



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

GEUZA DUTRA DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO FUMO SOBRE OS MARCADORES DO
METABOLISMO MINERAL EM PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA**

SÃO PAULO, SP

2017

GEUZA DUTRA DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO FUMO SOBRE OS MARCADORES DO
METABOLISMO MINERAL EM PACIENTES COM DOENÇA RENAL
CRÔNICA**

Dissertação apresentada a Universidade Nove de
Julho – UNINOVE; como requisito à obtenção do
título de Mestre em Medicina.

Orientadora: Profa. Dra. Rosa Maria Affonso
Moysés

SÃO PAULO, SP

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Santos, Geuza Dutra dos.

Avaliação dos Efeitos do Fumo sobre os Marcadores do Metabolismo Mineral em Pacientes com Doença Renal Crônica. / Geuza Dutra dos Santos. 2017.

52 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2017.

Orientador (a): Prof^a Dra. Rosa Maria Affonso Moysés.

1. Doença renal crônica. 2. Doença mineral óssea. 3. Tabagismo. 4. Klotho. 5. FGF-23.

I. Moysés, Rosa Maria Affonso. II. Título.

CDU 616

São Paulo, 31 de agosto de 2017.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluna: GEUZA DUTRA DOS SANTOS

Título da Dissertação: "Avaliação dos efeitos do fumo, sobre os marcadores do metabolismo mineral em portadores de doença renal crônica"

Presidente: PROF.^a DR.^a ROSA MARIA AFFONSO MOYSÉS



Membro: PROF.^a DR.^a VANDA JORGETTI



Membro: PROF.^a DR.^a MARIA APARECIDA DALBONI



*Dedico este trabalho ao meu filho Jorginho
(In memorian), que deixou no meu coração a
imagem do seu sorriso, e da sua alegria.*

*Aos meus Pais Gercival e Maria, a minha filha
Paula Regina, aos meus netos Fellipe,
Vinnicius e Camila, ao amor da minha vida
Josimar.*

E a toda minha família que tanto amo.

AGRADECIMENTOS

Durante esses dois anos só tenho a agradecer a todos que passaram pelo meu caminho e que com certeza deixaram um pouco de si. Os momentos de alegria serviram para me permitir acreditar na beleza da vida, e os de sofrimento, serviram para um crescimento pessoal único. É muito difícil transformar sentimentos em palavras, mas serei eternamente grata a vocês, pessoas imprescindíveis para a realização e conclusão deste trabalho.

Primeiramente agradeço a **DEUS**, já que Ele colocou pessoas tão especiais a meu lado, sem as quais certamente não teria dado conta!

A Profa. Dra, **Rosa Maria Affonso Moysés**, pela honra e pelo privilégio da convivência, permitindo uma desconstrução e (re) construção como profissional e como pessoa. Tua postura, como professora, amiga e orientadora foi um estímulo para superar meus limites e meus modos de ser e ver o mundo e acreditar que era capaz! Minha admiração por você não tem limites, é para você que tiro meu chapéu milhões de vezes...

A Dra, **Rosilene Motta Elias** batizada por mim de co-orientadora, um anjo lindo na minha vida, muito obrigada por tudo aqui tem muito de você desde seu sorriso meigo a sua competência como pesquisadora, médica, estatística, amiga, conselheira, enfim um anjo na terra!

A Enfermeira **Camila Dosse**, coordenadora do serviço de nefrologia do hospital das clínicas de São Paulo, pelo todo apoio! Me disponibilizando toda estrutura na fase de captação dos pacientes estudados neste trabalho onde fui muito bem recebida por sua equipe o qual sou muito grata!

As colaboradoras **administrativas da recepção** do ambulatório de Nefrologia do Hospital das Clínicas pela receptividade, deixando mais leve a jornada deste trabalho.

Aos colaboradores do **LIM 16**, ao **Wagner, Luciene Reis** pelo apoio neste trabalho e especialmente a **Ivone** pela paciência e disponibilidade em me ensinar cada detalhe na organização de todo material para análise, e cada detalhe ensinado foi imprescindível neste meu caminhar. Muito obrigada!

A **Profa. Dra Maria Aparecida Dalboni**, pelo apoio e colaboração nas análises mais principalmente pelas palavras de incentivo, me identifiquei pela pessoa carismática e profissional competente, a levarei para sempre no meu coração.

A **Dra. Vanda Jorgetti**, e ao Dr. **Precil** e todos os médicos residentes do ambulatório de Nefrologia do Hospital das Clínicas, pelo apoio e ajuda na captação dos pacientes.

A mais linda e alegre médica que conheci, no ambulatório de Nefrologia do Hospital das Clínicas, que foi minha companheira na captação dos pacientes coleta e centrifugação dos materiais colhido. **Kalyanna Bezerra**, você conseguiu deixar dias difíceis, mais leve...

A Enfermeira **Rosanna** e **Andrea** e toda a **equipe de enfermagem** da CETENE- JÁRDINS pelo apoio e colaboração na captação de pacientes.

A **Equipe de enfermagem** da Clínica de **Hemodiálise do H9J** onde tive a honra de trabalhar por 12 anos e até hoje recebo o apoio e carinho de todos na progressão do meu trilhar.

A **Layelle**, minha filha de alma, amiga, afilhada, que segurou todas as barras das minhas ansiedades desde do início da inscrição até o término, feliz por ter você na minha vida!

A **Dra. Zita Maria Leme Britto**, por cada orientação, ajuda, estudos diários, você fez parte de todo o processo deste mestrado onde estudávamos os artigos sobre o meu tema aproveitando para treinar o inglês! Minha amiga querida meu muitíssimo obrigada, sem você eu não teria conseguido!

A todos os **colegas de mestrado**, especialmente a **Leslie, Ingrid, Aline, Jaqueline e Keyla** pelo apoio e conversas esclarecedoras. Juntos fomos fortes!

A minha filha **Paula Regina** e aos meus netos, **Luiz Felliipe, Vinnicius e Camila** por compreenderem minha ausência durante toda essa trajetória.

E por fim, agradeço a **Universidade Nove de Julho – UNINOVE** por ter me recebido como aluna, pela estrutura e por poder concluir meu mestrado em uma instituição de alto padrão.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Meu agradecimento mais profundo só poderia ser dedicado a uma pessoa, meu companheiro, meu parceiro, meu amor. O tempo todo ao meu lado, incondicionalmente. Nos momentos mais difíceis que não foram raros nesse último ano, sempre me fazendo acreditar, que chegaria ao final desta difícil, porém gratificante etapa. Esse período nos mostrou a verdade do nosso relacionamento: Somos uma família! Sou grata por cada gesto de apoio e por cada sorriso, quando eu só exalava mal humor! Obrigada meu **AMOR! Josimar Araújo Costa**.

Deus Abençoe a vida de todos vocês! Muito obrigada!

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos”.

(Isaac Newton)

RESUMO

Introdução: A doença renal crônica é caracterizada por uma elevada prevalência, sendo considerada um problema de saúde pública. Os distúrbios do metabolismo mineral e ósseo da doença renal crônica (DMO-DRC) constituem uma síndrome definida por alterações do cálcio (Ca), do fósforo (P), da vitamina D e do paratormônio (PTH), do fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF-23) e de seu cofator específico conhecido como klotho. Os DMO-DRC, assim como o tabagismo, estão associados a maior risco de doença cardiovascular. No entanto, nenhum estudo avaliou se há associação entre os DMO-DRC e o fumo. **Objetivo:** Analisar a relação entre o fumo, Doença Renal Crônica e os níveis séricos de FGF-23, Klotho e do fator induzido por hipóxia (HIF-1 α). **Métodos:** Avaliamos 92 pacientes divididos em três grupos: Grupo controle sem DRC, grupo DRC em tratamento conservador estágios III e IV e Grupo em diálise, sendo compostos por pacientes tabagistas e não tabagistas. A coleta de dados ocorreu no período de agosto de 2016 a janeiro de 2017. As dosagens de HIF-1 α , e Klotho foram realizadas utilizando ensaios comerciais de ELISA, e do FGF-23 por quimioluminescência de acordo com os protocolos dos fabricantes. **Resultados:** Pacientes em diálise realizavam menor tempo de atividade física que os demais grupos. O fósforo apresentou-se maior no grupo de pacientes tabagistas em tratamento conservador, e o nível sérico de ácido úrico foi menor nos tabagistas. Com relação ao FGF-23, ele foi maior nos pacientes dialíticos do que nos em tratamento conservador. Não foram encontradas diferenças significativas nos níveis de Klotho e HIF1 α . **Conclusão:** Os resultados não mostraram diferenças dos níveis de FGF-23 entre fumantes e não fumantes. O achado de ácido úrico mais baixo e P maior em fumantes com DRC parece ser inédito e deve ser melhor estudado. Considerando que o FGF-23 tem um papel importante no DMO-DRC, novos estudos avaliando o papel do fósforo sérico, ácido úrico e FGF-23 em pacientes portadores de DRC e fumantes devem ser realizados.

Palavras Chave: Doença Renal Crônica; Doença Mineral óssea; Tabagismo; klotho; FGF-23

ABSTRACT

Introduction: Chronic kidney disease is a highly prevalent disease, considered a public health problem. Disorders of mineral and bone metabolism of chronic kidney disease (CKD-MBD) is defined as changes in serum calcium (Ca), phosphorus (P), vitamin D, parathyroid hormone (PTH), fibroblast growth factor 23 (FGF-23) and Klotho, which is a specific FGF-23 cofactor. Both CKD-MBD and smoking habits are associated with an increased risk of cardiovascular disease. However, there is no study, so far, that has evaluated whether there is an association between CKD-MBD and smoking. **Objective:** To analyze the relationship between smoking habits, chronic kidney disease and serum levels of FGF-23, Klotho and hypoxia induced event (HIF-1 α). **Methods:** We have evaluated 92 patients divided into three groups: Control without CKD, CKD stages III and IV on conservative treatment, and dialytic group, with smokers and non-smokers. We collected data from August 2016 to January 2017. Measurements of HIF-1 α , and Klotho were performed using commercial ELISA assays, and FGF-23 assays by chemiluminescence according to the manufacturers protocols. **Results:** Patients on dialysis performed less time of physical activity than the other groups. P was higher among patients on conservative treatment with smoking habits; serum uric acid level was lower in smokers, regardless the group. FGF-23 was higher in dialysis patients than in conservative patients. There were no differences in Klotho and HIF1 α levels among groups. **Conclusion:** Our results did not show differences in FGF-23 levels when comparing patients with and without smoking habits, but the finding of lower serum uric acid and higher serum phosphate in smokers is new. Considering that, further studies are necessary to a better understanding of the role of smoking on serum phosphate and uric acid.

Key words: Chronic kidney disease; Mineral and Bone Disease; Smoking; klotho; FGF-23

Lista de figuras

FIGURA 1. Descrição dos Pacientes incluídos no estudo.....	27
FIGURA 2. Correlação dos níveis séricos de FGF-23 com idade, creatinina, Fósforo e PTH.....	38

Lista de tabelas

TABELA 1. Descrição dos ensaios de <i>ELISA</i> e quimiluminescência utilizados na avaliação dos pacientes.....	29
TABELA 2. Dados demográficos e de medicações dos pacientes estudados.....	32
TABELA 3. Dados laboratoriais dos pacientes estudados.....	33
TABELA 4. Comparação de dados demográficos e de medicações entre tabagistas e não tabagistas dos grupos conservador e dialise.....	34
TABELA 5. Comparação de dados laboratoriais entre tabagistas e não tabagistas dos grupos conservador e dialise.....	35
TABELA 6. Dados demográficos e de medicações entre tabagistas e não tabagista.....	36
TABELA 7. Comparação de dados laboratoriais entre tabagistas e não tabagistas.....	37

ABREVIATURAS E SIGLAS

1,25(OH)2D3: 1,25 Dihidroxivitamina D, Calcitriol

AVC: Acidente vascular cerebral

Ca: Cálcio

CaRS: Receptor Sensível ao Cálcio

CV: Calcificação Vascular

DCV: Doença Cardiovascular

DMO: Doença Mineral Óssea

DRC: Doença Renal Crônica

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay

EPO: Eritropoetina Humana

FGF-23: Fator de Crescimento de Fibroblasto 23

FGFR: Receptor de FGF

HIF1 α : hypoxia inducible factor 1 alpha

HIF1 β : hypoxia inducible factor 1 beta

HPTS: Hiperparatireoidismo Secundário

HVE: Hipertrofia Ventricular Esquerda

ICC: Insuficiência cardíaca congestiva

IECA: Inibidor da enzima conversora de angiotensina

IL1 β : Interleucina 1 beta

KDIGO: Kidney Disease Improving Global Outcomes

NaPi2a: Co-transportadores de sódio e fosfato 2a

P: Fosforo

PTH: Paratormônio

SBN: Sociedade Brasileira de Nefrologia

TFG: Taxa de Filtração Glomerular

TFGe: Taxa de filtração glomerular estimada

TRS: Terapia Renal Substitutiva

VDR: Receptor de vitamina D

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1. O Papel do FGF-23.....	19
1.2. Proteína Klotho.....	20
1.3. Doença Cardiovascular (DCV).....	21
1.4. Doença Cardiovascular na Doença Renal Crônica (DCV-DRC).....	22
1.5. Tabagismo X Doença Renal.....	24
2. OBJETIVO.....	26
2.1. Hipótese.....	26
3. PACIENTES E MÉTODOS.....	27
3.1. Delineamento.....	27
3.2. Sujeito da pesquisa.....	27
3.2.1. Fluxograma.....	27
3.3. Critérios de Inclusão:.....	28
3.4. Critérios de Exclusão:.....	28
3.5. Aspectos éticos:.....	28
3.6. Parâmetros clínicos avaliados:.....	28
3.7. Ensaio para Detecção de HIF-1 α , FGF-23 e Klotho:.....	29
3.8. Cálculo da amostra.....	29
3.9. Análise estatística.....	30
4. RESULTADOS.....	31
4.1. Dados demográficos e medicações.....	31
4.2. Dados Laboratoriais.....	33
4.3. Dados demográficos e de medicações entre tabagistas e não tabagistas divididos em grupos.	34
4.4. Dados laboratoriais entre tabagistas e não tabagistas divididos em grupos.....	35
4.5. Dados demográficos e de medicações entre tabagistas e não tabagistas.....	36

4.6. Dados Laboratoriais entre tabagistas e não tabagistas agrupados	37
4.7. Correlações entre níveis séricos de FGF-23, Klotho e HIF1 α com variáveis clínicas e bioquímicas.....	38
5. DISCUSSÃO	39
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
7. ANEXOS	48

1. INTRODUÇÃO

A doença renal crônica é caracterizada por uma elevada prevalência, sendo considerada um problema de saúde pública. Isto ocorre por sua evolução desfavorável e frequentes complicações, tais como doenças cardiovasculares e morte prematura (EKNOYAN et al., 2004). Por mais que tenha havido avanços no tratamento da DRC, não foram suficientes para diminuir de maneira significativa seus índices de mortalidade. A insuficiência cardíaca, a doença isquêmica do miocárdio, o acidente vascular cerebral (AVC) e a doença arterial periférica estão entre as complicações cardiovasculares que mais resultam em óbitos envolvendo a população geral e os pacientes com doença renal crônica em diálise (ANDERSON et al., 1991).

A população com DRC tem alta prevalência de doença cardiovascular (DCV), provavelmente pela coexistência de doenças preexistentes, como diabetes mellitus e hipertensão arterial, e de fatores de risco tradicionais para DCV, como dislipidemia, idade avançada e sedentarismo (VAN DER ZEE et al., 2009). A associação entre estas doenças e estes fatores de risco, em presença do ambiente urêmico, pode levar a hipertrofia ventricular esquerda (HVE), formação da placa aterosclerótica, remodelação arterial, disfunção endotelial e inflamação. (SCHÄCHINGER; MARTINA BB; ANDREAS MZ, 2000).

No entanto, diferentemente da população geral, as causas mais frequentes de óbitos de origem cardiovascular no paciente com doença renal crônica, são insuficiência cardíaca congestiva (ICC) e morte súbita. Tal fato se dá em decorrência da associação entre hipertrofia ventricular esquerda, doença arterial aterosclerótica e arteriosclerose, comprometendo a perfusão miocárdica e aumentando o risco de arritmias e de miocardiopatia isquêmica (GUÉRIN AP, PANNIER B, MARCHAIS SJ, 2006).

Os distúrbios do metabolismo mineral e ósseo da doença renal crônica (DMO-DRC) integram uma síndrome definida por alterações do cálcio (Ca), do fósforo (P), da vitamina D e do paratormônio (PTH); por anormalidades ósseas; ou através do aparecimento de calcificação extra esquelética. São frequentes nos pacientes portadores de DRC, constituindo uma importante causa de mortalidade e morbidade. O termo DMO-DRC foi elaborado em 2006 pelo grupo de estudos do KDIGO (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*) (MOE et al., 2006), buscando destacar o papel destas alterações no já identificado alto risco de mortalidade e de fraturas nesta população.

Os mecanismos de sinalização entre rim, esqueleto, paratireoides, intestino e vasos é complexo, sendo seu objetivo central o balanço do Ca e P. Assim, mesmo no início da DRC já

são evidenciadas alterações nos hormônios reguladores de Ca e P. Um estudo de 2011 demonstrou que o fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF-23) e o PTH estão alterados no início da DRC, antes mesmo da hiperfosfatemia, sugerindo que o aumento do FGF-23 pode ser o primeiro sinal do distúrbio do metabolismo mineral na DRC (ISAKOVA et al., 2011). Na realidade, há muito sabemos que um grande percentual dos pacientes com DRC apresenta elevação dos níveis séricos de PTH, caracterizando o hiperparatireoidismo secundário à DRC (HPTS), tendo a hipocalcemia, hiperfosfatemia e a deficiência do calcitriol como fatores principais na sua evolução (NAVEH-MANY et al., 1995; SLATOPOLSKY; BROWN; DUSSO, 1999). Porém, já eram observados aumento dos níveis séricos de PTH e diminuição dos níveis de calcitriol com taxa de filtração glomerular (TGF) em torno de 60ml/min e níveis de Ca e P dentro da normalidade. (LEVIN et al., 2007; LLACH, 1995; LLACH; MASSARY, S, 1985). Dessa forma é provável que o início dessas alterações ocorra precocemente no decurso da DRC levando em consideração que os níveis séricos de FGF-23 estão elevados mesmo antes da elevação do PTH ou P ao longo do progresso da DRC (GUTIERREZ et al., 2005; LARSSON et al., 2003).

Na década de 1930, Albright descreveu a teoria clássica da associação entre Ca, P e PTH, na qual os autores já observaram que animais submetidos à dieta rica em P apresentavam HPTS. Na década de 1950, ocorreram os primeiros relatos clínicos do DMO-DRC, sendo observado que indivíduos portadores de DRC apresentavam deformidades ósseas incapacitantes, além de fraturas e dores osteomusculares. No entanto, diante da limitação daquela época, o entendimento das alterações fisiopatológicas era escasso, permitindo aos autores somente a exposição dos achados de história e exame clínico, e em pacientes em fase tardia da DRC.

No final da década de 60, Slatopolsky e Bricker criaram a teoria de *trade-off*, que propunha que a perda da função renal implicava no comprometimento da excreção de P, levando à hiperfosfatemia e conseqüente hipocalcemia. Esta levaria a elevação da produção de PTH, aumentando a fosfatúria, levando os níveis séricos de P de volta para valores dentro da faixa da normalidade. A queda progressiva da função renal levaria à instalação do HPTS. Estes autores também descreveram o papel da restrição dietética de fósforo sobre a progressão do HPTS, quando adotada no início da DRC. Sabe-se também que a redução da massa renal também diminui a síntese de calcitriol, e, na própria paratireoide, ocorrem processos adaptativos à DRC, mesmo antes do aumento da proliferação celular. Diminuição da expressão e função do receptor da Vitamina D (VDR), assim como redução da expressão do receptor sensível ao cálcio (CaSR) foram encontrados em paratireoides de pacientes com DRC (LEVIN

et al., 2007). Para muitos, todos estes fatores anteriormente descritos já seriam suficientes para explicar a história natural do DMO-DRC. No entanto, estudos populacionais nos mostraram que, curiosamente, hiperfosfatemia e hipercalcemia são eventos tardios no curso da DRC, enquanto as alterações hormonais, como queda de calcitriol e elevação de PTH são encontradas precocemente. Portanto, muitos investigadores questionavam desse modo a teoria do *trade-off*. Então, ao longo de vários anos esta lacuna não era preenchida na história natural do DMO-DRC, não havendo explicação fisiopatológica com relação ao seu início. Nesse aspecto, é importante frisar a fisiopatologia do DMO-DRC ainda hoje não é plenamente conhecida (YAMASHITA; YOSHIOKA; ITOH, 2000).

1.1. O Papel do FGF-23

A descoberta do FGF-23 ocorreu há aproximadamente 15 anos. Sabe-se que é produzido predominantemente pelos osteócitos, em resposta a estímulos até o momento não totalmente esclarecidos. (LIU et al., 2003). Uma vez secretado, o FGF-23 irá agir nos túbulos renais diminuindo a reabsorção tubular de P e a síntese de calcitriol. Atualmente sabemos que, quando produzido, o FGF-23 eleva a excreção renal de P por meio da inibição dos co-transportadores renais Na-Pi IIa e IIc e diminui a síntese de calcitriol através da inibição da enzima 1-alfa-hidroxilase. Além disto, ele inibe a síntese de PTH, o que, de modo indireto, também inibe a produção de calcitriol.

Um estudo com o hormônio FGF-23, apontado como o maior estudo em humanos, analisou em torno de 4.000 indivíduos e mostrou que os níveis de FGF-23 se encontram elevados em estágios iniciais da DRC. Isto ocorre antes do aparecimento da hiperfosfatemia, ou seja, a medida que a disfunção renal progride, os níveis de FGF-23 aumentam. O estudo também sugere que a lesão renal, mesmo que leve, deve estimular a secreção de FGF-23, seja pelo aumento de algum fator que estimularia a secreção deste hormônio ou pela redução da expressão de algum inibidor (ISAKOVA; WAHL; VARGAS, G, 2011). Portanto, no início da DRC, os níveis FGF-23 já encontram-se elevados, aumentando fosfatúria e inibindo a produção de calcitriol, mantendo os níveis séricos de P dentro da faixa de normalidade (GUTIERREZ et al., 2005).

Diversos tecidos expressam o FGF-23, mas o tecido ósseo deve ser sua principal fonte, já que a expressão mais elevada é encontrada nos osteócitos (LIU; QUALRLES, L, 2007).

Diferentemente da maior parte dos FGFs, que atuam de forma parácrina, o FGF-23 pode ser considerado um hormônio. O FGF-23 apresenta baixa afinidade pelo heparan sulfato. Desta forma, é liberado diretamente na circulação, não apresentando ações parácrinas e autócrinas, que são características da família dos fatores de crescimento de fibroblasto. Além disto, o FGF-23 possui uma baixa afinidade pelos receptores de FGF, necessitando, para sua atuação, de um cofator específico, conhecido como klotho (SHIMADA et al., 2005).

1.2. Proteína Klotho

O gene klotho foi identificado em 1997, quando em um experimento com camundongos hipertensos, ocorreu uma falha que resultou em animais mutantes que apresentam senescência precoce. Os animais deficientes de klotho apresentavam alterações como perda da audição, calcificação vascular, hipertrofia cardíaca, atrofia da pele, osteoporose e retardo do crescimento (IKUSHIMA et al., 2005). Os autores decidiram dar a este gene o nome de Klotho, uma deusa da mitologia grega que tecia o fio da vida (KURO-O et al., 1997).

O gene klotho codifica uma proteína com o mesmo nome, cuja expressão ocorre em vários tecidos. No entanto é no rim, especialmente nas células do túbulo distal, onde encontramos sua maior expressão (HU; KURO-O; MOE, 2012).

Como já dito anteriormente, o Klotho é um cofator do FGF-23. Na presença de Klotho os FGFR aumentam a sua afinidade para a ligação com o FGF-23 (OLIVEIRA et al., 2013). Então, ainda que o FGF-23 seja sintetizado no osso, sua atuação clássica acontece somente nos tecidos que expressam a proteína Klotho, isto é, rins e paratireoides (URAKAWA; YAMAZAKI; SHIMADA, 2006). Nos rins, a proteína Klotho, ao potencializar a ação do FGF-23, favorece a excreção urinária de P, e diminui a síntese de calcitriol ao suprimir a atividade da 1 alfa hidroxilase (OLIVEIRA et al., 2013). Dessa forma, a expressão habitual de Klotho permite que ocorra fosfatúria adequada, mesmo com concentrações séricas relativamente baixas de FGF-23. Mesmo diante do avanço do conhecimento sobre o papel do klotho, ainda há várias brechas a serem preenchidas na fisiopatologia dos DMO-DRC. Ainda não compreendemos totalmente o que pode regular a expressão de Klotho pelos rins. Além da óbvia diminuição de produção desta proteína diante da destruição do parênquima renal, alguns estudos *in vitro* mostraram que calcitriol, paratireoidectomia, glitazonas, inibidores de enzima de conversão, bloqueadores do receptor de angiotensina e inibidores de FGF-23 aumentam a expressão de Klotho, enquanto desidratação e sobrecarga de P a diminuem. Curiosamente, também é descrita

a menor expressão de Klotho nas paratireoides na DRC, diminuindo a capacidade do FGF-23 inibir o PTH (KURO-O, 2013). Para tanto, na DRC, teremos ao mesmo tempo baixos níveis de calcitriol e Klotho, e elevação de FGF-23 e P séricos.

Além destas alterações no metabolismo mineral, na DRC, a deficiência de klotho, contribui para calcificação vascular, hipertrofia cardíaca e HPTS (HU; KURO-O; MOE, 2013) e pode cooperar para fibrose e declínio da função renal. (HU; MAKOTO KURO-O; MOE, 2012). Recentemente, estudos experimentais mostraram que o FGF-23, quando em concentrações elevadas, é capaz de induzir hipertrofia miocárdica, mesmo na ausência de Klotho, através de uma via de sinalização intracelular distinta. (FAUL et al., 2011). Desta forma, na DRC cria-se uma situação de “tempestade perfeita”, onde fatores de risco cardiovascular tradicionais unem-se à uremia e distúrbios do metabolismo mineral, aumentando de maneira significativa o risco de DCV.

1.3. Doença Cardiovascular (DCV)

A DCV é um importante problema de saúde pública, pois é mundialmente apontada como a principal causa de óbitos e incapacidade funcional. Um terço das mortes são causadas por DCV e esse número é ainda maior se considerados apenas os países desenvolvidos. Já nos países subdesenvolvidos, embora com prevalência menor, observa-se um crescimento progressivo das DCV. (YUSUF et al., 2017).

A Organização Mundial de saúde (OMS) estima que 17,5 milhões de pessoas morreram de doenças cardiovasculares em 2012, representando 31% de todas as mortes globais. Dessas mortes, um número estimado de 7,4 milhões foi devido a doença cardíaca coronária e 6,7 milhões por acidentes vasculares cerebrais. Mais de três quartos das mortes por DCV ocorrem em países de baixa e média renda. Dos 16 milhões de mortes antes de 70 anos devido a doenças não transmissíveis, 82% estão em países de baixa e média renda e 37% por DCV (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016).

No Brasil, as DCV aparecem em primeiro lugar entre as causas de morte, representando quase um terço de óbitos totais. Destes, 65% são na faixa etária de 30 a 69 anos de idade, atingindo a população adulta em plena fase produtiva (DATASUS, 2010).

1.4. Doença Cardiovascular na Doença Renal Crônica (DCV-DRC)

A DCV é a principal causa de morte na população de doentes renais crônicos. Os pacientes em terapia renal substitutiva (TRS) com menos de 65 anos apresentam risco de morte de 10 a 500 vezes superior que indivíduos da população geral, ainda que após ajuste para sexo, raça e presença de diabete.

Os fatores de risco tradicionais que contribuem para o progresso da DCV tais como idade, diabetes, hipertensão arterial, dislipidemia, sedentarismo e obesidade, são mais predominantes na população com DRC do que na população geral (JAGER et al., 2009). A doença renal por si aumenta a hipertrofia ventricular e a aterosclerose, eixo das complicações cardiovasculares desses indivíduos além de provocar um estado inflamatório crônico, anemia, desnutrição, hipovolemia e alterações do metabolismo mineral (JAGER et al., 2009; LONGENECKER, 2002).

As doenças cardiovasculares mais prevalentes nesses pacientes são ICC, doença coronariana e arritmias, sendo a fibrilação atrial mais frequente. A morte súbita é responsável por aproximadamente 60% da mortalidade cardiovascular na população renal em diálise, geralmente associada a eventos arrítmicos (HEIKKI V. HUIKURI; MYERBURG, 2001). Vale ressaltar que a maioria dos pacientes com DRC não morre de infarto agudo do miocárdio, e sim de morte súbita, sugerindo que a doença aterosclerótica coronariana não deva ser a principal causa de DCV na DRC (JAGER et al., 2009; LONGENECKER, 2002).

O risco de AVC é de 5 a 10 vezes maior na população em TRS, sendo 84% do tipo isquêmico. Sabe-se que 30% destes episódios ocorrem durante ou imediatamente após o término da dialise. Esses eventos tem como principais fatores de risco a elevação da pressão arterial sistólica, diabetes mellitus, e a fibrilação atrial (HERZOG et al., 2011; SOZIO et al., 2009).

Outro fator é a presença de calcificação vascular (CV) presente nos indivíduos com DRC, mesmo antes de iniciar em TRS. Geralmente associada ao DMO, a CV é encontrada em 40 a 60% dos pacientes nos estágios 3 e 5 da DRC. Estudos mostram que a gravidade da CV é maior quando comparada com indivíduos sem doença renal (ADENEY et al., 2009; RUSSO et al., 2004). Em pacientes já em diálise, a prevalência de CV é entre 60 a 100%, sugerindo que a mesma apresenta caráter progressivo, elevando-se drasticamente após o início da TRS (BRAUN et al., 1996; FENSTERSEIFER, D et al., 2009).

Há quase 20 anos, vários estudos têm demonstrado associação entre hipercalcemia, elevação de PTH, FGF-23 e hipovitaminose D com aumento do risco de morte em pacientes

em hemodiálise. Estudos mostram que, comparativamente a outras complicações, estes distúrbios conferem uma porcentagem de risco de morte superior à anemia ou à baixa dose de diálise (17,5% contra 11,3% e 5,1%, respectivamente)(BLOCK, G et al., 2004; BLOCK et al., 1998).

Assim, os DMO-DRC foram inicialmente reconhecidos como fatores desencadeantes de CV, sugerindo que poderiam aumentar o risco de DCV na população com DRC. Dentro deste contexto, sabemos que elevações de Ca e P criam um ambiente favorável à transformação fenotípica da célula muscular lisa dos vasos e está passa a se comportar como um osteoblasto, induzindo a “mineralização” de artérias, em um processo celularmente ativo e coordenado. Paralelamente a isso as elevações de PTH também podem acelerar a calcificação por aumentar a oferta endógena de Ca e P. Com relação à proteína Klotho, ela parece ter um efeito direto na inibição da calcificação, ou seja, independente do seu efeito fosfatúrico. Da mesma forma, a hipovitaminose D parece favorecer a CV (SCIALLA, J; WOLF, 2014). Portanto, elevações de Ca, P e PTH, aliadas a diminuição de Klotho e vitamina D parecem favorecer o aparecimento destas alterações. Formando um ciclo vicioso completo, os altos níveis séricos de FGF-23 usualmente encontrados na DRC são capazes de levar à hipertrofia miocárdica, mesmo na ausência de Klotho (YAMAGATA et al., 2007).

É importante lembrar que, além da CV, a DCV da DRC geralmente está associada a presença de HVE, sendo que diversos fatores estão implicados em sua patogênese. Análise de uma coorte de pacientes com DRC (Dialysis Morbidity and Mortality Study Wave 2-DMMS), correlacionou dados clínicos e a HVE com mortalidade em pacientes incidentes em diálise. Foi realizada uma correlação dos fatores de risco coronarianos tradicionais, como hipertensão, diabetes mellitus, fumo, e marcadores de uremia, como hipercalcemia e níveis de PTH. Os autores identificaram uma associação entre os fatores acima descritos e a existência de HVE (MOYSÉS; CANZIANI, 2013). Foi observado que, além da hipertensão arterial e hipervolemia, P, Ca, PTH, FGF-23 e também Vitamina D estão arrolados na fisiopatologia da HVE. Há alguns anos, um estudo experimental mostrou que o P, independentemente do nível do PTH ou mesmo da existência de CV, pode induzir hipertrofia miocárdica em ratos com DRC (NEVES et al., 2004). Desde então, vários estudos têm apontado a associação do P e FGF-23 com HVE.

1.5. Tabagismo X Doença Renal

Fumar é a principal causa de morte universalmente. Além de seus efeitos cancerígenos e do seu papel como fator de risco para DCV, o fumo é um fator de risco autônomo para doença renal (ORTH; HALLAN, 2008). Uma amostra de 332.554 indivíduos, avaliados num estudo clínico de prevenção primária de doença cardiovascular, sugeriu a uma correlação entre tabagismo e a elevação do risco de doença renal terminal (MICHAEL, 1996). Posteriormente, essa associação foi registrada em diversos estudos. Em indivíduos menores de 70 anos, em uma amostragem populacional norueguesa, os fumantes ativos manifestaram um risco de 4 vezes maior de doença renal quando comparados a quem nunca fumou (HALLAN, STEIN; ORTH, 2011). Outra pesquisa de coorte prospectiva americana, após 20 anos de acompanhamento, observou um maior risco de morte por DRC e de doença renal terminal entre os tabagistas ativos (MELANIE, 2003).

O fumo também parece ser um fator de risco considerável em idosos, contribuindo para a perda da função renal. O tabagismo ativo apresentou-se como um forte preditor, independente da perda da função renal, em um estudo com indivíduos italianos com idade entre 65 a 84 anos que fumavam acima de 20 cigarros por dia (BAGGIO et al., 2005). Além disso, em um estudo em adolescentes americanos com baixa prevalência de fatores de risco para DRC, foi mostrado que a taxa de filtração glomerular (TFG) diminui proporcionalmente às concentrações séricas do metabólito derivado da nicotina (GARCÍA-ESQUINAS et al., 2013).

Cabe apontar que o tabagismo é um fator de risco clássico para a DCV. Postula-se que a nicotina contribui para o desenvolvimento das doenças coronarianas através da liberação de catecolaminas, que elevam a frequência, pressão arterial e a resistência periférica (SILVA, M, A, [s.d.]).

Uma outra teoria para a associação entre fumo e DCV seria através dos efeitos supressores do tabagismo sobre a expressão de Klotho. Estudo em gestantes mostrou diminuição dos níveis plasmáticos de Klotho nas mulheres fumantes (JENNIFER et al., 2013). No entanto, ainda há controvérsia sobre este tema, uma vez que outro estudo em fumantes encontrou relação positiva entre níveis séricos desta proteína e intensidade do tabagismo (VERDE et al., 2017).

Avaliando a associação entre distúrbios do metabolismo mineral e tabagismo, autores holandeses mostraram que indivíduos com DRC em tratamento conservador e tabagistas apresentam FGF-23 elevado comparado aos indivíduos não tabagistas. Os autores

cogitam que o tabagismo aumentaria a inflamação, diminuindo a expressão de Klotho e, consequentemente, elevando o FGF 23 (MELANIE, 2003; VERVLOET et al., 2012). Entretanto, nesse estudo não foram dosados os níveis séricos da proteína Klotho e nem foi avaliada a inflamação, não tendo assim como confirmar essa hipótese. Caso esta hipótese seja confirmada, será descrito mais um efeito deletério do tabagismo, pois, através da inibição do Klotho e elevação de FGF-23, indivíduos fumantes apresentariam maior risco de lesão vascular e hipertrofia miocárdica por um mecanismo até o momento não identificado. Este efeito ocorreria em todos os fumantes, mas de uma maneira exacerbada em pacientes com DRC.

Outro mecanismo pelo qual o tabagismo poderia elevar os níveis de FGF-23 seria através do estímulo do fator de transcrição HIF-1 α (*hypoxia inducible factor 1 alpha*). O fumo estimularia a síntese de HIF-1 α (TAO et al., 2014) Este, por sua vez, foi recentemente identificado como um indutor da síntese de FGF-23 na inflamação e na deficiência de ferro (FRANCIS; DAVID, 2016) . O HIF é uma proteína heterodimérica que pertence à família dos fatores de transcrição PAS. Consiste numa subunidade α indutível e numa subunidade β expressa constitutivamente. São conhecidas três subunidades α : HIF-1 α , HIF-2 α e HIF-3 α . Conjuntamente com o HIF-2 α , o HIF-1 α facilita a distribuição de oxigênio e a adaptação celular à hipóxia, através da estimulação de um amplo espectro de processos biológicos (SEMENZA, 2000, 2011). O estudo realizado recentemente em animais mostrou que a inflamação estaria associada à elevação da citocina IL1 β . Esta, por sua vez, aumentaria a produção de HIF-1 α . O aumento deste fator de transcrição estimularia a síntese de FGF-23. Portanto, uma das hipóteses que levantamos seria que a elevação de HIF-1 α , previamente descrita em tabagistas, estimularia a síntese de FGF-23 em pacientes fumantes. Como pacientes com DRC comumente apresentam inflamação crônica, poderíamos também ter aumento de HIF-1 α mesmo em renais crônicos não fumantes. No entanto, este tipo de avaliação ainda não foi realizada neste paciente (DAVID et al., 2016).

Diante do exposto faz-se necessária uma melhor avaliação dos potenciais efeitos do tabagismo sobre o metabolismo mineral, através da comparação dos níveis séricos de Klotho, FGF-23 e HIF-1 α em fumantes e indivíduos controles.

2. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi analisar a relação entre o tabagismo, Doença Renal Crônica e os níveis séricos de FGF-23, Klotho e HIF-1 α .

2.1. Hipótese

Testar a hipótese de que tabagistas com DRC apresentam níveis séricos mais elevados de FGF-23 e HIF-1 α , além de diminuição dos níveis séricos de Klotho.

3. PACIENTES E MÉTODOS

3.1. Delineamento

Esse é um estudo transversal realizado em pacientes com hipertensão e sem doença renal crônica, em pacientes com doença renal crônica estágio III e IV, e em pacientes em diálise.

3.2. Sujeito da pesquisa

O estudo foi conduzido em pacientes acompanhados no serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo FMUSP, no período de agosto de 2016 a janeiro de 2017. O grupo controle foi composto de pacientes acompanhados por hipertensão arterial e sem doença renal crônica, em portadores de doença renal crônica estágio III e IV, e em pacientes em diálise. Selecionamos pacientes tabagistas e não tabagistas nos pacientes em tratamento conservador e em diálise.

3.2.1. Fluxograma

Figura 1- Descrição dos pacientes incluídos no estudo

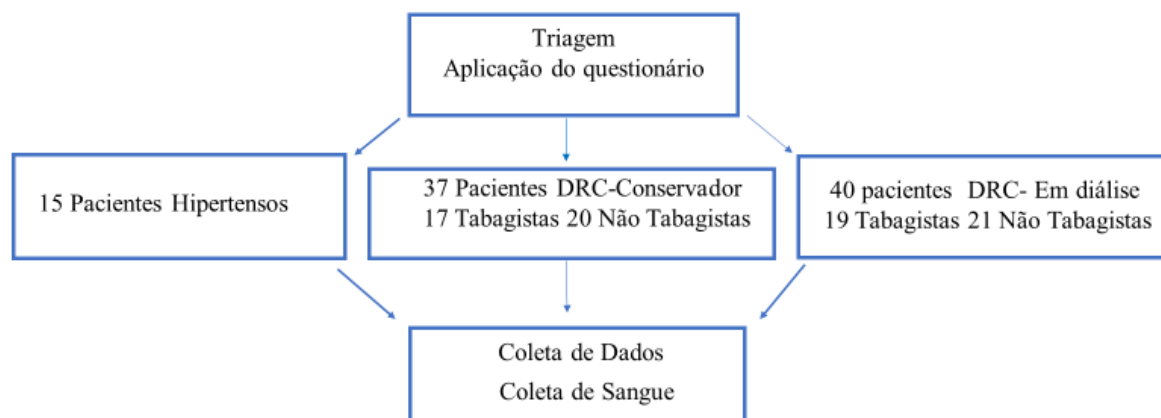


Figura 1 – Descrição dos pacientes incluídos no estudo

3.3. Critérios de Inclusão:

Foram incluídos pacientes com idade maior que 18 e menor que 70 anos, hipertensos, em tratamento conservador de DRC III e IV ou em programa regular de diálise há mais de seis meses. Também foi considerado como critério de inclusão a concordância dos participantes com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

3.4. Critérios de Exclusão:

Os critérios de exclusão foram: Pacientes com diabetes mellitus, neoplasias, lúpus, sorologia positiva para o vírus HIV, assim como os pacientes em uso de imunossuppressores e corticosteroides.

3.5. Aspectos éticos:

O estudo foi conduzido de acordo com as normas da resolução 196/96 que regulamentam as pesquisas em seres humanos. Foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho em 04 de junho de 2016, protocolo CEP: 1.613.780 (ANEXO 1).

3.6. Parâmetros clínicos avaliados:

Os parâmetros clínicos idade, sexo, etiologia da doença renal, presença de comorbidades como hipertensão e diabetes mellitus, história de doença coronariana e cerebrovascular, medicações usadas regularmente e resultados dos exames de Creatinina, Cálcio, Fósforo, Ferritina, Albumina, PTH, e 25 Vitamina D, foram obtidos dos prontuários médicos da Instituição.

Usamos um questionário com questões pré-estabelecidas sobre hábitos de fumo (quantidade), prática de atividade física. (ANEXO 2).

Quando os prontuários eram incompletos, as informações eram complementadas diretamente com os profissionais que trabalhavam nas clínicas de diálise, com os pacientes ou seus familiares através de ligações telefônicas.

Os dados foram anotados e arquivados respeitando-se o sigilo das informações. Consideramos como tabagistas, apenas pacientes com história atual de tabagismo.

3.7. Ensaios para Detecção de HIF-1 α , FGF-23 e Klotho:

Foi coletada uma amostra de sangue em uma única ocasião para dosagem do FGF-23, HIF-1 α e Klotho. Após a coleta, sangue foi centrifugado, a 2500 rpm por 15 minutos a 4°C. Em seguida, o plasma foi aliquoteado em criotubos, e armazenados no freezer a -80°C para análise posterior.

As dosagens de HIF-1 α , e Klotho foram realizadas utilizando ensaios comerciais imunoenzimáticos (*enzyme-linked immunosorbent assay* – ELISA), e as de FGF-23 com ensaio de quimioluminescência, de acordo com os protocolos dos fabricantes, conforme tabela a seguir:

Tabela 1. Descrição dos ensaios de *ELISA* e quimioluminescência utilizados na avaliação dos pacientes.

PROTEÍNA	FABRICANTE	SENSIBILIDADE
HIF-1 α	ElabScience, China	0.1 ng/mL
Klotho	IBL, Japão	6.15 pg/mL
FGF-23	Diasorin, Itália	5.0 pg/mL

3.8. Cálculo da amostra

O cálculo Amostral foi realizado utilizando os resultados do estudo de (VERVLOET et al., 2012), estimamos que, a partir de teste de diferença entre médias, o tamanho da amostra final deveria ser de 13 indivíduos em cada grupo para um poder de 90%, com erro alfa de 1%, assumindo uma diferença de 30 desvios-padrão entre as respectivas médias.

3.9. Análise estatística

Os dados contínuos foram expressos em média e desvio-padrão ou mediana e percentis (25-75%), de acordo com distribuição paramétrica ou não-paramétrica, respectivamente. Dados categóricos foram expressos em valores e percentagem. Comparação entre os três grupos foi realizada através de ANOVA com pós teste de Tukey ou Kruskal-Wallis com pós teste de Dunns para variáveis com distribuição paramétrica ou não-paramétrica, respectivamente. Comparação entre tabagistas e não tabagistas foi realizada através de teste de t não pareado ou Mann-Whitney para variáveis com distribuição paramétrica ou não-paramétrica, respectivamente. Teste de Spearman foi utilizado para avaliar correlação entre níveis séricos de FGF-23, Klotho e HIF-1 α e variáveis contínuas.

Para os testes estatísticos considerou-se um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). As análises foram realizadas com o uso dos softwares estatísticos IBM SPSS e o software Prism.

4. RESULTADOS

Neste estudo foram avaliados 92 indivíduos compondo 3 grupos, descritos como grupo Hipertensão (n = 15), grupo conservador (n = 37) e o grupo em diálise (n = 40). O grupo conservador foi subdividido em 20 pacientes não tabagistas e 17 tabagistas e no grupo em diálise tivemos 21 indivíduos não tabagistas e 19 tabagistas (Figura 1).

4.1. Dados demográficos e medicações

Conforme descrito na Tabela 2, observamos que nossa amostra foi composta por indivíduos adultos. A comparação entre os pacientes mostra que o grupo em diálise apresenta uma prevalência maior de indivíduos do sexo masculino, é mais jovem, mas é mais sedentário.

Em relação às medicações em uso, pacientes do grupo conservador mais comumente utilizavam vitamina D e furosemida, enquanto calcitriol, sais de cálcio, sevelamer e Eritropoetina humana (EPO) foram mais frequentes no grupo dialítico. Já os inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA) e os tiazídicos foram menos utilizados por este grupo.

Tabela 2. Dados demográficos e de medicações dos pacientes estudados

	Hipertensos (n=15)	Conservador (n=37)	Diálise (n=40)	p
Gênero masculino (n/%)	2/13,3	16/43,2	24/60 ^a	0,008
Idade (anos)	57 (46-64)	54 (45,5-63,5)	45 (32,3-55,8) ^a	0,013
Tempo de AF (min/sem)	9 (0-180)	0 (0-180)	0 (0-0) ^{a b}	0,031
Medicações (n/%)				
Vitamina D	1/6,7	20/54,1 ^a	16/40	0,007
Calcitriol	0/0,0	8/21,6	15/37,5 ^a	0,015
Sal de Cálcio	1/6,7	1/2,7	13/32,5 ^b	0,0010
Sevelamer	0/0,0	2/5,4	24/60,0 ^{a b}	0,0001
IECA	6/40	12/32,4	3/7,5 ^{a b}	0,0075
BRA	5/33,3	7/18,9	13/32,5	0,344
Furosemida	0/0,0	13/35,1 ^a	9/22,5	0,026
Tiazídico	9/60	12/32,4	2/5,0 ^{a b}	0,0001
EPO	0/0	2/5,4	35/87,5 ^{a b}	0,001
Dose EPO (UI semanal)	0/0	0(0-0)	8000(4000-12000) ^{a b}	0,0001

Tempo de AF: Tempo de atividade física, IECA: Inibidores da enzima conversora da angiotensina, BRA: Bloqueadores do receptor da angiotensina, EPO: Eritropoetina Humana, UI: unidade a: p <0,05 vs. Controle; b: p <0,05 vs. DRC conservador

4.2. Dados Laboratoriais

Na tabela 3, estão descritas as características laboratoriais observadas nos 3 grupos. Conforme esperado, pacientes em diálise apresentaram os maiores níveis de creatinina, fósforo e PTH e os menores níveis de hemoglobina e cálcio sérico. Uma tendência a menores níveis de 25 vitamina D no grupo controle também foi observada, provavelmente como reflexo do menor uso deste medicamento por estes pacientes. Não encontramos diferenças nos valores de fosfatase alcalina, enquanto o ácido úrico foi maior no grupo conservador em relação ao grupo controle. Em relação ao FGF-23, foram observados níveis séricos mais elevados nos pacientes em diálise.

Tabela 3. Dados laboratoriais dos pacientes estudados

	Hipertensos (n=15)	Conservador (n=37)	Dialíse (n=40)	p
Creatinina (mg/dl)	0,8 (0,7- 0,9)	2,1 (1,6-2,9) ^a	10,2 (8,5-12,9) ^{a b}	0,0001
P (mg/dl)	3,5 (3,3-4,0)	3,8 (3,5-4,2)	4,6 (3,4-5,6) ^{a b}	0,004
Ca Total (mg/dl)	9,4 (9,2-9,8)	9,4 (8,9-9,7)	8,9 (8,2-9,3) ^{a b}	0,001
PTH (pg/ml)	53 (38-79)	59 (42-99)	254(127-562) ^{a b}	0,0001
25 Vit D (ng/ml)	21,0(16,6-25,0)	30,0 (20,0-35,0)	29,5 (20,3-43,0)	0,051
FA (U/l)	74 (61-86)	90 (68-105)	88 (64-129)	0,194
Ácido úrico (mg/dl)	5,3 ± 1,73	6,8 ± 1,4 ^a	6,2 ± 1,67	0,009
Hemoglobina (g/dl)	13,6 ± 1,11	12,7 ± 1,83	10,9 ± 1,55 ^{a b}	0,0001
Albumina (g/dl)	-	4,3 (3,6-4,6)	3,9 (3,53-4,1)	0,086
Ferritina (ng/ml)	-	141,5 (92,4-193,5)	339,5 (142,9-626,1) ^b	0,003
TFGe (mL/min/1,73m ²)	88,7(76,9-104,4)	32,1(19,6-45,4) ^a	5,4(3,9-7,2) ^{a b}	0,0001
FGF-23 (pg/ml)	76,7 (58,7-90,7)	114,1(77,6- 222,4) ^a	1622,5(184,2-8413) ^{a b}	0,0001
HIF1 α (ng/dl)	1,52 (0,16-2,22)	1,31(0,41-2,90)	1,07(0,29-3,3)	0,844
Klotho (pg/ml)	648 (595-648)	550 (454-697)	515(394-701)	0,283

P: Fósforo, Ca Total: Cálcio Total, PTH: Paratormônio, 25 Vit D: 25 Hidroxivitamina D, FA: fosfatase alcalina, Sat: Saturação, TFGe: Taxa de filtração glomerular estimada, FGF-23: Fator de crescimento do fibroblasto 23, HIF α : hypoxia inducible factor 1 alpha. a: p <0,05 vs. Controle; b: p <0,05 vs. DRC conservador

4.3. Dados demográficos e de medicações entre tabagistas e não tabagistas divididos em grupos.

Posteriormente, separamos os pacientes portadores de DRC (grupo conservador e diálise) de acordo com o hábito do tabagismo. As únicas diferenças encontradas foram a idade mais avançada no grupo em diálise e tabagista, maior prevalência do gênero masculino e maior sedentarismo no mesmo grupo (Tabela 4).

Tabela 4. Comparação de dados demográficos e de medicações entre tabagistas e não tabagistas dos 2 grupos

	Conservador (n=37)		Diálise (n=40)	
	Não tabagista (n=20)	Tabagista (n=17)	Não tabagista (n=21)	Tabagista (n=19)
Gênero masculino (n/%)	9/45,00	7/41,18	11/52,38	13/68,42 ^a
Idade (anos)	52,70 ± 12,9	52,82 ± 11,6	40,19 ± 13,3	50,21 ± 14,4 ^a
Tempo de AF (min/sem)	130 (0-315)	0 (0-0) ^a	0 (0-60)	0 (0-0) ^a
Medicações (n/%)				
Vitamina D	10/50,00	10/58,82	8/38,10	8/42,11
Calcitriol	5/25,00	3/17,65	8/38,10	7/36,84
Sal de Cálcio	0/0,00	1/5,88	8/38,10	5/26,32
Sevelamer	1/5,00	1/5,88	14/66,67	10/52,63
IECA	5/25,00	7/41,18	2/9,52	1/5,26
BRA	3/15,00	4/23,53	8/38,10	5/26,32
Furosemida	7/35,00	6/35,29	7/33,33	2/10,53
Tiazídico	6/30,00	6/35,29	2/9,52	0/0,00
EPO	2/10,0	0/0,0	19/90,5	16/84,2
Dose EPO (UI semanal)	0(0-0)	0(0-0)	8000(6000-12000)	4000(4000-12000)

IECA: Inibidores da enzima conversora da angiotensina, BRA: Bloqueadores do receptor da angiotensina, EPO: Eritropoetina humana, UI: unidades, a: p <0,05 vs. Não tabagista no mesmo grupo.

4.4. Dados laboratoriais entre tabagistas e não tabagistas divididos em grupos

Na tabela 5 estão descritos os dados laboratoriais de tabagistas e não tabagistas dos 2 grupos. Observamos que o fósforo sérico dos tabagistas do grupo conservador é maior do que dos não tabagistas. Para, as demais variáveis, incluindo FGF-23, HIF1 α e Klotho, não foram encontradas diferenças entre tabagistas e não tabagistas dentro dos grupos conservador e diálise.

Tabela 5. Comparação de dados laboratoriais entre tabagistas e não tabagistas dos 2 grupos

	Conservador (n=37)		Diálise (n=40)	
	Não tabagista (n=20)	Tabagista (n=17)	Não tabagista (n=21)	Tabagista (n=19)
Creatinina (mg/dl)	2,1 (1,7- 2,9)	1,8 (1,4-3,55)	11,5 (9,4-14,45)	9,3 (8,3-11,3)
P (mg/dl)	3,6 \pm 0,57	3,9 \pm 0,52 ^a	4,8 \pm 1,57	4,3 \pm 1,30
Ca Total (mg/dl)	9,3 \pm 1,14	9,11 \pm 0,40	8,83 \pm 0,78	8,78 \pm 0,89
PTH (pg/ml)	58(45-95)	60 (34-101)	350(82-765)	230(151-358)
25 Vit-D (ng/dl)	28,4 \pm 9,84	30,9 \pm 12,4	36,1 \pm 15,3	26,8 \pm 11,5
FA (U/l)	96(68-112)	84(68-94)	95(63-129)	81(64-132)
Ácido úrico (mg/dl)	7,05(6,17-8,12)	6,5(5,55-8,1)	6,3(5,65-8,05)	5,7(4,8-6,4)
Hemoglobina (g/dl)	12,7 \pm 1,4	12,7 \pm 2,3	10,9 \pm 1,5	10,9 \pm 1,6
Albumina (g/dl)	4,3 (3,9-4,5)	4,05 (3,45-4,7)	3,8 (3,4-4,1)	3,9(3,6-4,2)
Ferritina (ng/ml)	157,1(113,2-213,5)	132,2(86,7-197,4)	333,9 (116-609,5)	345 (145-636,2)
TFGe (mL/min/1,73m ²)	28,3 (20,9-42,8)	37,7 (16,7-50,1)	-	-
FGF-23 (pg/ml)	92,5(69,3-287,6)	141,2(104,9-222,2)	5208(284-18257)	474,5 (116-5800)
HIF1 α (ng/dl)	1,25 (0,59-2,17)	2,17 (0,24-3,84)	1,07 (0,25-2,96)	1,48 (0,27-3,33)
Klotho (pg/ml)	539 (451-644)	556 (464-759)	536 (429-809)	468 (387-627)

P: Fósforo, Ca Total: Cálcio Total, PTH: Paratormônio, 25 Vit D: 25 Hidroxivitamina D, FA: Fosfatase alcalina, Sat: saturação, TFGe: Taxa de filtração glomerular estimada, FGF-23: Fator de crescimento do fibroblasto 23, HIF α : hypoxia inducible factor 1 alpha. a: p <0,05 vs. Não tabagista no mesmo grupo.

4.5. Dados demográficos e de medicações entre tabagistas e não tabagistas

Para tentar explorar um pouco mais o papel do tabagismo sobre o distúrbio mineral e ósseo da DRC, agrupamos os pacientes dos dois grupos, dividindo-os de acordo com a presença de tabagismo.

A comparação entre tabagistas e não tabagistas mostrou que os tabagistas são mais sedentários que os não tabagistas. Em relação às medicações em uso, não foram observadas diferenças significativas entre tabagistas e não tabagistas, conforme descrito na Tabela 6.

Tabela 6. Dados demográficos e medicações entre tabagistas e não tabagistas

	Não tabagistas (n=41)	Tabagistas (n=36)	p
Genero masc (n/%)	20/48,8	20/55,6	0,553
Idade (anos)	46,3±14,4	51,4±13,0	0,106
Tempo de AF (min/sem)	0 (0-180)	0 (0-0)	0,001
Medicações (n%)			
Vitamina D	18/43,9	18/50	0,593
Calcitriol	13/31,7	10/27,8	0,707
Sal de Cálcio	8/19,5	6/16,7	0,747
Sevelamer	15/36,6	11/30,6	0,577
IECA	7/17,1	8/22,2	0,569
BRA	11/26,8	9/25,0	0,855
Furosemida	14/34,1	8/22,2	0,248
Tiazídico	8/19,5	6/16,7	0,747
EPO	21/51,2	16/44,4	0,553
Dose EPO (UI semanal)	4000 (0-8000)	0, (0-0)	0,822

Tempo de AF: Tempo de atividade física, IECA: Inibidores da enzima conversora da angiotensina,

BRA: Bloqueadores do receptor da angiotensina

4.6. Dados Laboratoriais entre tabagistas e não tabagistas agrupados

Na tabela 7 estão descritos os dados laboratoriais de tabagistas e não tabagistas agrupados. A única diferença observada foi no ácido úrico, que se apresentou mais baixo nos tabagistas.

Tabela 7. Dados laboratoriais entre tabagistas e não tabagistas

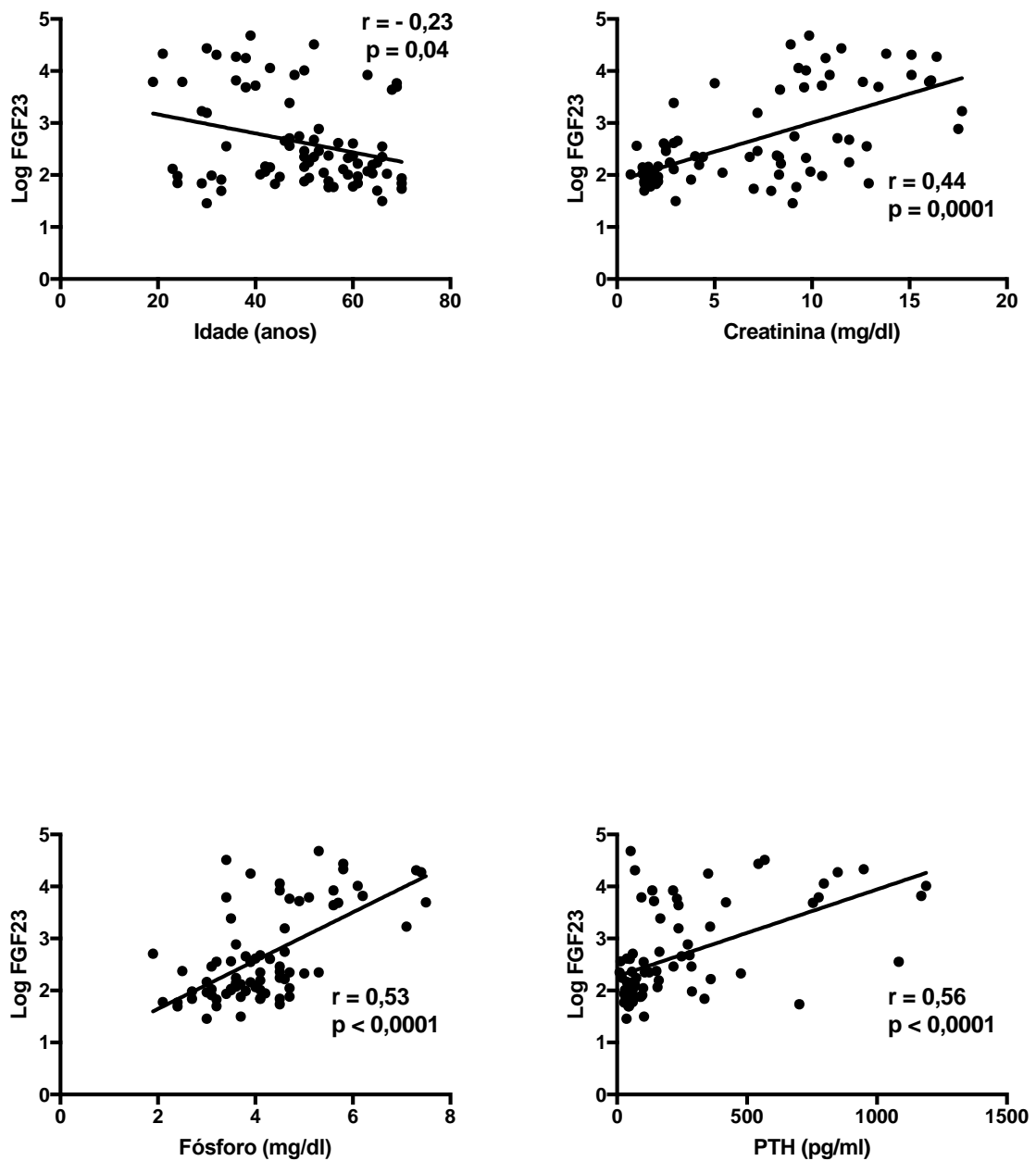
	Não tabagistas (n=41)	Tabagistas (n=36)	p
Laboratoriais			
Creatinina (mg/dl)	7,2 (2,1-11,7)	6,9 (19-9,7)	0,432
P (mg/dl)	4,2±1,3	4,2± 1,0	0,929
Ca Total (mg/dl)	9,1±0,99	8,9±0,71	0,524
PTH (pg/ml)	94 (47-385)	115 (57-235)	0,955
25-Vit-D (ng/dl)	32±13,3	29±11,9	0,221
FA (U/I)	95 (68-117)	82 (66-111)	0,459
Ácido úrico (mg/dl)	6,8±1,6	6,1± 1,5	0,030
Hemoglobina (g/dl)	11,8±1,7	11,8±2,1	0,992
Albumina	4,0 (3,55-4,2)	3,9 (3,6-4,38)	0,564
Ferritina (ng/ml)	182,3 (121,1-432,7)	192,8 (92,4-369,7)	0,555
TFGe (ml/mim/1,73m ²)	15,2 (4,2-31)	16,7 (5,9-49)	0,081
FGF-23 (pg/ml)	287,6 (78,4-5694)	165,1 (107,2-508)	0,708
HIF1α (ng/dl)	1,14 (0,36-2,20)	1,8 (0,28-3,5)	0,365
Klotho (pg/ml)	539 (445-727)	521 (419-661)	0,441

P: Fósforo, Ca Total: Cálcio Total, PTH: Paratormônio, 25 Vit D: 25 Hidroxivitamina D, FA: fosfatase alcalina, Sat: Saturação TFGe: Taxa de filtração glomerular estimada, FGF-23: Fator de crescimento do fibroblasto 23, HIFα: hypoxia inducible factor 1 alpha.

4.7. Correlações entre níveis séricos de FGF-23, Klotho e HIF1 α com variáveis clínicas e bioquímicas

Encontramos correlação significativa entre os níveis séricos de FGF-23 e idade, creatinina, fósforo e PTH (Figura 2). Não encontramos correlações significativas entre Klotho e HIF1 α e qualquer variável.

FIGURA 2. Correlação dos níveis séricos de FGF-23 com idade, creatinina, fósforo e PTH



5. DISCUSSÃO

Este trabalho avaliou a relação entre o fumo, doença renal crônica e os níveis séricos de FGF-23, Klotho e HIF-1 α , em 92 indivíduos com função renal normal, em tratamento conservador de DRC ou em diálise.

Observamos um predomínio de indivíduos do sexo feminino no nosso grupo controle, que também era mais velho do que os pacientes em diálise. Isto provavelmente ocorreu porque nossos voluntários com função renal normal eram de um ambulatório de hipertensão arterial. No nosso serviço, a maior parte dos pacientes neste ambulatório é composta por mulheres sexagenárias. Com relação aos pacientes em diálise, encontramos uma distribuição por sexos semelhante à do censo da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN) de 2016, cuja taxa de distribuição de pacientes por sexo foi de 57% no masculino e 43% no feminino.

A prática de atividade física nos dialíticos foi menor que os demais grupos, provavelmente porque tanto as doenças, como o próprio procedimento de diálise, levam a alterações físicas e psicológicas. Além disto, muitos pacientes acreditam, por falta de informação, que a prática de exercício físico não deve ser realizada em sua condição. Hoje em dia, o exercício físico é recomendado para pacientes em diálise, com efeitos benéficos crônicos, que incluem aumento da capacidade aeróbica, força muscular, produção de antioxidantes, controle da pressão arterial e diminuição da fadiga (CHANG et al., 2010).

Em relação as medicações utilizadas pelos pacientes em diálise, observamos uso mais frequente de calcitriol, sal de cálcio, sevelamer e EPO, o que é considerado comum nessa população diante da necessidade de correção das alterações provocadas pelo DMO, e anemia diante da produção insuficiente de EPO. Já nos pacientes em tratamento conservador, houve maior uso da vitamina D e furosemida. A retenção hídrica pode ser acentuada nos estágios mais avançados da DRC e uma droga diurética deve ser incluída no tratamento destes pacientes. Do mesmo modo, o cole ou o ergocalciferol devem ser repostos caso o paciente apresente-se com hipovitaminose D (SETTE; TITAN; ABENSUR, 2010). O rim é o principal local onde ocorre a conversão de 25-hidroxivitamina D (25(OH) D₃) em calcitriol, forma biologicamente ativa da vitamina, através da ação da 1 α - hidroxilase presente no túbulo proximal. Portanto, a redução da massa renal observada na DRC leva a uma menor capacidade de produção de calcitriol (TANAKA; DELUCA, 1973). Os voluntários com função renal normal em nosso estudo apresentaram níveis mais baixos de vitamina D, provavelmente por ainda não haver recomendações para sua reposição, uma vez que nesta população ainda não há evidências dos benefícios desta estratégia.

Como já esperado, os pacientes em diálise apresentaram os dados laboratoriais distintos dos demais grupos. Níveis séricos mais elevados de creatinina, fósforo, PTH e ferritina, e mais baixos de cálcio e hemoglobina são reflexo da perda acentuada de função renal. Também foram observados níveis séricos de FGF-23 mais elevados nestes pacientes, confirmando achados já descritos por outros autores (OLIVEIRA; MOYSÉS, 2010)(OLIVEIRA et al., 2013).

No entanto, não encontramos diferenças para Klotho e HIF-1 α . O conceito atual é de que, na DRC, ocorra importante supressão da transcrição de Klotho no tecido renal. Utilizando a técnica de Western-Blot, Kuro-o e cols. demonstraram diminuição da concentração urinária de Klotho a medida que a DRC progride. (HU; KURO-O; MOE, 2012)(KOH et al., 2001). Porém, é importante ressaltar que avaliamos a concentração sérica de Klotho através da técnica de ELISA. Atualmente, ainda há controvérsia se os níveis séricos de Klotho aumentam ou diminuem com a progressão da DRC, e se os ensaios de ELISA são fidedignos.

Em relação ao HIF-1 α , apesar de não acharmos diferenças em nosso estudo, já é descrita a presença de hipóxia no tecido renal na DRC, provavelmente pela presença de fibrose, o que ativaria o complexo do HIF-1 α , como uma resposta fisiológica (MAXWELL, 2005). Além disso, a ativação de HIF-1 α é frequente nas doenças inflamatórias e muitos estudos mostram que o HIF-1 α funciona de forma adaptativa, aumentando a tolerância à isquemia e controlando a inflamação excessiva. No entanto, este tipo de avaliação ainda não foi realizado em humanos (FRANCIS; DAVID, 2016).

Ao dividir os pacientes de acordo com a presença de tabagismo e necessidade de diálise, observamos que os pacientes em diálise tabagistas tinham maior prevalência do sexo masculino, e eram mais velhos. Com relação aos exames laboratoriais, observamos que o fósforo sérico foi maior no grupo de pacientes tabagistas em tratamento conservador. Lembrando que o fósforo sérico já foi identificado como um fator de risco independente para mortalidade por etiologia cardiovascular entre indivíduos renais crônicos, é curioso observar que tabagistas, que também apresentam maior risco cardiovascular, também tem fósforo sérico mais alto, mesmo que dentro da faixa de referência (SILVA et al., 2013). No entanto, não podemos explicar a causa desta elevação em nossos pacientes, já que o desenho de nosso estudo não nos permite fazer relações de causa-efeito. Podemos dizer que não é por inibição da síntese de FGF-23, já que não encontramos diferenças entre tabagistas e não-tabagistas no grupo conservador. Uma possibilidade seria que o fumo inibisse a expressão renal de Klotho (e portanto, seu nível sérico), diminuindo a ação do FGF-23. Assim, embora com valores semelhantes de FGF-23, fumantes teriam menor ação fosfatúrica deste hormônio e, portanto, maiores níveis séricos de fósforo. Porém, não encontramos diferenças nos níveis séricos de Klotho entre os dois grupos.

Tampouco encontramos diferenças no FGF-23, contrariamente ao que foi descrito anteriormente por (VERVLOET et al., 2012). Esta diferença poderia ser explicada pelos diferentes ensaios, uma vez que dosamos a molécula intacta e estes autores avaliaram a fração C-terminal do FGF-23. Este fragmento da molécula do FGF-23, anteriormente identificada como inativo, parece ter papel importante nas situações de deficiência de ferro e inflamação (FRANCIS; DAVID, 2016). Porém, o papel do FGF-23 C-terminal nestas condições é pouco conhecido.

Para os pacientes em diálise, não houve diferenças em relação ao fósforo sérico entre tabagistas e não tabagistas. Provavelmente, neste grupo de pacientes, a diálise, PTH e o uso de quelantes devem ser os principais determinantes do fósforo sérico.

Na análise combinada dos grupos DRC conservador e diálise, observamos novamente que tabagistas fazem menos atividade física do que os não tabagistas. Isto torna-se mais importante no contexto da DRC, que já está associada a maior risco cardiovascular.

Outro achado foi o menor nível sérico de ácido úrico em tabagistas. Isto já havia sido descrito em tabagistas com função renal normal (HAJ MOUHAMED et al., 2011). Uma das hipóteses levantadas pelos autores é de que o ácido úrico seria utilizado pelo organismo como um anti-oxidante, uma vez que o fumo aumentaria o estresse oxidativo. Em nosso estudo, demonstramos pela primeira vez, que níveis séricos de ácido úrico também são mais baixos em fumantes com DRC, ou seja, a presença desta doença não afetaria esta potencial interação entre fumo e ácido úrico.

Encontramos correlações significativas entre níveis séricos de FGF-23 com a idade, creatinina, fósforo e PTH. Observamos que, a medida que os indivíduos envelhecem, cai o FGF-23. Também, como já descrito anteriormente por outros autores, os níveis de FGF-23 aumentam com a progressão da DRC (ISAKOVA et al., 2011). Da mesma maneira, houve associação positiva entre FGF-23 P, assim como com o PTH; estudo anterior mostrou que o PTH aumenta a transcrição do gene do FGF-23 (LAVI-MOSHAYOFF et al., 2010). Não encontramos correlações significativas entre Klotho e HIF1 α e qualquer variável.

Concluindo, encontramos maiores níveis séricos de P e menores níveis de ácido úrico em pacientes com DRC e fumantes. Não foram encontradas diferenças significativas nos níveis de Klotho e HIF1 α . Com relação ao FGF-23, apesar de observamos níveis mais elevados nos pacientes em diálise, não encontramos diferenças significativas entre fumantes e não fumantes. Como limitações deste estudo, temos o tamanho relativamente pequeno da amostra; seu desenho transversal, que não nos permite estabelecer relações de causa e efeito. Porém, como tratava-se de um estudo exploratório de uma hipótese, acreditamos que seu desenho está

de acordo com a nossa proposta original. Considerando que o FGF-23 tem um papel importante no DMO-DRC, novos estudos avaliando o papel do fósforo sérico, ácido úrico e FGF-23 em pacientes com DRC e fumantes devem ser realizados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADENEY, K. L. et al. Association of serum phosphate with vascular and valvular calcification in moderate CKD. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 20, n. 2, p. 381–387, 2009.

ANDERSON, K. M. et al. Cardiovascular disease risk profiles. **American heart journal**, v. 121, n. n1, p. 293–298, 1991.

BAGGIO, B. et al. Atherosclerotic risk factors and renal function in the elderly: The role of hyperfibrinogenaemia and smoking. Results from the Italian Longitudinal Study on Ageing (ILSA). **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 20, n. 1, p. 114–123, 2005.

BLOCK, G. A. et al. Mineral Metbolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 15, n. 8, p. 2208–18, 2004.

BLOCK, G. A. et al. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: A national study. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 31, n. 4, p. 607–617, 6 maio 1998.

BRAUN, J. et al. Electron beam computed tomography in the evaluation of cardiac calcifications in chronic dialysis patients. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 27, n. 3, p. 394–401, 1996.

CHANG, Y. et al. The effectiveness of intradialytic leg ergometry exercise for improving sedentary life style and fatigue among patients with chronic kidney disease: A randomized clinical trial. **International Journal of Nursing Studies**, v. 47, n. 11, p. 1383–1388, 17 maio 2010.

DATASUS. **Doenças cardiovasculares causam quase 30% das mortes no País**. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/saude/2011/09/doencas-cardiovasculares-causam-quase-30-das-mortes-no-pais>>. Acesso em: 5 abr. 2017.

DAVID, V. et al. Inflammation and functional iron deficiency regulate fibroblast growth factor 23 production. **Kidney International**, v. 89, n. 1, p. 135–46, 2016.

EKNOYAN, E BURDEN OF KIDNEY DISEASE: I. GLOBAL OUTCOMES G. et al. The burden of kidney disease: Improving global outcomes. **Kidney International**, v. 66, n. 4, p. 1310–1314, 2004.

FAUL, C. et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. **Journal of Clinical Investigation**, v. 121, n. 11, p. 4393–4408, 2011.

FENSTERSEIFER, D, M. et al. Coronary calcification and its association with mortality in haemodialysis patients. **Nephrology**, v. 14, p. 164–170, 2009.

FRANCIS, C.; DAVID, V. Inflammation regulates fibroblast growth factor 23 production.

Kidney Int, v. 25, n. 4, 2016.

GARCÍA-ESQUINAS, E. et al. Kidney function and tobacco smoke exposure in US adolescents. **Pediatrics**, v. 131, n. 5, p. e1415-23, 2013.

GUÉRIN AP, PANNIER B, MARCHAIS SJ, ET AL. Cardiovascular disease in the dialysis population: prognostic significance of arterial disorders. **Clinical nephrology**, v. 15, n. 2, p. 105–110, 2006.

GUTIERREZ, O. et al. Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 16, n. 7, p. 2205–2215, 2005.

HAJ MOUHAMED, D. et al. Effect of cigarette smoking on plasma uric acid concentrations. **Environmental Health and Preventive Medicine**, v. 16, n. 5, p. 307–312, set. 2011.

HALLAN, STEIN, I.; ORTH, S. R. Smoking is a risk factor in the progression to kidney failure. **Kidney International**, v. 80, n. 5, p. 516–523, 2011.

HEIKKI V. HUIKURI, A. C.; MYERBURG, R. J. Sudden Death Due to Cardiac Arrhythmias. v. 345, n. 20, p. 1473–1482, 2001.

HERZOG, C. et al. Cardiovascular disease in chronic kidney disease. A clinical update from Kidney Disease:Improving Global Outcomes (KDIGO). **Kidney International**, v. 80, n. 6, p. 572–586, 2011.

HU, M. C.; KURO-O, M.; MOE, O. W. The emerging role of Klotho in clinical nephrology. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 27, n. 7, p. 2650–2657, 2012.

HU, M. C.; KURO-O, M.; MOE, O. W. Klotho and Chronic Kidney Disease. **contrib Nephrol**, v. 180, p. 47–63, 2013.

HU, M. C.; MAKOTO KURO-O; MOE, O. W. Secreted Klotho and Chronic Kidney Disease. **Adv exp Med Biol**, v. 728, p. 126–157, 2012.

IKUSHIMA, M. et al. Anti-apoptotic and anti-senescence effects of Klotho on vascular endothelial cells. **Biochem Biophys Res Comm**, v. 339, n. 3, p. 827–832, 2005.

ISAKOVA, T. et al. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. **Kidney Int**, v. 79, n. 12, p. 1370–1378, 2011.

ISAKOVA, T.; WAHL, P.; VARGAS, G, S. ET AL. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. **Kidney International**, v. 79, p. 1370, 2011.

JAGER, D. et al. Cardiovascular and noncardiovascular mortality among patients starting dialysis. **Jama**, v. 302, n. 16, p. 1782–1789, 2009.

JENNIFER, L.-R. et al. **Infection and smoking are associated with decreased plasma concentration of the anti-aging protein, α -klotho** **Journal of Perinatal Medicine**, 2013. Disponível em: <file://www.degruyter.com/view/j/jpme.2013.41.issue-5/jpm-2013-0084/jpm-

2013-0084.xml>

KOH, N. et al. Severely Reduced Production of Klotho in Human Chronic Renal Failure Kidney. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 280, n. 4, p. 1015–1020, 2001.

KURO-O, M. et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. **Nature**, v. 390, n. 6655, p. 45–51, 1997.

KURO-O, M. Klotho, phosphate and FGF-23 in ageing and disturbed mineral metabolism. **Nat Rev Nephrol**, v. 9, n. 11, p. 650–60, 2013.

LARSSON, T. et al. Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. **Kidney International**, v. 64, n. 6, p. 2272–2279, 2003.

LAVI-MOSHAYOFF, V. et al. PTH increases FGF23 gene expression and mediates the high-FGF23 levels of experimental kidney failure: a bone parathyroid feedback loop. **American journal of physiology. Renal physiology**, v. 299, n. 4, p. F882–F889, 2010.

LEVIN, A. et al. Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: Results of the study to evaluate early kidney disease. **Kidney International**, v. 75, n. 11, p. 31–38, 2007.

LIU, S. et al. Regulation of fibroblast growth factor23 expression but not degradation by PREX. **J Biol Chem**, v. 278, p. 37419–26, 2003.

LIU, S.; QUALRLES, L, D. How fibroblast growth factor 23 works. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 18, p. 1637–47, 2007.

LLACH, F. Secondary hyperparathyroidism in renal failure: the trade-off hypothesis. **revisited . Am J Kidney Dis.**, v. 25, p. 663–679, 1995.

LLACH, F.; MASSARY, S, G. On the mechanism of secondary hiperparathyroidism in moderate renal insufficiency. **Journal clin endocrinol Metab**, v. 61, p. 601–606, 1985.

LONGENECKER, J. C. Traditional Cardiovascular Disease Risk Factors in Dialysis Patients Compared with the General Population: The CHOICE Study. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 13, p. 1918–1927, 2002.

MAXWELL, P. H. Hypoxia-inducible factor as a physiological regulator. **Experimental physiology**, v. 90, n. 6, p. 791–797, 2005.

MELANIE, K. ET AL H. Risk factors for chronic kidney disease: a prospective study of 23,534 men and women in Washington County, Maryland. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 14, n. 11, p. 2934–2941, 2003.

MICHAEL, J. ET AL K. Blood pressure and end-stage renal disease in men. **New England J of/med**, v. 334, n. 1, p. 13–18, 1996.

MOE, S. et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: A position

statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). **Kidney International**, v. 69, n. 11, p. 1945–1953, 2006.

MOYSÉS, R.; CANZIANI, M. Sevelamer and CKD-associate cardiovascular disease: going further, but far from there. **Kidney International**, v. 84, p. 429–31, 2013.

NAVEH-MANY, T. et al. Parathyroid cell proliferation in normal and chronic renal failure rats. The effects of calcium, phosphate, and vitamin D. **The Journal of clinical investigation**, v. 96, n. 4, p. 1786–93, 1995.

NEVES, K. R. et al. Adverse affects of hiperphosphatemia on myocardial hipertrophy, renal funtion, and bone in rats with renal failure. **Kidney International**, v. 66, p. 429–31, 2004.

OLIVEIRA, R. B. DE et al. Vascular calcification in chronic kidney disease: a review. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 35, n. 2, p. 147–161, 2013.

OLIVEIRA, R. B. DE; MOYSÉS, R. M. A. FGF-23- estado da arte. **Jornal Brasileiro de Nefrologia** , v. 32, n. 3, p. 323–331, 2010.

ORTH, S. R.; HALLAN, S. Smoking: a risk factor for progression of chronic kidney disease and for cardiovascular morbidity and mortality in renal patients—absence of evidence or evidence of absence? **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 3, n. 1, p. 226–236, 2008.

RUSSO, D. et al. Coronary Artery Calcification in Patients With CRF Not Undergoing Dialysis. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 44, n. 6, p. 1024–1030, 2004.

SCHÄCHINGER, V.; MARTINA BB; ANDREAS MZ. Clinical Investigation and Reports Adverse Long-Term Outcome of Coronary Heart Disease. p. 1899–1906, 2000.

SCIALLA, J, J.; WOLF, M. Roles of phosphate and fibroblast growth 23 in cardiovascular disease. **Nat Rev Nephrol**, v. 10, n. 5, p. 268–78, 2014.

SEMENZA, G. L. invited review. p. 1474–1480, 2000.

SEMENZA, G. L. ischemic preconditioning ☆. **BBA - Molecular Cell Research**, v. 1813, n. 7, p. 1263–1268, 2011.

SETTE, L.; TITAN, S.; ABENSUR, H. **Doença Renal crônica**. Disponível em: <http://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/2518/doenca_renal_cronica.htm>. Acesso em: 21 maio. 2017.

SHIMADA, T. et al. Vitamin D receptor independent FGF-23 actions in regulation phosphate and vitamin D metamolism. **American Journal physiol Renal phisiol**, v. 289, p. 1088–1095, 2005.

SILVA, M, A, D. Guerra contra o fumo. **Fundo de aperfeicoamento e pesquisa em cardiologia**, p. 8, [s.d.].

SILVA, S. T. et al. Tratamento conservador: Influência sobre parâmetros clínicos de indivíduos

em hemodiálise. **Mundo da Saude**, v. 37, n. 3, p. 354–364, 2013.

SLATOPOLSKY, E.; BROWN, A.; DUSSO, A. Pathogenesis of secondary hiperparathyroidism. **Kidney International**, v. 56, p. S14–S19, 1999.

SOZIO, S. et al. Cerebrovascular disease incidence, characteristics, and outcomes in patients initiating dialysis: the choices for healthy outcomes in caring for ESRD (CHOICE) study. **American journal of kidney diseases**, v. 54, n. 3, 2009.

TANAKA, Y.; DELUCA, H. F. The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 154, n. 2, p. 566–574, 1973.

TAO, H. et al. Expression and significance of hypoxia-inducible factor-1 α in patients with chronic obstructive pulmonary disease and smokers with normal lung function. **Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi**, v. 30, n. 8, p. 852–5, 2014.

URAKAWA, I.; YAMAZAKI, Y.; SHIMADA, T. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF-23. **Nature**, v. 444, p. 770–4, 2006.

VAN DER ZEE, S. et al. Cardiovascular Risk Factors in Patients with Chronic Kidney Disease. **Nat Rev Cardio**, v. 6, n. 9, p. 580–9, 2009.

VERDE, Z. et al. A Paradox: α -Klotho Levels and Smoking Intensity. **Lung**, v. 195, n. 1, p. 53–57, 2017.

VERVLOET, M. G. et al. Fibroblast growth factor 23 is associated with proteinuria and smoking in chronic kidney disease: an analysis of the MASTERPLAN cohort. **BMC nephrology**, v. 13, n. 1, p. 20, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cardiovascular diseases (CVDs)**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>>. Acesso em: 5 abr. 2017.

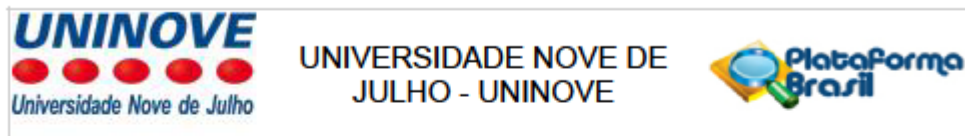
YAMAGATA, K. et al. Risk factors for chronic kidney disease in a community-based population: a 10-year follow-up study. **Kidney Int**, v. 71, n. 2, p. 159–166, 2007.

YAMASHITA, T.; YOSHIOKA, M.; ITOH, N. Identification of a novel fibroblast growth factor, FGF-23 preferentially expressed in the ventro-lateral thalamic nucleus of the brain. **Biochem Biophys Res Comm**, v. 277, p. 494–8, 2000.

YUSUF, S. et al. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. **The Lancet**, v. 366, n. 9497, p. 1640–1649, 5 abr. 2017.

7.ANEXOS

ANEXO-1



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO FUMO SOBRE OS MARCADORES DO METABOLISMO MINERAL EM PORTADORES DE DOENÇA RENAL CRÔNICA

Pesquisador: Rosa Maria Affonso Moyses

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 55530416.3.0000.5511

Instituição Proponente: ASSOCIACAO EDUCACIONAL NOVE DE JULHO

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO
ASSOCIACAO EDUCACIONAL NOVE DE JULHO

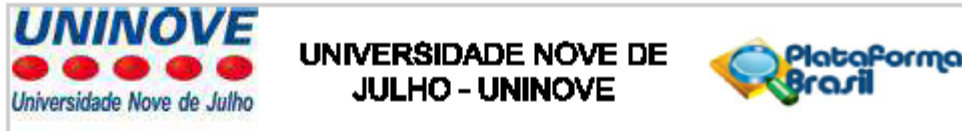
DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.613.780

Apresentação do Projeto:

Os distúrbios do metabolismo mineral e ósseo da doença renal crônica (DMO- DRC) constituem uma síndrome definida por alterações do cálcio (Ca), do fósforo (P), da vitamina D e do paratormônio (PTH); por anormalidades ósseas; ou pela presença de calcificação extra esquelética em pacientes portadores de DRC. A doença cardiovascular (DCV) é a principal causa de morte na DRC. Pacientes em diálise com menos de 65 anos têm um risco de morte de 10 a 500 vezes maior do que indivíduos da população geral, mesmo após ajuste para sexo, raça e presença de diabetes. Outro fator de risco para a DCV, é o fumo que através da nicotina contribui para o desenvolvimento das doenças coronarianas, deflagra a liberação de catecolaminas, que elevam a frequência, e a pressão arterial e a resistência periférica. No presente estudo pretendemos avaliar a relação entre o fumo, DRC e os níveis séricos de FGF-23 e da proteína Klotho. Serão levantados a partir do prontuário da Instituição, anotados e arquivados com todas as precauções necessárias para manter o sigilo das informações do paciente. São eles: doença renal de base, idade, história de tabagismo,

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249	CEP: 01.504-001
Bairro: LIBERDADE	
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9197	E-mail: comitedeetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 1.613.790

sedentarismo, presença de comorbidades como hipertensão e diabetes mellitus, história de doença coronariana e cerebrovascular, uso de medicações, e resultados dos exames de Creatinina, Cálcio, Fósforo, PTH, e 25 Vitamina D. A dosagem de FGF-23 e Klotho será realizada pelo método ELISA.

Objetivo da Pesquisa:

Analisar a relação entre o fumo, doença renal crônica e os níveis sanguíneos de duas proteínas do sangue, conhecidas como FGF-23 e Klotho.

Os objetivos estão claros.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Durante a coleta de sangue, serão tomados todos os cuidados para que não ocorra nenhum problema, como mal estar, extravasamento de sangue com formação de hematoma, ou infecção. A coleta de sangue será feita por profissional qualificado para realizar este procedimento.

Benefícios:

Este estudo nos permitirá uma melhor compreensão da fisiopatologia das DMO-DRC e também nos permitirá estabelecer ações de prevenção de DCV.

NO TCLE Não estão descritos os cuidados que serão tomados para evitar os problemas descritos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa eticamente adequada ao que se propõe.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos estão adequados a pesquisa proposta.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PE_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P PROJETO_681345.pdf	16/09/2016 18:54:38		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	termo_consentimento_revisado2.doc	16/09/2016 18:54:12	Rosa Maria Afonso Moyse	Aceito

Endereço: VERGUEIRO nº 236249

Bairro: LIBERDADE

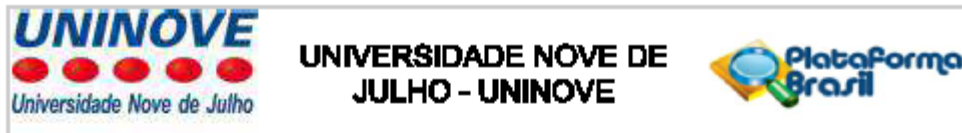
CEP: 01.654-051

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3385-8197

E-mail: comitedeetic@uninove.br



Continuação do Parecer: 1.013.790

Justificativa de Ausência	termo_consentimento_revisado2.doc	16/06/2016 18:54:12	Rosa Maria Afonso Moraes	Acelo
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	tgf_e_tabela1.docx	16/06/2016 18:53:35	Rosa Maria Afonso Moraes	Acelo
Folha de Rosto	folha_de_rosto_Gauze.pdf	16/06/2016 18:52:58	Rosa Maria Afonso Moraes	Acelo

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SÃO PAULO, 29 de Junho de 2016

Assinado por:
Stella Regina Zarusner
(Coordenador)

Endereço: VERGUEIRO nº 236240
Bairro: LIBERDADE CEP: 01.654-051
UF: SP Município: SÃO PAULO
Telefone: (11)3385-8197 E-mail: comitedeetic@uninove.br

Questionário

1. Tabagista SIM ()

() Nunca fumou () Parou há mais de 3 anos

R: _____

2. Quantos cigarros fuma por dia?

R: _____

3. Pratica alguma atividade física?

SIM ()

qual? _____

Frequencia _____ min _____X por semana

Não ()