. Rosa L, Cutone A, Lepanto MS, Paesano R, Valenti P. Lactoferrin: A natural

- glycoprotein involved in iron and inflammatory homeostasis. *Int J Mol Sci.* 2017;18(9).
86. Lepanto MS, Rosa L, Paesano R, Valenti P, Cutone A. Lactoferrin in aseptic and septic inflammation. *Molecules.* 2019;24(7):1–27.
 87. Jurado RL. Iron, infections, and anemia of inflammation. *Clin Infect Dis.* 1997;25(4):888–95.
 88. Hsu YH, Chiu IJ, Lin YF, Chen YJ, Lee YH, Chiu HW. Lactoferrin contributes a renoprotective effect in acute kidney injury and early renal fibrosis. *Pharmaceutics.* 2020;12(5):434–49.
 89. Åbrink M, Larsson E, Gobl A, Hellman L. Expression of lactoferrin in the kidney: Implications for innate immunity and iron metabolism. *Kidney Int.* 2000;57(5):2004–10.
 90. Bouré T, Vanholder R. Biochemical and clinical evidence for uremic toxicity. *Artif Organs.* 2004;28(3):248–53.
 91. Henderson LW, Colton CK, Ford CA. Kinetics of hemodiafiltration. II. Clinical characterization of a new blood cleansing modality. *J Lab Clin Med.* 1975;85(3):372–91.
 92. Ledebro I. On-Line Hemodiafiltration: Technique and Therapy. *Adv Ren Replace Ther.* 1999;6(2):195–208.
 93. Tessitore N, Poli A, Bedogna V, Corazza L, Campostrini N, Atti M, et al. A single dialysis session of hemodiafiltration with sorbent-regenerated endogenous ultrafiltrate reinfusion (HFR) removes hepcidin more efficiently than bicarbonate hemodialysis: a new approach to containing hepcidin burden in dialysis patients? *J Nephrol.* 2018;31(2):297–306.
 94. Tiranathanagul K, Praditpornsilpa K, Katavetin P, Srisawat N, Townamchai N, Susantitaphong P, et al. On-line hemodiafiltration in Southeast Asia: A three-year prospective study of a single center. *Ther Apher Dial.* 2009;13(1):56–62.
 95. Patrier L, Dupuy AM, Granger Vallée A, Chalabi L, Morena M, Canaud B, et al. FGF-23 removal is improved by on-line high-efficiency hemodiafiltration compared to conventional high flux hemodialysis. *J Nephrol.* 2013;26(2):342–9.
 96. Ronco C, Cruz D. Hemodiafiltration History, Technology, and Clinical Results. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2007;14(3):231–43.
 97. Bonforte G, Grillo P, Zerbi S, Surian M. Improvement of anemia in hemodialysis patients treated by hemodiafiltration with high-volume on-line-prepared substitution fluid. *Blood Purif.* 2002;20(4):357–63.

98. Maduell F. Hemodiafiltration versus conventional hemodialysis: Should “conventional” be redefined? *Semin Dial*. 2018;31(6):625–32.
99. Maduell F, Moreso F, Pons M, Ramos R, Mora-Macià J, Carreras J, et al. High-efficiency postdilution online hemodiafiltration reduces all-cause mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2013;24(3):487–97.
100. Penne EL, van der Weerd NC, van den Dorpel MA, Grooteman MPC, Lévesque R, Nubé MJ, et al. Short-term Effects of Online Hemodiafiltration on Phosphate Control: A Result From the Randomized Controlled Convective Transport Study (CONTRAST). *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2010;55(1):77–87. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2009.09.023>
101. Rama I, Llaudó I, Fontova P, Cerezo G, Soto C, Javierre C, et al. Online haemodiafiltration improves inflammatory state in dialysis patients: A longitudinal study. *PLoS One*. 2016;11(10):1–16.
102. Locatelli F, Altieri P, Andrulli S, Bolasco P, Sau G, Pedrini LA, et al. Hemofiltration and hemodiafiltration reduce intradialytic hypotension in ESRD. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(10):1798–807.
103. Morena M, Jaussent A, Chalabi L, Leray-Moragues H, Chenine L, Debure A, et al. Treatment tolerance and patient-reported outcomes favor online hemodiafiltration compared to high-flux hemodialysis in the elderly. *Kidney Int*. 2017;91(6):1495–509.
104. Ohtake T, Oka M, Ishioka K, Honda K, Mochida Y, Maesato K, et al. Cardiovascular Protective Effects of On-Line Hemodiafiltration: Comparison With Conventional Hemodialysis. *Ther Apher Dial*. 2012;16(2):181–8.
105. Bellien J, Fréguin-Bouilland C, Joannidès R, Hanoy M, Rémy-Jouet I, Monteil C, et al. High-efficiency on-line haemodiafiltration improves conduit artery endothelial function compared with high-flux haemodialysis in end-stage renal disease patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(2):414–22.
106. Dekker M, Pasch A, Dersande F, Konings C, Bachtler M, Dionisi M, et al. High-flux hemodialysis and high-volume hemodiafiltration improve serum calcification propensity. *PLoS One*. 2016;11(4):1–13.
107. Maeda K, Kobayakawa H, Fujita Y, Takai I, Morita H, Emoto Y, et al. Effectiveness of Push/Pull Hemodiafiltration Using Large- Pore Membrane for Shoulder Joint Pain in Long- Term Dialysis Patients. *Artif Organs*. 1990;14(5):321–7.
108. Nakai S, Iseki K, Tabei K, Kubo K, Masakane I, Fushimi K, et al. Outcomes of hemodiafiltration based on Japanese dialysis patient registry. *Am J Kidney Dis*.

- 2001;38(4 (Suppl 1)):S212–6.
109. Karkar A, Abdelrahman M, Locatelli F. A Randomized Trial on Health-Related Patient Satisfaction Level with High-Efficiency Online Hemodiafiltration versus High-Flux Dialysis. *Blood Purif.* 2015;40(1):84–91.
 110. Vaslaki L, Major L, Berta K, Karatson A, Misz M, Pethoe F, et al. On-line haemodiafiltration versus haemodialysis: Stable haematocrit with less erythropoietin and improvement of other relevant blood parameters. *Blood Purif.* 2006;24(2):163–73.
 111. Maduell F, Pozo C, Garcia H, Sanchez L, Hdez-jaras J, Albero MD, et al. Change from conventional haemodiafiltration to on-line haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant.* 1999;14(5):1202–7.
 112. Wizemann V, Lotz C, Techert F, Uthoff S. On-line haemodiafiltration versus low-flux haemodialysis. A prospective randomized study. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15(SUPPL. 1):43–8.
 113. Ward RA, Schmidt B, Hullin J, Hillebrand GF, Samtleben W. A comparison of on-line hemodiafiltration and high-flux hemodialysis: A prospective clinical study. *J Am Soc Nephrol.* 2000;11(12):2344–50.
 114. Hanudel MR, Rappaport M, Chua K, Gabayan V, Qiao B, Jung G, et al. Levels of the erythropoietin-responsive hormone erythroferrone in mice and humans with chronic kidney disease. *Haematologica.* 2018;103(4):e141–2.
 115. Gupta J, Mitra N, Kanetsky PA, Devaney J, Wing MR, Reilly M, et al. Association between albuminuria, kidney function, and inflammatory biomarker profile in CKD in CRIC. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012;7(12):1938–46.
 116. Salimi S, Shardell MD, Seliger SL, Bandinelli S, Guralnik JM, Ferrucci L. Inflammation and Trajectory of Renal Function in Community-Dwelling Older Adults. *J Am Geriatr Soc.* 2018;66(4):804–11.
 117. Malyszko J, Malyszko JS, Kozminski P, Mysliwiec M. Type of renal replacement therapy and residual renal function may affect prohepcidin and hepcidin. *Ren Fail.* 2009;31(10):876–83.
 118. van der Weerd NC, Grooteman MPC, Bots ML, van den Dorpel MA, den Hoedt CH, Mazairac AHA, et al. Hepcidin-25 in chronic hemodialysis patients is related to residual kidney function and not to treatment with erythropoiesis stimulating agents. *PLoS One.* 2012;7(7):1–8.

10 ANEXOS

Anexo 1 – Parecer Consubstanciado



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO DA HEMODIAFILTRAÇÃO (HDF) E LASER DE BAIXA INTENSIDADE (LBI) EM IDOSOS COM DOENÇA RENAL CRÔNICA

Pesquisador: Rosilene Motta Elias

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 97475918.5.3001.0068

Instituição Proponente: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.212.452

Apresentação do Projeto:

Projeto intitulado "EFEITO DA HEMODIAFILTRAÇÃO (HDF) E LASER DE BAIXA INTENSIDADE (LBI) EM IDOSOS COM DOENÇA RENAL CRÔNICA" número CAAE: 97475918.5.3001.0068

Objetivo da Pesquisa:

Os autores descrevem como objetivo primário: Avaliar os efeitos da Hemodiafiltração (HDF) no idoso com Doença Renal Crônica nos seguintes aspectos: 1. Fatores inflamatórios, endoteliais e sobre o distúrbio mineral ósseo; 2. Fatores nutricionais e sarcopenia;

3. Atividade funcional. E descrevem como objetivos secundários: 1. Comparar resultados do método de imagem com o padrão considerado ouro - densitometria com dupla emissão de RX (DXA); 2. Identificar precocemente pacientes com pré sarcopenia e sarcopenia, avaliando o

efeito da HDF; 3- Identificar pacientes com perda de força e/ou funcionalidade avaliando o efeito da HDF; 4- Identificar pacientes desnutridos e propor suplementação nutricional intra-dialítica objetivando uma intervenção nutricional e reabilitação mais precoce e ativa, avaliando o efeito da HDF; 5. Avaliação do perfil inflamatório do indivíduo idoso submetido à HDF e o efeito desta terapia nos marcadores de citocinas pró-inflamatórias, marcadores de lesão endotelial e marcadores do metabolismo mineral ósseo; 6. Avaliação do efeito da terapia com laser de baixa potência 2 x semana sobre os marcadores de inflamação e lesão endotelial; 7. Validação de método de imagem de avaliação nutricional comparado com densitometria com dupla emissão de

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 3.212.452

RX (DXA).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Risco mínimo: Possibilidade de hematoma em punção da fístula para sua diálise e coleta de sangue. Quanto ao Laser de baixa intensidade, não há riscos evidentes exceto em pacientes que estão contemplados nos critérios de exclusão. Benefícios: Contribuição para a ciência no que tange a DRC, sem benefícios diretos aos participantes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo de intervenção com Laser de Baixa Intensidade (LBI) em pacientes idosos renais crônicos em diálise. O racional para o presente estudo é a hipótese de que o tratamento com Hemodiafiltração e a aplicação de laserterapia terão impacto na diminuição da inflamação em pacientes com DRC, melhorando as alterações musculoesqueléticas, eventos vasculares, e contribuindo para diminuição dos eventos cardiovasculares e mortalidade. Serão avaliados ao todo, 75 pacientes. Para tal, o pesquisador propõe um estudo com avaliação de 30 pacientes idosos em terapia renal substitutiva na modalidade hemodiálise (HD) e em hemodiafiltração (HDF). Para o estudo de intervenção com HDF, os pacientes que estavam em tratamento por hemodiálise e que irão iniciar HDF, serão submetidos aos diversos exames como coleta de sangue, avaliação nutricional, densitometria óssea.

Para o estudo de intervenção com LBI, 15 pacientes em tratamento em hemodiálise com PCR maior que 0,3 mg/dL serão selecionados; submetidos a exames de sangue para avaliação dos marcadores de inflamação, marcadores de lesão endotelial e marcadores do distúrbio mineral ósseo. Após estes exames, serão submetidos a aplicação do LBI na região da boca, na área sublingual por 60 segundos, 3x/semana antes do início da sessão de HD no período

total de 4 semanas (12 sessões). Após o período de 12 sessões de intervenção com o LBI, serão coletados novamente os exames. Todos os procedimentos descritos no projeto estão claros, tanto no projeto quanto no TCLE. Os desfechos a serem analisados também estão claros, sendo os primários diminuir os marcadores séricos e celulares de sarcopenia, desnutrição, inflamação sistêmica e endotelial e do distúrbio mineral ósseo nos idosos com DRC, e o desfecho secundário diminuir a taxa de eventos de doença cardiovascular e mortalidade.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

No parecer nº 3.120.112 (24 de Janeiro de 2019) foi apontada uma pendência, cuja modificação está abaixo descrita:

- Descrito que haveria armazenamento de material para futuras análises. Solicitado modificação do

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappelq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 3.212.452

TCLE e/ou elaboração do "Roteiro para elaboração de regulamento de Biorrepositório". Diante disto, o pesquisador reviu o projeto e decidiu por não mais armazenar material para futuras análises e pesquisas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado, sem objeções.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1239529.pdf	28/01/2019 10:53:18		Aceito
Outros	CartaComissao.pdf	28/01/2019 10:53:01	Rosilene Motta Elias	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE3.pdf	28/01/2019 10:32:33	Rosilene Motta Elias	Aceito
Outros	CartaAssinada.pdf	07/11/2018 18:13:17	Rosilene Motta Elias	Aceito
Outros	Resposta.pdf	03/10/2018 15:16:21	Rosilene Motta Elias	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	HDFidosos.pdf	03/10/2018 15:14:36	Rosilene Motta Elias	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	03/10/2018 15:13:19	Rosilene Motta Elias	Aceito
Outros	CartaanuenciaPrevent.pdf	27/08/2018 14:19:53	Rosilene Motta Elias	Aceito
Outros	cartacienciaHDHCFMUSP.pdf	26/08/2018	Rosilene Motta Elias	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 3.212.452

Outros	cartacienciaHDHCFMUSP.pdf	09:19:32	Rosilene Motta Elias	Aceito
--------	---------------------------	----------	----------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 21 de Março de 2019

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br