

MARIA AYAKO KAMIMURA

**RELAÇÃO ENTRE INFLAMAÇÃO E GASTO ENERGÉTICO DE
REPOUSO EM PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA
SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE**

Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo – Escola Paulista de Medicina, para
obtenção do Título de Doutor em Ciências.

São Paulo

2006

MARIA AYAKO KAMIMURA

**RELAÇÃO ENTRE INFLAMAÇÃO E GASTO ENERGÉTICO DE
REPOUSO DE PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA
SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE**

**Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo – Escola Paulista de Medicina, para
obtenção do Título de Doutor em Ciências.**

Orientador: Profa. Dra. Lilian Cuppari

Co-Orientador: Prof. Dr. Sérgio Antônio Draibe

Coordenador: Profa. Dra. Claudia Maria Oller do Nascimento

São Paulo

2006

Ficha Catalográfica

Kamimura, Maria Ayako

Relação entre inflamação e gasto energético de repouso em pacientes com doença renal crônica submetidos à hemodiálise

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-graduação em Nutrição.

1. Doença renal crônica. **2.** Hemodiálise. **3.** Gasto energético de repouso.
4. Inflamação. **5.** Proteína C-reativa. **6.** Interleucina-6

Apoios: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp)

Fundação Oswaldo Ramos

DEDICATÓRIA

*Ao meu marido **Renato Kaneko**,
companheiro de todos os momentos e
um grande amigo. Agradeço pela
dedicação, paciência, pelo incansável
apoio e incentivo, preenchendo-me,
sempre com muito amor e carinho.*

*Aos meus pais **Takemitsu** e
Miiko Kamimura, que mesmo pelo
tempo e pela distância que nos
separam, continuam ensinando-me
a persistir nos ideais que
abraçamos um dia.*

Uma dedicatória muito especial:

À minha querida amiga **Nelma Scheyla José dos Santos**. Grande companheira de Mestrado e precursora do presente estudo. Em sua breve passagem, deixou ensinamentos de amor, carinho e, sobretudo, de dedicação, respeito e lealdade. Agradeço pela amizade, por ter compartilhado comigo o entusiasmo pela ciência e por contribuir imensamente para o meu aprendizado.

AGRADECIMENTOS

*Aos meus irmãos **Sayuri, Rikio e Harumi Kamimura** que, pelo inquestionável apoio e incentivo, fortalecem a determinação na busca dos meus sonhos.*

*Aos meus queridos sogros **Roberto e Tereza Kaneko**, pelo carinho com que me acolheram e pelo apoio que nunca faltou. Agradeço imensamente pela relação de confiança e amor que cresce a cada dia.*

*Aos meus queridos cunhados **Marcos, Lúcia e Carlos Eduardo**, pelo carinho, lealdade e respeito sempre presentes.*

Aos meus orientadores:

*À querida Professora Dra. **Lilian Cuppari**, por continuar a semear em meu caminho confiança, motivação e esperança. Agradeço por todos os ensinamentos de nutrição, de nefrologia, de pesquisa e da vida. Agradeço pela oportunidade de aprender e ensinar, de errar e acertar, de imaginar e realizar. E, acima de tudo, agradeço pelo convívio ao longo de todos esses anos em que pudemos compartilhar dificuldades, ansiedades e desafios, mas em muito maior escala, carinho, alegria e conquistas.*

*Ao querido Professor Dr. **Sérgio Antônio Draibe**, a quem guardo profunda admiração e respeito. Agradeço imensamente por todas as oportunidades propiciadas ao longo de todos esses anos e pela expressiva contribuição para o meu crescimento científico. Agradeço pelas sábias orientações e, sobretudo, pelo inquestionável carinho e apoio sempre presentes.*

À coordenação da Pós-Graduação em Nutrição:

*À Professora Dra. **Claudia Maria Oller do Nascimento**, por esta valiosa oportunidade de realizar o Doutorado na Pós-Graduação em Nutrição. Agradeço pelo inestimável apoio sempre presente à equipe de Nutrição em Nefrologia da Unifesp/EPM.*

*À Professora Dra. **Dirce Maria Sigulem**, agradeço pelo apoio e carinho que nunca faltaram durante o longo período de sua dedicação à Pós-Graduação em Nutrição da Unifesp/EPM.*

À Professora Dra. **Maria Eugênia Fernandes Canziani**, pelo carinho e pelas manifestações de apoio e motivação em todos os momentos. Meus agradecimentos também a toda a sua equipe de médicos e residentes.

À enfermeira **Sílvia Regina Manfredi**, pela alegria contagiante, pela amizade, pelo apoio e incentivo a cada dia na Casinha da Diálise. Agradeço também a toda a sua equipe de enfermagem e auxiliares que tanto nos apóiam.

Ao Professor Dr. **Miguel Cendoroglo Neto**, a quem muito admiro. Agradeço pela oportunidade de realização das dosagens no laboratório da Nefrologia e pelas preciosas sugestões de análises dos nossos dados.

À bióloga **Maria Aparecida Dalboni**, pelos ensinamentos teóricos e práticos envolvendo marcadores inflamatórios. Agradeço pela paciência, apoio, incentivo e, sobretudo, pela sua ativa participação nos estudos durante todo esse período.

Ao Professor Dr. **Aluízio Barbosa de Carvalho** e toda a equipe de osteodistrofia renal, pelos ensinamentos tão valiosos sobre a doença óssea e pelo carinho e momentos de alegria no ambulatório do “osso”.

À todos os professores da Disciplina de Nefrologia da Unifesp/EPM e seus funcionários pelo apoio sempre presente.

À Dra. **Alessandra Pedrosa**, ao Dr. **Marcelo Montebello Lemos** e aos demais médicos da equipe de Uremia pelo apoio e pelos momentos compartilhados no ambulatório.

À equipe de Diálise Peritoneal Dra. **Maria Cláudia Andreolli**, Dr. **Marco Antônio Nadaletto**, **Camila Barbosa da Silva**, **Maria da Conceição de Jesus** e **Débora Ferreira** pelo apoio sempre presente.

Ao estatístico **Fernando Basile Colugnati**, pela realização de parte das análises do estudo e pelos ensinamentos sobre estatística.

Meus agradecimentos, com muito carinho, aos queridos funcionários da Fundação Oswaldo Ramos **Rosinália Ferreira Guedes**, **Ricardo Alexandre Guedes**, **Maria Aparecida Nunes Rezende**, **Eunice de Fátima Orácio** e **Rodrigo Alessandro Guedes** pela cooperação, amizade e apoio durante todo este período.

Agradeço, com muito carinho, aos queridos e fiéis funcionários da Casinha da Diálise **Nilson Silva dos Santos**, **Vanessa Pereira de Paula**, **Cristina Maria Alves Bessa**, **Viviani de Araújo**, **Nilton Silva dos Santos** e **Daniela Dias Mattiusso** pelo carinho, pela atenção e pelos "helps" sempre tão urgentes.

Aos funcionários da Pós-Graduação em Nutrição **Ana Fabíola Gomes Silva** e **Andreas Oliboni** pelo carinho e apoio.

Às minhas queridas amigas companheiras de Pós-Graduação:

*À querida amiga **Carla Maria Avesani** "Car", um verdadeiro exemplo de ser humano e profissional. Agradeço pelos seus constantes ensinamentos científicos e da vida, que me ajudam a crescer diante de tantos desafios. Agradeço, sobretudo, pela sua fidelidade, pelo seu apoio de forma muito especial em todos os momentos e pela amizade que se fortalece a cada dia.*

*À querida amiga **Ana Paula Bazanelli** "Bana's", pelo conjunto de qualidades que fazem com que a nossa amizade e profissionalismo caminhem de uma forma muito harmoniosa e perfeita. Agradeço por tudo que compartilhamos e pelo seu apoio, compreensão e carinho em todos os momentos.*

*À querida amiga **Miriam Ghedini Garcia Lopes** "Mimi's", pelos sorrisos e também lágrimas resultantes de um convívio intenso e verdadeiro. Agradeço pelo seu apoio em todos os momentos e, sobretudo, pela amizade sincera.*

*À querida amiga **Fabiana Sanches da Mota Ribeiro** "Faco". Admiro o seu esforço na busca de seus ideias. Agradeço pela amizade, apoio e manifestações de carinho no dia a dia.*

À querida amiga **Priscila Vasselai** "Prico", por inspirar em mim essa crescente vontade de compreender, analisar e criar. Agradeço pela amizade, carinho e apoio sempre.

À querida amiga **Cláudia Modesto Veludo de Oliveira** "Cró", pelas manifestações de apoio, carinho e "mimos" constantes. Agradeço pela certeza de que poderei sempre contar com sua amizade.

À querida amiga **Juliana Megumi Nisio** "Julienn", que apesar do pouco tempo de convívio mostra-se sempre pronta para ajudar. Agradeço pelo seu carinho e amizade.

À querida amiga **Simone Flach Feiten** "Top", pela sua amizade e pelo intenso carinho que nos ligam até hoje. Torço pela sua felicidade
Querida!!!

À querida amiga **Fabiana Baggio Nerbass** "Pequenina", pelo apoio desigual em todos, mas todos os momentos. Obrigada por esta relação de amizade tão especial que carregarei para sempre comigo.

À querida amiga **Isabel Cristina de Araújo** "Super Bel", por todos os momentos que compartilhamos. Pela sua fiel amizade e carinho. Admiro a sua maneira ímpar de ser, você estará sempre no meu coração!

À querida amiga **Simone Utaka** "Takinha", pela luz que transmite, resultando em uma amizade tão pura e verdadeira. Obrigada por todos os momentos que dividimos e pelo carinho de sempre.

À querida amiga **Patrícia Ferreira do Prado Moreira** "Patytó", pela alegria e energia, sua marca registrada em sua passagem aqui na Casinha. Você merece todas as coisas boas da vida. Obrigada por ter surgido em nossas vidas!

Às queridas amigas **Marta Duenhas, Alessandra Baxmann e Fernanda Russo**, pelos momentos compartilhados e pela amizade preservada.

À querida **Giselli Matsumoto**, minha fiel amiga, agradeço por ter sido uma família ao longo de todos estes anos.

Aos queridos amigos **Miyuki e Marcio** e à **família Hamaguchi**, agradeço por todo o apoio durante esta longa trajetória.

Aos queridos **Tios Mamoru, Tomo, Harumi e Yumi**, pelo carinho e atenção, e pelo colo sempre disponível.

Aos queridos amigos e padrinhos **Paulo e Célia Pucci, Celso e Leonor Murgolo**, pelo carinho de sempre e pela certeza de que poderei sempre contar.

Aos queridos amigos aventureiros **Janinho, Véio, Hiro, Edno e Isabel**, pelos grandes momentos de alegria e, sobretudo, pela amizade verdadeira e pelo apoio e incentivo sempre presentes.

Às minhas queridas amigas **Andrea Aguilar e Aparecida Hanyuda** que, mesmo distantes, sempre me apoiaram.

Às minhas amigas do Centro Universitário São Camilo, pelos bons momentos que compartilhamos na Faculdade e, principalmente, pela grande e preciosa amizade preservada.

Meus agradecimentos, de forma muito especial, a todos os pacientes da Unidade de Diálise da Fundação Oswaldo Ramos (Unifesp/EPM), dos ambulatórios da uremia e da osteodistrofia renal, com quem muito e sempre aprendemos.

Finalmente, agradeço a todas as pessoas que aqui não pude citar, mas que com palavras e gestos contribuem para a concretização dos meus ideais e a busca de um amanhã cada vez melhor.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	01
2. Objetivos.....	04
3. Revisão da literatura.....	05
3.1. Gasto energético.....	05
3.1.1. Fatores que afetam o gasto energético.....	07
3.1.2. Avaliação do gasto energético.....	10
3.1.3. Gasto energético em pacientes com doença renal crônica	12
3.2. Inflamação na doença renal crônica.....	17
3.2.1. Causas da inflamação na doença renal crônica.....	20
3.2.2. Marcadores inflamatórios.....	21
3.2.3. Produção de citocinas pelas células mononucleares.....	26
4. Referências bibliográficas.....	29
5. Artigo 1 submetido à publicação: <i>"Resting energy expenditure and its determinants in hemodialysis patients"</i>	42
5.1. Confirmação de submissão.....	67
6. Artigo 2 submetido à publicação: <i>"Serum and cellular interleukin-6 in hemodialysis patients: relationship with energy expenditure"</i>	68
6.1. Confirmação de submissão.....	93
7. Conclusão final.....	94
8. Aprovação do estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade.....	95

1. INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) é uma síndrome clínica caracterizada pela perda lenta e progressiva das funções renais. Devido ao seu caráter irreversível, a grande maioria dos pacientes evolui para estágios mais avançados, na qual se faz necessário o emprego de uma terapia substitutiva dos rins, a diálise ou o transplante renal.¹ O número de indivíduos dependentes de diálise vem crescendo progressivamente no mundo. No Brasil, enquanto em 1994 havia cerca de 20 mil pacientes em diálise, em 2004 este número aumentou para 60 mil.² O último censo da Sociedade Brasileira de Nefrologia em 2006 registrou uma prevalência de 383 pacientes/milhão de habitantes, sendo a hemodiálise a modalidade de diálise predominante (90,7%).²

Apesar dos benefícios desta terapêutica que permite prolongar a vida dos pacientes com DRC, as condições impostas pela doença e pelo próprio tratamento dialítico resultam em uma série de alterações sistêmicas, metabólicas e hormonais que podem afetar adversamente a condição nutricional destes pacientes. De fato, a desnutrição energético-protéica é uma condição freqüente e apresenta uma estreita relação com a morbidade e a mortalidade nos pacientes com DRC.³⁻⁵ Desta forma, esforços vêm sendo realizados no sentido de melhor compreender os fatores envolvidos na condição nutricional destes pacientes e contribuir não somente para a redução das taxas de mortalidade, mas também para a melhoria da qualidade de vida destes pacientes.^{6,7}

Diversos fatores como a diminuição do consumo alimentar, distúrbios hormonais e anormalidades no metabolismo de proteínas e de energia podem contribuir para o desenvolvimento da desnutrição nessa população.⁸ Além disso, recentemente a inflamação tem sido destacada como um fator fortemente associado com o estado nutricional desses pacientes. Desta forma, tem sido sugerida a existência de dois tipos de desnutrição em pacientes em diálise.⁹ A do Tipo 1 estaria associada à síndrome urêmica *per se*, sendo caracterizada principalmente por ingestão alimentar reduzida, diminuição modesta dos níveis séricos de albumina, gasto energético não alterado e ausência de comorbidades e de inflamação. Acredita-se que esse tipo de desnutrição pode ser revertido com a melhora da diálise e com suporte nutricional adequado. Já na desnutrição do Tipo 2, postula-se que o aumento da oferta de nutrientes e de energia não seja suficiente para reverter o quadro de desnutrição. Nesse tipo de desnutrição é freqüente a presença de comorbidades associadas, inflamação, aumento do catabolismo protéico e aumento do gasto energético. Entretanto, não se pode excluir também a possibilidade de que muitos pacientes em hemodiálise desenvolvam um tipo misto de desnutrição.⁹ De forma geral, a desnutrição energético-protéica nos pacientes em hemodiálise parece ser decorrente tanto de ingestão alimentar reduzida, quanto do aumento do gasto energético e do catabolismo protéico, que levam a uma condição de balanço energético e nitrogenado negativo.

Recentemente, uma associação entre elevado gasto energético de repouso (GER) e maior mortalidade foi evidenciada nos pacientes com DRC. Wang *et al*, em um estudo prospectivo incluindo 251 pacientes em diálise peritoneal, observaram

que os pacientes do tercil mais elevado de GER (ajustado para a massa magra) apresentavam um risco de morte 4.19 vezes maior em relação aos pacientes do tercil menor de GER.¹⁰ A uremia *per se* e a diálise estão frequentemente associadas com distúrbios como a acidose metabólica, a resistência insulínica, o hiperparatireoidismo secundário e a inflamação que podem aumentar o catabolismo protéico¹¹ e, em parte, contribuir para o aumento do GER. De fato, tem sido demonstrado que pacientes na fase não dialítica com diabetes¹² e pacientes em hemodiálise com hiperparatireoidismo grave¹³ apresentam GER elevado. Destacam-se também os efeitos metabólicos da resposta inflamatória. Recentes dados do nosso grupo têm evidenciado uma associação entre inflamação e aumento do GER nos pacientes na fase não dialítica da DRC. Avesani *et al* avaliaram o efeito da inflamação subclínica sobre o GER de 91 pacientes não diabéticos e mostraram que os pacientes com níveis séricos mais elevados de proteína C-reativa apresentavam um GER significativamente elevado.¹⁴ Um estudo subsequente realizado com 132 pacientes também na fase não dialítica confirmou este achado e, além disso, mostrou que após tratamento da inflamação/infecção em um subgrupo de pacientes a redução nos níveis de proteína C-reativa foi acompanhada de 13% na redução do GER.¹⁵

O GER e seus determinantes nos pacientes submetidos à hemodiálise têm sido pouco estudados. Considerando a elevada prevalência de inflamação nos pacientes em hemodiálise, sua relação com o GER merece ser investigada nesta população.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral:

1. Avaliar a relação entre inflamação e gasto energético de repouso nos pacientes em hemodiálise.

Objetivos específicos:

1. Comparar o gasto energético de repouso de pacientes em hemodiálise com o de indivíduos saudáveis;
2. Investigar os fatores que determinam o gasto energético de repouso nos pacientes em hemodiálise;
3. Avaliar o efeito dos marcadores inflamatórios circulantes e celulares sobre o gasto energético de repouso de pacientes em hemodiálise.

3. REVISÃO DA LITERATURA

O estabelecimento da recomendação de energia para que um indivíduo consiga manter balanço energético neutro e estado nutricional adequado depende da necessidade de energia.¹⁶ Para tal, faz-se necessário o conhecimento do gasto energético deste indivíduo, já que o equilíbrio entre o consumo e o gasto de energia caracteriza o balanço energético do organismo, que pode ser neutro, positivo ou negativo.

3.1. Gasto energético

O gasto energético diário total de um indivíduo inclui 3 grandes componentes: a taxa de metabolismo basal, a atividade física e o efeito térmico do alimento.

A **taxa de metabolismo basal** é o principal contribuinte (60 a 75%) do gasto energético total e corresponde ao dispêndio de energia para a manutenção dos processos corporais vitais como respiração, circulação e outras reações bioquímicas envolvidas na manutenção do metabolismo.¹⁷ A taxa de metabolismo basal é obtida durante as primeiras horas da manhã, com o indivíduo acordado, em jejum de 12 a 14 horas, em posição supina e em um ambiente com temperatura entre 25 e 26°C. Nestas condições, garante-se que os efeitos da atividade física, do alimento e do ambiente tenham mínima influência sobre o metabolismo.¹⁸ A taxa de metabolismo basal é comumente extrapolada para 24 horas, sendo então denominada como

gasto energético basal. A **taxa de metabolismo de repouso** compreende a medida do gasto energético em condições semelhantes às da taxa de metabolismo basal. A principal diferença é que a taxa de metabolismo de repouso inclui a atividade física correspondente ao deslocamento do indivíduo até o local do exame. No entanto, é necessário um período prévio de repouso de 30 minutos para neutralizar os efeitos da atividade física exercida.¹⁹ A taxa de metabolismo de repouso tende a ser 10 a 20% maior do que a taxa de metabolismo basal. Ambas são influenciadas pela idade, gênero, composição corporal e principalmente, pela massa magra, que constitui o seu principal determinante.¹⁷ Quando a taxa de metabolismo de repouso é extrapolada para 24 horas é denominado **gasto energético de repouso (GER).**

O efeito térmico da atividade física representa cerca de 15 a 30% do gasto energético diário e corresponde ao gasto de energia envolvido na contração muscular para a realização de movimentos espontâneos e de exercícios físicos.¹⁹ Devido às diferenças dos níveis de atividade física entre os indivíduos, o efeito térmico relacionado à atividade física pode variar consideravelmente. De fato, Ravussin *et al* observaram em seu estudo uma grande variabilidade no grau de atividade física espontânea, refletindo em uma variação de 100 a 800 kcal/dia no gasto energético.²⁰ A atividade física aumenta o gasto energético não somente durante o exercício, mas também após o seu término. O aumento do gasto energético após o exercício depende de sua intensidade e duração, mas estima-se se prolongar por 15 a 24 horas e ser equivalente a 15% da energia despendida durante o exercício.²¹

O efeito térmico do alimento refere-se ao aumento do gasto energético acima do valor basal, decorrente da energia despendida para os processos de digestão, absorção e metabolismo dos nutrientes ingeridos. O efeito térmico da alimentação representa aproximadamente 10% do gasto total de energia.¹⁹ Após a ingestão de uma refeição, o gasto energético aumenta por 4 a 8 horas, sendo a intensidade e a duração dependentes da quantidade e do tipo de macronutriente ingerido.²² Em média, estima-se que o efeito térmico dos carboidratos varie de 5 a 10%, o da gordura de 0 a 5% e o da proteína de 20 a 30%.¹⁷ O maior efeito térmico da proteína reflete o alto custo metabólico envolvido na sua síntese e degradação.

Outros fatores como variações na temperatura ambiental e altitude também podem influenciar o gasto energético diário, porém em menor magnitude.

3.1.1. Fatores que afetam o gasto energético

Vários fatores alteram o gasto energético e contribuem para que este varie amplamente entre os indivíduos. Os mais importantes compreendem a composição corporal, a idade, o gênero, o estado nutricional, a ação de hormônios tireoidianos, a atividade do sistema nervoso simpático e os fatores genéticos.

Já está bem demonstrado que a composição corporal exerce um efeito importante sobre o metabolismo energético. Em particular, a massa corporal magra, composta por músculos, vísceras, ossos e água, constitui o compartimento corporal com maior atividade metabólica e, por essa razão, é considerada o principal determinante do gasto energético, explicando cerca de 73% do GER²³ e 80% do

gasto energético de total.²⁴ Já a gordura corporal, influencia o gasto energético em menor magnitude que a massa magra.²⁰

Em relação ao efeito da idade sobre o gasto energético, estima-se que há um declínio na taxa de metabolismo basal de 1 a 2% por década mesmo com a manutenção do peso corporal.¹⁷ Vários estudos têm atribuído essa redução do gasto energético à diminuição da massa magra relacionada à idade. Porém, um estudo de Hunter *et al* demonstrou que o GER de idosos era significativamente menor que o de adultos jovens, mesmo após ajustado para massa magra e para a gordura corporal.²⁵ Assim, os autores sugeriram que outros fatores, que não somente a redução da composição corporal, também devem contribuir para a redução do GER em indivíduos com idade mais avançada.

A influência do gênero sobre o GER já está bem estabelecida. Em média, o gasto energético total das mulheres é 16% menor que o dos homens.¹⁷ Essa diferença pode ser atribuída em parte aos diferentes níveis de atividade física entre homens e mulheres, mas principalmente, em razão das variações da quantidade de massa magra.¹⁷ Dionne *et al*, de fato, não observaram diferença no gasto energético de repouso entre homens e mulheres, após o mesmo ter sido ajustado para a massa magra.²⁶

A ação dos hormônios tireoidianos também pode afetar o gasto energético. Já foi demonstrado que os hormônios tireoidianos promovem aumento no consumo de oxigênio, no metabolismo e na produção de calor pelo organismo.²⁷

Recentemente, a descoberta de proteínas desacopladoras com propriedades termogênicas (*Uncoupling protein* – UCP), sugere que os fatores genéticos podem

influenciar o metabolismo energético. As UCPs são um grupo de proteínas mitocondriais que dissipam o gradiente eletroquímico de prótons, utilizado normalmente na síntese de adenosina trifosfato (ATP), para a geração de calor. Acredita-se que esse processo esteja associado com a regulação do gasto de energia.²⁸ Já tem sido demonstrado em modelos animais, o papel da *Uncoupling protein-1* (UCP1) na termogênese no tecido adiposo marrom. Já em humanos, o papel da UCP1 na termogênese parece ter pouca importância, uma vez que a proporção do tecido adiposo marrom é muito pequena. Mais recentemente, outras UCPs como a *Uncoupling protein-2* (UCP2) e a *Uncoupling protein-3* (UCP3) foram descobertas em humanos. A UCP2 é expressa em vários tecidos, incluindo o músculo esquelético e os tecidos do sistema imune, enquanto a UCP3 é encontrada principalmente no músculo esquelético.²⁹ A função exata dessas novas UCPs ainda não está bem estabelecida. Postula-se que elas estejam envolvidas na regulação do metabolismo energético em humanos.^{30,31} Ademais, sugere-se que as UCPs têm uma participação no metabolismo de ácidos graxos, na oxidação de outros substratos e na produção de espécies reativas de oxigênio.³² Alguns estudos observaram que polimorfismos nos genes das UCPs estão associados com alterações no metabolismo energético e com o desenvolvimento da obesidade.²⁹ Em pacientes renais crônicos, Nordfors *et al* evidenciaram uma associação entre um polimorfismo no gene da UCP2 e o aumento da gordura corporal em pacientes em diálise peritoneal.³³ Entretanto, uma análise recente realizada por nosso grupo incluindo 100 pacientes na fase não dialítica e em hemodiálise mostrou que o polimorfismo da UCP2 não exerceu nenhuma influência sobre as mudanças na composição corporal

destes pacientes.³⁴ Além disso, o polimorfismo da UCP2 não mostrou associação com as medidas de GER nestes pacientes.

3.1.2. Avaliação do gasto energético de repouso

Os seguintes métodos encontram-se disponíveis para a avaliação do GER:

a) Equação de Harris e Benedict: A equação de Harris e Benedict, que utiliza as variáveis como gênero, peso, estatura e idade, é a mais utilizada para o cálculo da taxa de metabolismo basal.³⁵ Porém, apesar da vantagem deste método ser de grande praticidade, os estudos mostram que a equação superestima as medidas em indivíduos obesos.³⁶ Além disso, na população em hemodiálise, quando a equação de Harris e Benedict foi comparada ao método da calorimetria indireta para a estimativa do GER, a equação mostrou uma tendência de erro subestimando os valores conforme o aumento das medidas do GER.³⁷

b) Técnica da água duplamente marcada: Este método consiste da utilização de uma água duplamente marcada com ^2H e ^{18}O , que deve ser ingerida e sua taxa de desaparecimento do fluido corporal (água) monitorada por aproximadamente 7 a 21 dias. A diferença entre a taxa de perda dos dois isótopos, corrigida pelo *pool* de água corporal, permite estimar a taxa de produção de dióxido de carbono que, por equações de calorimetria indireta, é convertida ao gasto energético total do indivíduo.³⁸

c) Calorimetria direta: Este método utiliza uma câmara com isolamento térmico para medir diretamente o calor gerado pelo organismo. A calorimetria direta

apresenta alta precisão (1 a 2% de erro), porém é pouco utilizada em virtude de seu alto custo operacional.³⁹

d) Calorimetria indireta: A calorimetria indireta constitui um método mais simples e menos custoso comparada à calorimetria direta. Além disso, devido a confiabilidade de suas medidas, a calorimetria indireta tem sido amplamente utilizada também como referência na avaliação do gasto energético. Desta forma, este método será abordado com maior detalhe na presente revisão.

A determinação do gasto energético pela calorimetria indireta ocorre por meio da medida do consumo de oxigênio (O_2) e da produção de dióxido de carbono (CO_2).³⁹ Este método baseia-se no princípio de que a energia química produzida no organismo pode ser estimada se o volume de O_2 consumido for conhecido, uma vez que grande parte do metabolismo energético do corpo depende de oxigênio.³⁸ Como existe uma proporcionalidade entre o consumo de O_2 e a produção de ATP (1 grama de $O_2 = 3$ moles de ATP) e entre a produção de ATP e a liberação de energia (1 mole de ATP \cong 17,9 kcal), é possível medir de maneira indireta o gasto de energia a partir da aferição do volume de O_2 consumido.³⁸ Os valores de O_2 consumido e CO_2 produzido são incluídos em equações que calculam a taxa de metabolismo. A diferença do valor obtido entre as diversas equações disponíveis é de aproximadamente 3%.³⁸ A equação de Weir é uma das mais utilizadas para estimar a taxa de metabolismo.⁴⁰ Normalmente, utiliza-se a fórmula abreviada que desconsidera a contribuição do nitrogênio urinário para a taxa de metabolismo, uma vez que a mesma é muito pequena:

$$\text{Taxa de metabolismo basal (kcal/min)} = 3,9 [\text{VO}_2 \text{ (L/min)}] + 1,1 [\text{VCO}_2 \text{ (L/min)}]$$
$$\text{Gasto energético basal (kcal/24 h)} = \text{taxa de metabolismo basal} \times 1440 \text{ min}$$

VO₂: volume de oxigênio consumido e VCO₂: volume de dióxido de carbono produzido

A troca gasosa medida pelo calorímetro também permite o cálculo do quociente respiratório (volume de CO₂ ÷ volume de O₂ consumido), o qual possibilita conhecer o substrato ou a mistura de substratos oxidados.³⁸

3.1.3. Gasto energético de pacientes com DRC

O rim é o órgão responsável pela realização de uma série de funções tais como regulação do equilíbrio hidroeletrólítico, do equilíbrio ácido-básico, além da excreção de produtos metabólicos, síntese e secreção de hormônios.⁴¹ As funções de regulação e depuração ocorrem por meio do transporte de substâncias e de solutos ao longo dos túbulos renais que são processos, em parte, dependentes de energia.⁴¹ Além disso, o rim é o órgão com melhor irrigação sanguínea, recebendo aproximadamente 25% do débito cardíaco.⁴² Diferentemente de outros órgãos, o consumo de oxigênio nos rins aumenta em função do aumento de fluxo de sangue renal e da taxa de filtração glomerular. Desta forma, na vigência de uma perda moderada da função renal o fluxo sanguíneo renal e o consumo de oxigênio pelo rim ficam reduzidos.⁴³ Assim, considerando que os rins saudáveis são responsáveis por 7⁴⁴ a 20%¹⁰ do GER é possível supor que a redução da massa renal funcionante seja acompanhada por uma diminuição do GER. Além disso, anormalidades no

metabolismo celular⁴⁵ e no metabolismo do músculo esquelético⁴⁶ decorrentes da insuficiência renal e do acúmulo de toxinas urêmicas, são fatores adicionais que poderiam contribuir para a redução do GER nos pacientes com DRC. De fato, recentes estudos que avaliaram o GER em pacientes clinicamente estáveis na fase não dialítica da DRC, encontraram valores de GER significativamente menores em relação ao de indivíduos saudáveis. O'Sullivan *et al* compararam o GER de 15 pacientes idosos na fase não dialítica da DRC com o GER de 15 indivíduos idosos sem doença renal, emparelhados por idade, gênero, peso e estatura.⁴⁷ Os autores observaram que o GER corrigido pela massa magra foi significativamente menor no grupo de pacientes com DRC (1085 ± 50 kcal/dia *versus* 1280 ± 54 kcal/dia; $P=0,02$). Resultados semelhantes foram observados por Avesani *et al* ao compararem o GER de 45 pacientes com DRC leve à avançada com o GER de 45 indivíduos saudáveis, emparelhados por gênero e idade.⁴⁸ Foi demonstrado que o GER dos pacientes renais crônicos era significativamente menor que o de indivíduos saudáveis (1325 ± 206 kcal/dia *versus* 1448 ± 258 kcal/dia; $P=0,01$; respectivamente), mesmo ajustando o GER pela massa magra.

Por outro lado, uma série de condições secundárias a uremia e ao tratamento dialítico podem contribuir para um aumento do GER nos pacientes em hemodiálise. Condições freqüentes na DRC como a acidose metabólica, a resistência insulínica, o diabetes, o hiperparatireoidismo secundário e a inflamação estão associadas com aumento do catabolismo protéico.¹¹ Assim, considerando que as vias metabólicas utilizadas na vigência do catabolismo protéico apresentam um alto dispêndio de

energia, é razoável supor que o gasto energético destes pacientes pode encontrar-se elevado.

O estudo do gasto energético de pacientes com DRC torna-se relevante frente à prevalência elevada de desnutrição energético-protéica, principalmente entre os pacientes submetidos à hemodiálise. Os poucos estudos que compararam o GER de pacientes em hemodiálise com o de indivíduos saudáveis apresentam resultados divergentes (Tabela 1).

Monteon *et al* há quase 20 anos, mediram o GER por calorimetria indireta durante o repouso, o exercício e o período pós-prandial em 16 pacientes em hemodiálise, em 10 pacientes com DRC na fase não dialítica e em 12 indivíduos saudáveis.⁴⁹ Foi observado que tanto o GER corrigido pela superfície corporal dos pacientes em hemodiálise quanto daqueles na fase não dialítica não diferiram do GER de indivíduos saudáveis nas três situações estudadas. Posteriormente, Schneeweiss *et al* compararam o GER de pacientes com insuficiência renal aguda com septicemia (n=18), com insuficiência renal aguda sem septicemia (n=11), com DRC moderada (n=17), em hemodiálise (n=25) com o GER de indivíduos saudáveis (n=24).⁵⁰ Os autores observaram que somente naqueles pacientes com insuficiência renal aguda com septicemia o GER foi mais elevado que o de indivíduos saudáveis. Após 1 década desde o primeiro estudo de GER incluindo pacientes em hemodiálise, Ikizler *et al* mostraram que durante a hemodiálise e mesmo no período interdialítico o GER dos pacientes, medido pela calorimetria direta, era significativamente maior que o de indivíduos saudáveis (15 to 20% durante a diálise e 7,5% no período interdialítico).⁵¹

Tabela 1. Estudos que compararam o GER de pacientes em hemodiálise com o de indivíduos saudáveis

Autor (ano)	População	GER
Monteon <i>et al</i> (1986) ⁴⁹	Hemodiálise (n=16) Pré-dialítica (n=10) Controle (n=12)	Hemodiálise = Pré-dialítica = Controle
Schneeweiss <i>et al</i> (1990) ⁵⁰	Hemodiálise (n=25) Pré-dialítica (n=17) IRA (n=11) IRA+septicemia (n=18) Controle (n=24)	Hemodiálise = Pré-dialítica = IRA = Controle < IRA+septicemia
Ikizler <i>et al</i> (1996) ⁵¹	Hemodiálise (n=10) Controle (n=10)	Hemodiálise > Controle
Cuppari <i>et al</i> (2004) ¹³	Hemodiálise +HPT grave (n=15) Hemodiálise +HPT leve/moderada (n=15) Controle (n=15)	Hemodiálise+HPT leve/moderada = Controle < HPT grave

IRA: Insuficiência renal aguda; HPT: Hiperparatireoidismo

O papel das comorbidades sobre o GER de pacientes com DRC foi inicialmente investigado por Avesani *et al* que compararam o GER de 24 pacientes com DRC na fase não dialítica portadores de diabetes com o GER de 24 pacientes com DRC não diabéticos, emparelhados por gênero, idade e nível de função renal.¹² Foi demonstrado que o grupo de pacientes diabéticos apresentava um GER

corrigido pela massa magra 12,5% maior que o do grupo controle ($30,3 \pm 4,3$ kcal/kg massa magra/dia *versus* $26,3 \pm 5,4$ kcal/kg massa magra/dia; $P < 0,01$, respectivamente). Com o objetivo de avaliar o papel do hiperparatireoidismo secundário sobre o GER de pacientes em hemodiálise, Cuppari *et al* compararam o GER de 15 pacientes com hiperparatireoidismo grave (paratormônio - PTH: 1457 ± 676 pg/ml) com o de 15 pacientes com hiperparatireoidismo leve a moderado (PTH: $247,1 \pm 196$ pg/ml) e de 15 indivíduos saudáveis, emparelhados por gênero e idade.¹³ Foi demonstrado que pacientes com hiperparatireoidismo grave apresentavam o GER ajustado pela massa magra significativamente maior que o de pacientes com hiperparatireoidismo leve a moderado e do grupo controle ($36,5 \pm 7,8$ kcal/kg massa magra/dia *versus* $30,8 \pm 6,6$ kcal/kg massa magra/dia e $30,0 \pm 7,6$ kcal/kg massa magra/dia; respectivamente). Neste estudo o PTH correlacionou-se positivamente com o GER nos pacientes em hemodiálise ($n=30$; $r=0,56$; $P=0,05$) e a análise de regressão múltipla mostrou que, além da massa magra, o PTH foi um determinante independente do GER. Além disso, de modo mais convincente, foi observado que após a paratireoidectomia ($n=6$) o GER reduziu significativamente (1617 ± 339 kcal/dia para 1226 ± 253 kcal/dia; $P=0,02$).¹³

Dados recentes do nosso grupo têm evidenciado uma relação direta da inflamação com o GER de pacientes ainda na fase não dialítica da DRC. Avesani *et al* avaliaram o efeito da inflamação subclínica sobre o GER de 91 pacientes não diabéticos e sem sinais clínicos de inflamação.¹⁴ Os pacientes foram divididos por tercís de proteína C-reativa (1º tercíl: $\leq 0,14$ mg/dl; 2º tercíl: 0,15 a 0,49 mg/dl; 3º

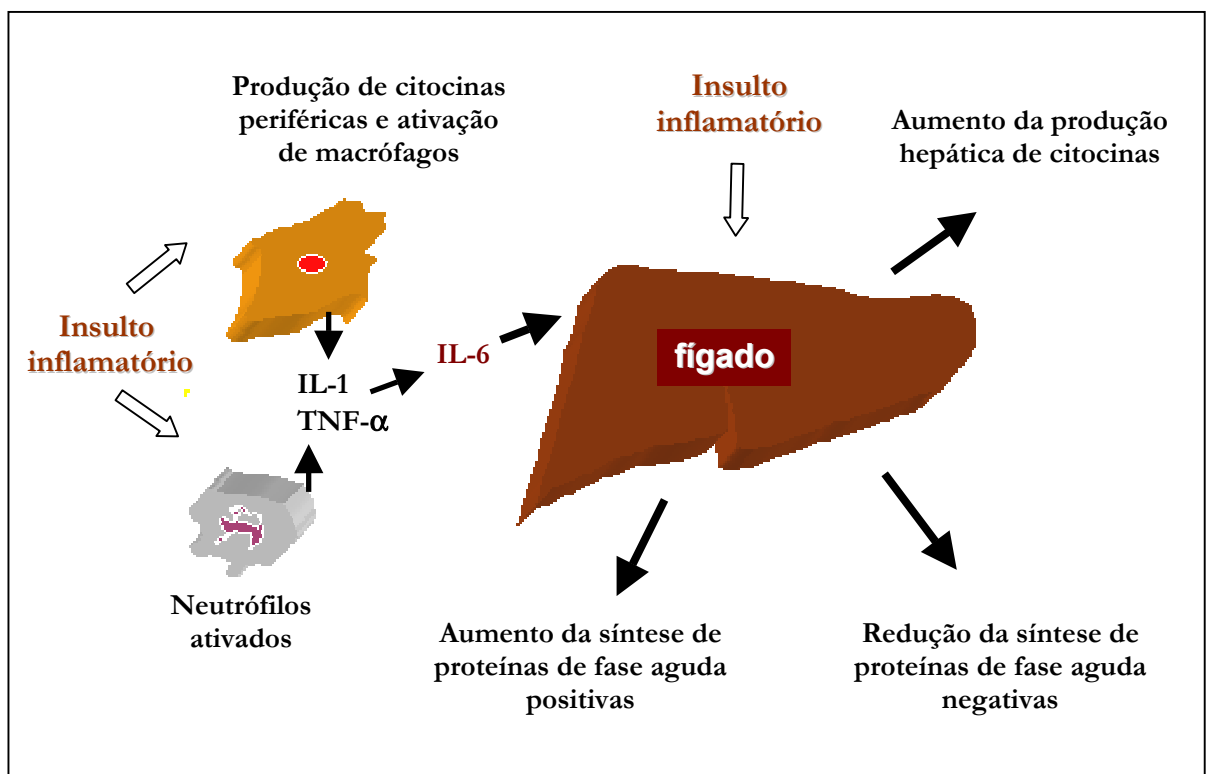
tercil: $\geq 0,50$ mg/dl). Foi observado que o GER dos pacientes do 3º tercil foi significativamente maior que o de pacientes do 1º e 2º tercils (1437 ± 254 kcal/dia *versus* 1272 ± 186 kcal/dia e 1340 ± 211 kcal/dia; $P < 0,05$; respectivamente). Um estudo subsequente realizado com 132 pacientes confirmou tal achado e, além disso, de forma mais conclusiva, mostrou que após tratamento da inflamação/infecção em um subgrupo de pacientes ($n=10$) a redução da PCR foi acompanhada de 13% na redução no GER.¹⁵

3.2. Inflamação na DRC

A inflamação é uma resposta fisiológica do organismo frente a infecções, trauma, injúria tóxica e lesão. O processo inflamatório envolve a ativação da resposta de fase aguda, que é caracterizada pelo aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias. As citocinas e seus receptores são substâncias que agem como mediadoras de vários processos biológicos, principalmente daqueles relacionados ao crescimento e diferenciação celular. Estas proteínas estão envolvidas direta ou indiretamente na fisiopatologia de várias doenças.⁵² As principais citocinas envolvidas no processo de resposta inflamatória são a interleucina 1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), chamados de iniciadores básicos do processo. Estas duas citocinas ativam uma cascata complexa envolvendo mais de 20 outras citocinas, além dos sistemas de coagulação e complemento.⁵³ A interleucina 6 (IL-6) é a citocina produzida em resposta à ação da IL-1 e/ou do TNF- α frente a um insulto inflamatório que, particularmente no fígado, estimula a síntese de algumas proteínas

plasmáticas e inibe a síntese de outras tantas.⁵⁴ Assim, a IL-6 tem sido considerada como principal regulador da resposta inflamatória de fase aguda e atua estimulando a síntese de proteínas denominadas de fase aguda positivas, como proteína C-reativa (PCR), amilóide A sérica, fibrinogênio, α 2-macroglobulina e ferritina. E, por outro lado, a IL-6 inibe a síntese de proteínas denominadas de fase aguda negativas como albumina, pré-albumina, transferrina e lipase lipoprotéica (Figura 1).

Figura 1. Resposta inflamatória de fase aguda

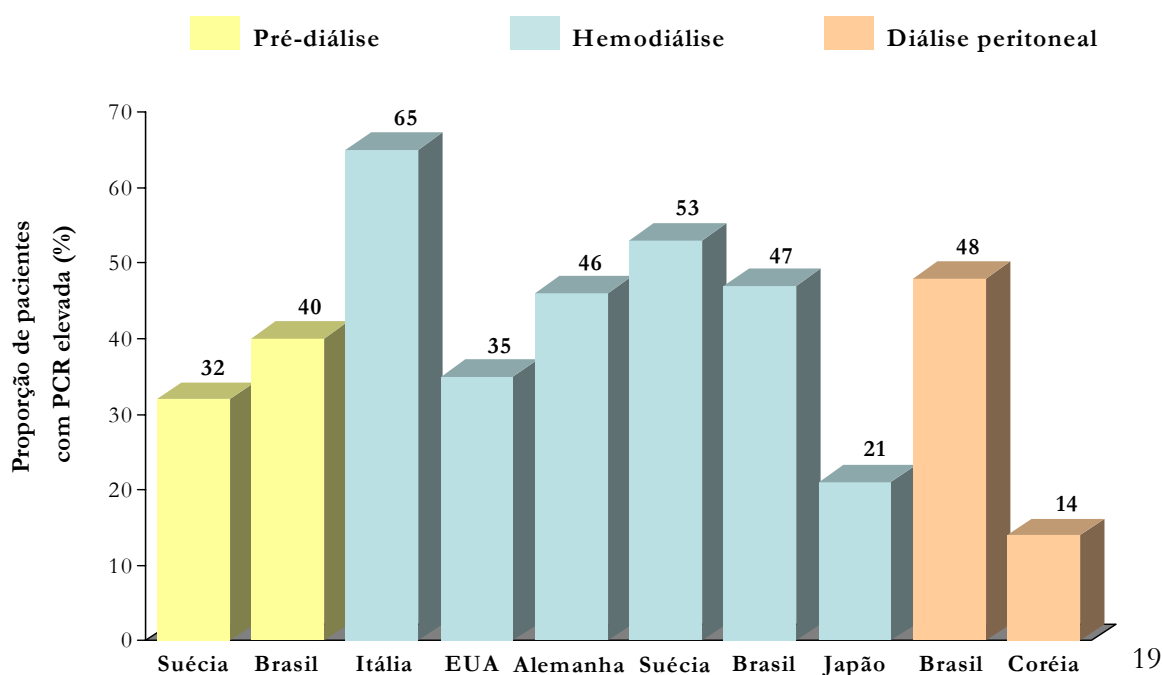


A resposta inflamatória tem o papel de defender o organismo contra os insultos patológicos. No entanto, se a inflamação se tornar prolongada, ela poderá levar a conseqüências adversas como aumento do catabolismo protéico, redução da massa magra e de gordura corporal, danos vasculares e endoteliais e aterosclerose.⁵⁵

Sendo assim, o próprio mecanismo de defesa pode exercer um papel deletério contribuindo não somente para o aumento das complicações cardiovasculares,⁵⁶ consideradas como causa principal de mortalidade nos pacientes com DRC, como também para a piora do estado nutricional⁵⁷ destes pacientes. De fato, Kaizu *et al* observaram uma correlação negativa entre os níveis séricos de PCR e IL-6 e a massa muscular em 188 pacientes em hemodiálise.⁵⁸ Além disso, mais recentemente, um estudo incluindo 454 pacientes em hemodiálise identificou a PCR como um preditor da redução de gordura corporal ocorrida num período de um ano.⁵⁹

Infelizmente, a prevalência de inflamação é elevada na população de renais crônicos. De modo geral, a literatura mostra que elevados níveis de marcadores inflamatórios estão presentes em cerca de 30 a 60% dos pacientes tanto na fase não dialítica como em diálise. A Figura 2 resume os vários estudos que avaliaram a proporção de pacientes com elevados níveis de PCR nos diversos países.⁶⁰⁻⁶⁶ Os pontos de corte utilizados nestes estudos foram PCR > 5, 8 ou 10 mg/l.

Figura 2. Prevalência de inflamação nos pacientes com DRC



3.2.1. *Causas da inflamação na DRC*

As causas da inflamação na DRC não estão completamente elucidadas. Como a inflamação está presente já na fase pré-dialítica, sugere-se que fatores não relacionados à terapia dialítica também possam ser responsáveis pela elevação dos níveis de marcadores inflamatórios nos pacientes com DRC.

a) Fatores não relacionados à diálise: A ativação da resposta inflamatória pode estar relacionada à diminuição da função renal e, portanto, ao estado urêmico *per se*,⁶⁷ ao aumento do estresse oxidativo e dos produtos finais da glicosilação avançada (AGEs)⁶⁸ e às comorbidades associadas como doenças cardiovasculares e diabetes.^{69,70} A infecção periodontal também pode ser uma causa da resposta de fase aguda.⁷¹

b) Fatores relacionados à diálise: A inflamação pode estar relacionada ao procedimento dialítico, no qual o uso de membranas não totalmente biocompatíveis, a água da diálise e do dialisato não estéreis, a infecção do acesso vascular, a hipervolemia, e a presença de endotoxinas circulantes estimulariam a resposta inflamatória.⁶⁸

Dessa forma, os pacientes com DRC, tanto na fase não dialítica quanto em diálise, são suscetíveis ao desenvolvimento de um estado inflamatório.

3.2.2. Marcadores inflamatórios

As proteínas plasmáticas que se elevam em uma resposta inflamatória de fase aguda, as citocinas pró-inflamatória responsáveis pela indução desta resposta inflamatória e as proteínas derivadas do tecido adiposo que estão associadas com a inflamação encontram-se resumidas na Tabela 2.

Tabela 2. Proteínas envolvidas na resposta inflamatória

Proteínas plasmáticas	Citocinas pró-inflamatórias	Adipocitocinas
Proteína C-reativa	TNF- α	Leptina
Fibrinogênio	IL-1	Adiponectina
Amilóide A-sérica	IL-6	TNF- α
Ferritina		IL-1
α 2-macroglobulina		IL-6

TNF- α : Fator de necrose tumoral; IL-1: Interleucina-1; IL-6: Interleucina-6

Embora existam vários marcadores capazes de identificar o estado inflamatório, a PCR tem sido o mais sensível e mais frequentemente utilizado na prática clínica e de pesquisa.⁷¹ Além disso, a PCR é um marcador recomendado pela CDC/AHA (*Centers for Disease Control and Prevention/American Heart Association*) para prever desfechos clínicos.^{72,73} Em indivíduos saudáveis a PCR é encontrada em valores bastante reduzidos, uma mediana de 0,10 mg/dl.⁵⁶ Valores acima de 0,11 mg/dl estão associados com riscos cardiovasculares⁷² e valores a partir de 0,6 mg/dl têm sido utilizados como indicativos de estado inflamatório.⁷⁴

A PCR é sintetizada no fígado principalmente sob o controle da IL-6. Após o estímulo, a concentração sérica desta proteína aumenta acima de 0,5 mg/dl em aproximadamente 6 horas e o pico é ao redor de 48 horas. Assim que o estímulo termina, a concentração de PCR diminui rapidamente. Além disso, sabe-se que a meia vida da PCR é de aproximadamente 19 horas⁷⁵ e uma das características da PCR é que seus níveis oscilam consideravelmente ao longo do tempo.⁷⁶ Na ausência de estímulo, a concentração da PCR é estável, podendo ser influenciada pela idade,⁷⁷ gênero,⁷⁸ fumo⁷⁹ e índice de massa corporal.^{77,78} A genética também parece exercer uma influência, sendo responsável por cerca de 35 a 40% das variações da PCR, porém os genes envolvidos na sua regulação ainda são desconhecidos.^{78,80}

Bergstrom *et al*, em 1995, foram os primeiros a demonstrar uma associação dos elevados níveis de PCR com mortalidade nos pacientes em hemodiálise.⁸¹ Desde então, vários estudos, tanto de corte transversal como longitudinais, têm evidenciado a PCR como um forte e independente preditor de mortalidade na população de renais crônicos. Quando Zimmermann *et al* avaliaram o risco de morte em 280 pacientes em hemodiálise de acordo com quartis de níveis de PCR, os autores encontraram que o risco era 4,6 vezes maior naqueles pacientes do último quartil (PCR > 1,58 mg/dl) em comparação ao menor quartil (PCR < 0,33 mg/dl).⁶³ O impacto dos diferentes níveis de PCR sobre os desfechos clínicos necessita de mais estudos. Porém, os efeitos da condição aguda ou crônica de inflamação já vêm sendo investigados. Recentemente, um estudo prospectivo brasileiro avaliou o impacto dos níveis flutuantes de PCR sobre a sobrevivência de 180 pacientes em hemodiálise.⁸² Observou-se que a inflamação persistente, mais que a ocasional, foi

um preditor de morte significativa nos pacientes estudados. Em um estudo relativamente recente, Stenvinkel *et al* avaliaram a influência do gênero na relação inflamação e sobrevida de 663 pacientes com DRC.⁸³ Os autores observaram que os homens inflamados apresentavam uma sobrevida significativamente inferior ao das mulheres com PCR elevada, sugerindo um possível papel protetor dos hormônios femininos sobre as injúrias vasculares exercidas pela PCR.

Além de ser um marcador da resposta inflamatória de fase aguda, a PCR parece ter uma participação importante na defesa do organismo devido a sua capacidade de se ligar a constituintes de microorganismos, células apoptóticas, necróticas e ativar os mecanismos responsáveis pela eliminação dos mesmos.⁷⁵

Recentemente, tem sido demonstrado que o uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina e de estatinas está relacionado a uma diminuição da resposta inflamatória, principalmente por meio da redução dos níveis séricos de PCR.^{84,85}

Níveis elevados de IL-6 no plasma de pacientes com DRC e uma estreita relação desta com riscos cardiovasculares e mortalidade também têm sido consistentemente demonstrados.^{54,86} Conforme já mencionado, a IL-6 é o principal regulador da resposta inflamatória de fase aguda. O seu estímulo pode induzir até mil vezes mais a síntese hepática de PCR e de amilóide A sérica e, em contrapartida, reduzir os níveis circulantes de albumina, prealbumina e transferrina.⁸⁷ Diferentemente da maioria da citocinas, que tem função predominantemente parácrina ou autócrina, a IL-6 é uma citocina endócrina. Ou seja, a sua atuação é distante do local onde foi secretada.⁸⁸ Estudos experimentais envolvendo a

administração de IL-6 consideram esta citocina um potente agente catabólico que atua no sistema nervoso central induzindo a diminuição da ingestão alimentar e o aumento do gasto energético.⁸⁹ Sugere-se, desta forma, que a IL-6 está envolvida na regulação fisiológica do balanço energético e que a diminuição na sua secreção estaria associada com ganho de peso.⁹⁰ Desta forma, a produção de IL-6 parece ser estimulada também em locais como o tecido adiposo no sentido de contribuir para a homeostase energética via ação endócrina no sistema nervoso central.⁸⁸ De fato, os dados disponíveis mostram que cerca de 30% da IL-6 circulante é proveniente do tecido adiposo.⁹¹

Em 1994, o tecido adiposo foi identificado como fonte do hormônio leptina,⁹² dando início a uma nova era de pesquisa enfocando o papel endócrino das células adiposas.⁹³ Mais recentemente, tem sido postulada a participação do tecido adiposo no sistema imune via secreção de citocinas pelos adipócitos. As principais proteínas derivadas no tecido adiposo que sabidamente estão associadas com a inflamação são: TNF- α , IL-6, IL-1, leptina e adiponectina. O verdadeiro papel dos adipócitos frente a secreções dessas substâncias, denominadas como adipocitocinas, tem sido controverso, dada a variedade de tipos de células que compõem o tecido adiposo. As células pré-adipocíticas frequentemente utilizadas nos estudos *in vitro*, diferentemente dos adipócitos maduros, parecem apresentar características funcionais similares a das células do sistema imune. Um estudo mostrou que estas células imaturas são capazes de se converter em macrófagos.⁹³ Além disso, as células de defesa do organismo, os macrófagos, migram para o tecido adiposo, em resposta a um comando ainda desconhecido, tornando-o um local ativo de inflamação.

Estudos de expressão genética revelaram que os macrófagos são responsáveis pela produção do TNF- α , os adipócitos maduros secretam grande parte da leptina, enquanto a expressão genética da IL-6 é encontrada tanto nos macrófagos como nos adipócitos.⁸⁸ Estas modificações inflamatórias do tecido adiposo parecem ocorrer notavelmente na gordura visceral. De fato, a secreção de IL-6 pela gordura visceral parece ser de 2 a 3 vezes superior em relação a gordura subcutânea.⁹⁴ O único estudo que avaliou esta questão na DRC incluiu 197 pacientes na fase pré-dialítica e mostrou que, de fato, a IL-6 correlacionava-se apenas com a gordura do tronco ($r=0,21$; $P < 0.01$).⁹⁵

Dentre as adipocitocinas, a adiponectina particularmente vêm despertando crescente interesse nos estudos de pacientes com DRC com o intuito de compreender a complexa interação dos mecanismos bioquímicos e metabólicos envolvidos com a uremia e o tratamento de diálise. A adiponectina é uma proteína recentemente descoberta e tem sua síntese exclusivamente nos adipócitos. Embora o tecido adiposo pareça ser a sua única fonte, a relação da adiponectina com a gordura corporal total parece ser inversa.⁹⁶ A adiponectina corresponde a aproximadamente 0,01% do total de proteínas do plasma e seus níveis, como ao da leptina, encontram-se de normal a elevados nos pacientes renais crônicos.⁹⁷ Esta proteína aumenta a sensibilidade da ação da insulina, correlaciona-se inversamente com os marcadores inflamatórios e parece exercer um papel protetor de injúrias vasculares e processos ateroscleróticos.⁹⁸ Além da importante propriedade anti-inflamatória e de proteção das doenças cardiovasculares, os estudos sugerem que a

adiponectina pode estar envolvida na regulação do balanço energético e peso corporal.^{98,99}

3.2.3. Produção de citocinas pelas células mononucleares

Tem sido sugerido que níveis de citocinas circulantes no plasma podem não refletir acuradamente a atividade das citocinas *in vivo* nos tecidos, já que sua ação é predominantemente parácrina ou autócrina.¹⁰⁰

Particularmente nos pacientes em hemodiálise, a interação do sangue com a membrana da diálise pode ativar cronicamente as células mononucleares estimulando a secreção das citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 e, principalmente, a IL-6. Por este motivo, a mensuração da produção de IL-6 pelas células mononucleares de sangue periférico (peripheral blood mononuclear cells – PBMCs), associada à análise da expressão do gene dessa citocina, têm sido o mais apropriado e confiável método para avaliar a bioincompatibilidade das membranas de diálise.¹⁰¹

Enquanto alguns autores referem que a produção da IL-6 pelas PBMCs está elevada em todos os estágios da DRC, outros encontram uma produção de IL-6 pelas PBMCs semelhante ao de indivíduos saudáveis. Le Meur *et al* demonstraram que apesar dos níveis elevados de IL-6 no plasma de pacientes em hemodiálise, a produção pelas PBMCs não estava elevada, sugerindo que a secreção desta citocina pelos monócitos não era determinante dos níveis circulantes de IL-6.¹⁰² Ainda, um recente estudo mostrou que a secreção espontânea de IL-6 pelos monócitos estava

elevada nos pacientes em hemodiálise em comparação aos pacientes na fase pré-dialítica e ao grupo controle.¹⁰³ No entanto, após estímulo da célula com lipopolissacáride a secreção das citocinas pró-inflamatórias era significativamente menor em relação aos demais grupos. A produção de citocinas pelos monócitos estimulados esteve inversamente associada ao tempo em diálise. Desta forma, os autores concluíram que a capacidade da produção de citocinas dos pacientes diminuía conforme o tempo sob tratamento hemodialítico.

Em enfermidades não relacionadas à DRC já tem sido demonstrada uma associação positiva entre a produção de citocinas e o aumento do GER. Em um estudo realizado com 23 indivíduos portadores de artrite reumatóide, os investigadores mostraram uma relação direta entre a produção das citocinas TNF- α e IL-1 β pelas PBMCs e o GER, demonstrando que estas citocinas explicavam 20% das variações do gasto energético.¹⁰⁰ Este foi o primeiro experimento indicando uma relação entre o GER e a secreção de citocinas pelas células mononucleares. Um outro estudo realizado no mesmo ano por Falconer *et al*, com pacientes portadores de câncer de pâncreas, comparou um grupo de 12 pacientes não-inflamados com 9 pacientes inflamados (considerando PCR > 1,0 mg/dL).¹⁰⁴ O GER foi significativamente maior no grupo de pacientes inflamados. Neste estudo, o nível de IL-6 circulante no plasma não diferiu entre os grupos e o TNF- α não foi nem ao menos detectado no plasma dos pacientes nos dois grupos. No entanto, os autores demonstraram que a produção de TNF- α e de IL-6 pelas células mononucleares estava significativamente elevada no grupo de pacientes inflamados.

Contudo, a relação entre a produção, tanto espontânea quanto estimulada, de citocinas pelas células mononucleares e o gasto energético nos pacientes com DRC não foi investigada até o momento.

Em resumo, o GER de pacientes com DRC tem sido pouco estudado. Embora controverso, os resultados sugerem que o GER dos pacientes em hemodiálise parece ser igual ou maior que o de indivíduos saudáveis. As diferenças relacionadas aos protocolos de estudo dificultam uma análise comparativa mais conclusiva. Além disso, os fatores relacionados ao GER não estão bem esclarecidos. Os pacientes em hemodiálise estão suscetíveis ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos, nutricionais e de sistema imune que acabam contribuindo para as elevadas taxas de morbidade e mortalidade observada nesta população. Sendo assim, a relação do GER com os marcadores inflamatórios, incluindo proteínas circulantes como a proteína C-reativa, citocinas como a interleucina-6 e as adipocitocinas como a adiponectina, necessita ser investigada nos pacientes em hemodiálise.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Draibe SA. Insuficiência renal crônica. In: Ajzen H, Schor N. Guias de medicina ambulatorial e Hospitalar (Unifesp/Escola Paulista de Medicina). *Nefrologia*. São Paulo: Manole; 2002. p.179-93.
2. Sociedade Brasileira de Nefrologia. Censo SBN 2006. Disponível em: <http://www.sbn.org.br/>
3. Marckmann P. Nutritional status and mortality of patients in regular dialysis therapy. *J Intern Med* 1989; 226:429-32.
4. Kopple JD. Effect of nutrition on morbidity and mortality in maintenance dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1994; 24:1002-9.
5. Araújo IC, Kamimura MA, Draibe SA, *et al.* Nutritional parameters and mortality in incident hemodialysis patients. *J Renal Nutr* 2006; 16:27-35.
6. Kamimura MA, Majchrzak KM, Cuppari L, Pupim L. Protein and energy depletion in chronic hemodialysis patients: clinical applicability of diagnostic tools. *Nutr Clin Pract* 2005; 20:162-75.
7. Pupim L, Cuppari L, Ikizler TA. Nutrition and metabolism in kidney disease. *Semin Nephrol* 2006; 26:134-57.
8. Ikizler TA, Hakim RM. Nutrition in end-stage renal disease. *Kidney Int* 1996; 50:343-57.

-
-
9. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergström J. Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15:953-60.
 10. Wang AY, Sea MM, Tang N, *et al.* Resting energy expenditure and subsequent mortality risk in peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:3134-43.
 11. Mitch WE, Du J, Bailey JL, Price SR. Mechanisms causing muscle proteolysis in uremia: the influence of insulin and cytokines. *Miner Electrolyte Metab* 1999; 25:216-19.
 12. Avesani CM, Cuppari L, Silva AC, *et al.* Resting energy expenditure in pre-dialysis diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16:556-60.
 13. Cuppari L, Carvalho AB, Avesani CM, Kamimura MA, Lobão RRS, Draibe SA. Increased resting energy expenditure in hemodialysis patients with severe hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:2933-9.
 14. Avesani CM, Draibe SA, Kamimura MA, Colugnati FA, Cuppari L. Resting energy expenditure of chronic kidney disease patients: influence of renal function and subclinical inflammation. *Am J Kidney Dis* 2004; 44:1008-16.
 15. Utaka S, Avesani CM, Draibe S, Kamimura MA, Andreoni S, Cuppari L. Inflammation is associated with increased energy expenditure in chronic kidney disease patients. *Am J Clin Nutr* 2005; 82:801-5.
 16. Cuppari L, Avesani CM. Energy requirements in patients with chronic renal failure. *J Renal Nutr* 2004; 14:121-6.

-
-
17. Institute of Medicine / Food and Nutrition Board. *Dietary References Intakes for Energy*. Washington, National Academy Press, 2002. p.1-114.
 18. Boothby WM, Sandiford I. Normal values for standard metabolism. *Am J Physiol* 1929; 90:290-1.
 19. Napoli R, Horton ES. Energy requirements. In: Ziegler EE, Filer Junior LJ. eds. *Present knowledge in nutrition*. 7th ed. Washington D.C: International Life Science Institute Press; 1996. p.1-6.
 20. Ravussin E, Lillioja S, Anderson TE, Christin L, Bogardus C. Determinants of 24-hour energy expenditure in man. *J Clin Invest* 1986; 78:1568-78.
 21. Bahr R, Ingnes I, Vaage O, Sejersted OM, Newsholme EA. Effect of duration of exercise on excess postexercise O₂ consumption. *J Appl Physiol* 1987; 62:485-90.
 22. Poehlman ET, Horton ES. Energy needs: assessment and requirements in humans. In: Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC. *Modern nutrition in health and disease*. 9th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 1999. p.95-104.
 23. Zurlo F, Larson K, Bogardus C, Ravussin E. Skeletal muscle metabolism is a major determinant of resting energy expenditure. *J Clin Invest* 1990; 86:1423-7.
 24. Toubro S, Sorensen TIA, Ronn B, Christensen NJ, Astrup A. Twenty-four-hour energy expenditure: the role of body composition thyroid status, sympathetic activity, and family membership. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:2670-4.
 25. Hunter GR, Weinsier RL, Gower BA, Wetzstein C. Age-related decrease in resting energy expenditure in sedentary white women: effects of regional differences in lean and fat mass. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:333-7.

-
-
26. Dionne I, Després JP, Bouchard C, Tremblay A. Gender difference in the effect of body composition on energy metabolism. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23:312-9.
27. Genuth SM. A glândula tireóide. In: Berne RM, Levy MN. *Fisiologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p. 875-89.
28. Astrup A, Toubro S, Dalgaard LT, Urhammer SA, Sorensen TIA, Pedersen O. Impact of the v/v 55 polymorphism of the uncoupling protein 2 gene on 24-h energy expenditure and substrate oxidation. *Int J Obes* 1999; 23:1030-4.
29. Walder K, Norman RA, Hanson RL, *et al.* Association between uncoupling protein polymorphisms (UCP2-UCP3) and energy metabolism/obesity in Pima Indians. *Hum Molec Genet* 1998; 7:1431-5.
30. Gura T. Uncoupling proteins provide new clue to obesity's causes. *Science* 1998; 280:1369-70.
31. Russell AP, Giacobino JP. Old and new determinants in the regulation of energy expenditure. *J Endocrinol Invest* 2002; 25:862-6.
32. Argyropoulos G, Harper ME. Uncoupling proteins and thermoregulation. *J Appl Physiol* 2002; 92:2187-98.
33. Nordfors L, Heimburger O, Lonnqvist F, *et al.* Fat tissue accumulation during peritoneal dialysis is associated with a polymorphism in uncoupling protein 2. *Kidney Int* 2000; 57:1713-9.

-
-
34. Avesani CM, Kamimura MA, Utaka S, *et al.* Resting energy expenditure and changes in body fat are not associated with the UCP 2 genotype, but are related to inflammation and to modality treatment. A gene-environment interaction phenomenon? *Am J Clin Nutr* 2006. Submitted.
35. Harris JÁ, Benedict FG. *A biometric study of basal metabolism in man*. Washington, DC: Carnigie Institution of Washington; 1919. Publication No.279.
36. Frankenfield DC, Muth ER, Rowe WA. The Harris-Benedict studies of human basal metabolism: history and limitations. *J Am Diet Assoc* 1998; 98:339-45.
37. Kamimura MA, Avesani CM, Draibe SA, Cuppari L. Harris-Benedict equation for predicting resting energy expenditure in hemodialysis patients. *12th International Congress on Nutrition and Metabolism in Renal Disease*, Italy, 2002 (abstr).
38. Schutz Y, Jequier E. Energy needs: assessment and requirements. In: Shils ME, Olson JA, Shike M. *Modern nutrition in health and disease*. 8th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1994. p.101-11.
39. McCardle WD, Katch FI, Katch VL. Medida do consumo energético em humano. In: McCardle WD, Katch FI, Katch VL eds. *Fisiologia do exercício. Energia, nutrição e desempenho humano*. 3rd ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1991. p.94-101.
40. Weir JBV. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J Physiol Lond* 1949; 109:1-9.
41. Stanton BA, Koeppen BM. O rim. In: Berne RM, Levy M, editor. *Fisiologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p.677-708.

-
-
42. Silva P. Renal fuel utilization, energy requirements, and function. *Kidney Int* 1987; 32:9-14.
 43. Kurnik BRC, Weisberg LS, Kurnik PB. Renal and systemic oxygen consumption in patients with normal and abnormal renal function. *J Am Soc Nephrol* 1992; 2:1617-26.
 44. Laquarta I. Energy. In: Mahan LK, Escoot-Stump S, Krause S, eds. *Food, nutrition and diet therapy*. 9th ed, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996. p.17-28.
 45. Om P, Hohenegger M. Energy metabolism in acute uremic rats. *Nephron* 1980; 25:249-53.
 46. Conjard A, Ferrier B, Martin M, Caillette A, Carrier H, Baverel G. Effects of chronic renal failure on enzymes of energy metabolism in individual human muscle fibers. *J Am Soc Nephrol* 1995; 6:68-74.
 47. O'Sullivan AJ, Lawson JA, Chan M, Kelly JJ. Body composition and energy metabolism in chronic renal insufficiency. *Am J Kidney Dis* 2002; 39:369-75.
 48. Avesani CM, Draibe SA, Kamimura MA, Dalboni MA, Colugnati FA, Cuppari L. Decreased resting energy expenditure in non-dialysed chronic kidney disease patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19:3091-7.
 49. Monteon FJ, Laidlaw SA, Shaib JK, Kopple JD. Energy expenditure in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 1986; 30:741-7.
 50. Schneeweiss B, Graninger W, Stockenhuber F, *et al.* Energy metabolism in acute and chronic renal failure. *Am J Clin Nutr* 1990; 52:596-601.
 51. Ikizler TA, Wingard RL, Sun M, Harvell J, Parker RA, Hakim RM. Increased energy expenditure in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7:2646-53.

-
-
52. Noronha IL, Eberlein-Gonska M, Waldherr R. Citocinas e rim. In: Cruz J, Davi Neto E, Burdmann EA, *et al.* *Atualidades em Nefrologia*. 2ª ed. São Paulo: Sarvier; 1992. p.1-20.
53. Bistrain BS. Role of the systemic inflammatory response syndrome in the development of protein-calorie malnutrition in ESRD. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 4:113-7.
54. Pecoits-Filho R, Lindholm B, Axelsson, Stenvinkel P. Update on interleukin-6 and its role in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transpl* 2003; 18:1042-5.
55. Suffredini AF, Fantuzzi G, Badolato R, *et al.* New insights into the biology of the acute phase response. *J Clin Immunol* 1999; 19:203-14.
56. Rao M, Jaber BL, Balakrishnan VS. Inflammatory biomarkers and cardiovascular risk: association or cause and effect? *Semin Dial* 2006; 19:129-35.
57. Kalantar-Zadeh K, Stenvinkel P, Pillon L, Kopple JD. Inflammation and nutrition in renal insufficiency. *Adv Ren Replace Ther* 2003; 10(3):155-69.
58. Kaizu Y, Ohkawa S, Odamaki M, *et al.* Association between inflammatory mediators and muscle mass in long-term hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:295-302.
59. Fujino Y, Ishimura E, Okuno S, *et al.* C-reactive protein is a significant predictor of decrease in fat mass in hemodialysis patients. *Biomed Pharmacother* 2005; 59:264-8.
60. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre F, *et al.* Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 55:1899-911.

-
-
61. Zocalli C, Benedetto FA, Mallamaci F, *et al.* Inflammation is associated with carotid atherosclerosis in dialysis patients. *J Hypertens* 2000; 18:1207-13.
 62. Owen WF, Lowrie EG. C-reactive protein as an outcome predictor for maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998; 54:627-36.
 63. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999; 55:648-58.
 64. Qureshi AR, Alvestrand A, Danielsson A, *et al.* Factors influencing malnutrition in hemodialysis patients. A cross-sectional study. *Kidney Int* 1998; 53:773-82.
 65. Iseki K, Tozawa M, Yoshi S, *et al.* Serum C-reactive (CRP) and risk of death in chronic dialysis patients. *Nephrol Dial Transpl* 1999; 14:1956-60.
 66. Noh H, Lee SW, Kang SW, *et al.* Serum C-reactive protein: a predictor of mortality in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transpl* 1998; 18:387-94.
 67. Pecoits-Filho R, Heimbürger O, Bárány P, Suliman M, Lindholm B, Stenvinkel P. Associations between circulating inflammatory markers and residual renal function in CRF patients. *Am J Kidney Dis* 2003; 41:1212-8.
 68. Kalantar-Zadeh K, Ikizler TA, Block G, Avram MM, Kopple JD. Malnutrition-inflammation complex syndrome in dialysis patients: causes and consequences. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:864-81.
 69. Stenvinkel P, Alvestrand A. Inflammation in end-stage renal disease: sources, consequences, and therapy. *Semin Dial* 2002; 15:329-37.

-
-
70. Stenvinkel P, Yeun J. Role of inflammation on malnutrition and atherosclerosis in chronic renal failure. In: Kopple JD, Massry SG. *Nutritional management of renal disease*. 2 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. p.199-212.
71. McIntyre C, Harper I, Macdougall IC, Raine AEG, Williams A, Baker LRT. Serum C-reactive protein as a marker for infection and inflammation in regular dialysis patients. *Clin Nephrol* 1997; 48:371-4.
72. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, *et al*. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003; 107:499-511.
73. Shishehbor MH, Bhatt DL, Topol EJ. Using C-reactive protein to assess cardiovascular disease risk. *Cleve Clin J Med* 2003; 70:634-40
74. Abliz H, Meinders A. C-reactive protein: history and revival. *Eur J Intern Med*. 2002; 13:412-22
75. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003; 111:1805-12.
76. Kaysen GA, Dubin JA, Muller HG, Rosales LM, Levin NW. The acute-phase response varies with time and predicts serum albumin levels in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000; 58:346-52.
77. Danesh J, Muir J, Wong YK, Ward M, Gallimore JR, Pepys MB. Risk factor for coronary heart disease and acute-phase proteins: a population-based study. *Eur Heart J* 1999; 20:954-59.

-
-
78. Pankow JS, Folsom AR, Cushman M, *et al.* Familial and genetic determinants of systemic markers of inflammation: the NHLBI family heart study. *Atherosclerosis* 2001; 154:681-9.
79. Koenig W, Sund M, Frohlich M, *et al.* C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* 1999; 99:237-42.
80. Brull DJ, Serrano N, Zito F, *et al.* Human CRP gene polymorphism influences CRP levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:2063-9.
81. Bergstrom J, Heimburger O, Lindholm B, Qureshi AR. Elevated serum C-reactive protein is a strong predictor of increased mortality and low serum albumin in hemodialysis patients [abstr]. *J Am Soc Nephrol* 1995; 6:586.
82. Nascimento MM, Pecoits-Filho R, Qureshi AR, *et al.* The prognostic impact of fluctuating levels of C-reactive protein in Brazilian haemodialysis patients: a prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19:2803-9.
83. Stenvinkel P, Wanner C, Metzger T, *et al.* Inflammation and outcome in end-stage renal failure: does female gender constitute a survival advantage? *Kidney Int* 2002; 62:1791-8.
84. Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, McMonagle E, Morrow J, Ikizler TA, Himmelfarb J. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int* 2004; 65:1009-16.

-
-
85. Ridker PM, Rifai N, Lowenthal SP. Rapid reduction in C-reactive protein with cerivastatin among 785 patients with primary hypercholesterolemia. *Circulation* 2001; 103:1191-3.
86. Pecoits-Filho R, Bárany P, Lindholm B, Heimbürger O, Stenvinkel. Interleukin-6 is an independent predictor of mortality in patients starting dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:1684-8.
87. Nijsten MW, De Groot ER, Ten Duis HJ, Klasen H, Hack CE, Aarden LA. Serum levels of interleukin 6 and acute phase responses. *Lancet* 1987; 2:921.
88. Wisse BE. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:2792-800.
89. Plata-Salaman CR Immunoregulators in the nervous system. *Neurosci Biobehav Rev* 1991; 15:185-215.
90. Wallenius V, Wallenius K, Ahren B, *et al.* Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nat Med* 2002; 8:75-9.
91. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, *et al.* Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:4196-200.
92. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425-32.
93. Charriere G, Cousin B, Arnaud E, *et al.* Preadipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity. *J Biol Chem* 2003; 278:9850-5.

-
-
94. Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: Depots difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:847-50.
 95. Axelsson J, Qureshi AR, Suliman ME, *et al.* Truncal fat mass as a contributor to inflammation in end-stage renal disease. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:1222-9.
 96. Diez JJ, Iglesias P, Fernandez-Reyes MJ, *et al.* Serum concentrations of leptin, adiponectin and resistin, and their relationship with cardiovascular disease in patients with end-stage renal disease. *Clin Endocrinol* 2005; 62:242-9.
 97. Zoccali C, Malamaci F, Tripepi G, *et al.* Adiponectin, metabolic risk factors and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:134-41.
 98. Zoccali C, Tripepi G, Cambareri F, *et al.* Adipose tissue cytokines, insulin sensitivity, inflammation, and cardiovascular outcomes in end-stage renal disease patients. *J Renal Nutr* 2005; 15:125-30.
 99. Lee CT, Lee CH, Su Y, Chuang YC, Tsai TL, Chen JB. The relationship between inflammatory markers, leptin and adiponectin in chronic hemodialysis patients. *Artif Organs* 2004; 27:835-41.
 100. Roubenoff R, Roubenoff RA, Cannon JG, *et al.* Rheumatoid cachexia: cytokine-driven hypermetabolism accompanying reduced body cell mass in chronic inflammation. *J Clin Invest* 1994; 93:2379-86.
 101. Memoli B. Cytokine production in hemodialysis. *Blood Purif* 1999; 17:149-58.

-
-
102. Le Meur Y, Lorgeot V, Aldigier JC, Wijdenes, Leroux-Robert C, Praloran V. Whole blood production of monocytic cytokines in haemodialysed patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14:2420-6.
103. Malaponte G, Bevelacqua V, Fatuzzo P, *et al.* IL-1 β , TNF- α and IL-6 release from monocytes in haemodialysis patients in relation to dialytic age. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:1964-70.
104. Falconer JS, Fearon KCH, Plester CE, Ross JA, Carter DC. Cytokines, the acute-phase response, and resting energy expenditure in cachectic patients with pancreatic cancer. *Ann Surg* 1994; 219:325-31.

5. ARTIGO 1: Submetido ao *European Journal of Clinical Nutrition*

Resting energy expenditure and its determinants in hemodialysis patients

Maria Ayako Kamimura¹, Sergio Antônio Draibe², Carla Maria Avesani¹, Maria Eugênia Fernandes Canziani², Fernando Antônio Basile Colugnati¹, Lilian Cuppari^{1,2}

¹Nutrition Program, Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil

²Division of Nephrology, Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil

Guarantor: MA Kamimura and L Cuppari.

Contributors: MAK carried out this study as part of PhD program and was responsible for recruitment of patients, data collection, analysis and interpretation of results, and writing of the manuscript. CMA contributed with the assessment of patients and interpretation of results, and reviewed the manuscript. MEFC and FABC were involved in the study design and data analysis. SAD and LC were the coordinator of the research.

Correspondence: L Cuppari, Federal University of São Paulo, Rua Pedro de Toledo 282, cep 04039-000, São Paulo, Brazil E-mail: lilian@dis.epm.br

Abstract

Objective: Chronic kidney disease (CKD) is associated with several metabolic disturbances that can affect energy metabolism. Since resting energy expenditure (REE) is scarcely investigated in patients on hemodialysis (HD), we aimed to compare the REE of HD patients with that of healthy individuals, and to evaluate the factors affecting REE in HD patients.

Design: Cross-sectional study.

Setting: Dialysis Unit of the Nephrology Division, Federal University of São Paulo, Brazil.

Subjects: The study included 55 patients (28 male, 41.4±12.6 years old) undergoing HD therapy thrice weekly for at least 2 months, and 55 healthy individuals pair-matched for age and gender. Subjects underwent fasting blood tests, as well as nutritional assessment, and the REE was assessed by indirect calorimetry.

Results. REE of HD patients was similar to that of pair-matched controls (1379±272 and 1440±259 kcal/dia, respectively), even when adjusted for lean body mass (P=0.24). REE of HD patients correlated positively with lean body mass (r=0.74; P< 0.001) and BMI (r=0.37; P< 0.01), and negatively with dialysis adequacy (r=-0.46; P< 0.001). No significant univariate correlation was found between REE and age, dialysis vintage, serum creatinine, urea, albumin, bicarbonate, parathyroid hormone (PTH) or high-sensitivity C-reactive protein (CRP). In the multiple linear regression analysis, using REE as dependent variable, the final model showed that

besides the well-recognized determinants of REE such as lean body mass and age, PTH and CRP were the independent determinants of REE in HD patients ($R^2=0.64$).

Conclusions: In this study, HD patients yielded similar REE with that of healthy individuals, even with the positive effect of secondary hyperparathyroidism and inflammation on REE of these patients.

Sponsorship: The study was supported by grants from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) and Oswaldo Ramos Foundation.

Keywords: Hemodialysis, energy metabolism, hyperparathyroidism, inflammation

Running title: Energy expenditure in hemodialysis patients

Introduction

Resting energy expenditure (REE) is the major component of human total energy expenditure accounting for 60 to 75% of variations (Institute of Medicine, 2002). The determination of REE is important for the establishment of energy recommendations and maintenance of nutritional balance of the individuals (Cuppari & Avesani, 2004). Elevated REE has been pointed out as a contributory factor for cachexia in several disease conditions (Riley *et al*, 1991; Falconer *et al*, 1994) and an association with mortality has been suggested (Wang *et al*, 2004). However, little is known about REE and its determinants in chronic kidney disease (CKD) patients undergoing hemodialysis (HD). Actually, few studies have evaluated the REE of dialysis patients. Two decades ago, Monteon *et al* (1986) have first examined the REE of chronic HD patients showing that REE was not different from that of healthy controls. Ten years later, however, a study by Ikizler *et al* (1996) reported a significant increased REE in HD patients (15 to 20% during dialysis session and 7.5% in the interdialytic day, compared with control subjects). Uremia *per se* and the dialysis procedure are associated with some metabolic derangements such as metabolic acidosis, insulin resistance, and inflammation, that augment protein catabolism (Mitch *et al*, 1999) and could in turn contribute to the variations of REE. Accordingly, it has been shown that nondialysis CKD patients with poorly controlled diabetes (Avesani *et al*, 2001) and HD patients with severe hyperparathyroidism (Cuppari *et al*, 2004) have increased REE. Inflammation is a

highly prevalent condition among CKD patients. Cross-sectional studies have shown that 30 to 50% of nondialysis (Ortega *et al*, 2002) and dialysis (Docci *et al*, 1990; McIntyre *et al*, 1997) patients present serologic evidence of an activated inflammatory response with elevated serum concentration of C-reactive protein (CRP). Our group has recently reported increased REE in nondialysis patients with CRP>0.5mg/dl (Avesani *et al*, 2004a). When we extended our investigation into the relationship among infection, inflammation and REE, it was shown that after treatment of infection/inflammation a significant decrease in CRP was accompanied by a 13% reduction of REE (Utaka *et al*, 2005).

If on one hand HD patients are exposed to several catabolic conditions that may directly affect REE, on the other renal failure might be associated with hypometabolic state due to altered cell metabolism (Om & Hohenegger, 1980) and lower oxygen consumption by kidney (Kurnik *et al*, 1992). Thus, considering that the factors affecting REE of HD population are not fully understood, we aimed to compare the REE of HD patients with that of pair-matched healthy individuals, and to evaluate the determinants of REE in these particular patients.

Subjects and methods

Patients

Patients were recruited from the Dialysis Unit of the Federal University of São Paulo – Oswaldo Ramos Foundation (São Paulo, SP, Brazil). Fifty-five haemodialysis (HD) patients (28 men and 27 women) older than 18 years, without altered thyroid function and/or presence of malignance were included in the study protocol. Only two well-controlled diabetic patients were included. Patients were dialyzed four hours thrice weekly for at least 2 months. The majority of the patients were under use of iron saccharate and vitamin complex and none was under use of hormone, corticosteroid or immunosuppressive drugs. The selected patients were gender and age pair-matched (matching limits for age were ± 3 years) with a group of fifty-five healthy individuals. Control subjects, most of them clinic employees, had normal renal and thyroid functions, and none was taking medication.

The study was approved by the University Ethical Advisory Committee and all subjects gave informed consent.

Study design and protocol

In this cross-sectional study, the REE of HD patients was compared to that of control subjects. In the HD group, the indirect calorimetry and blood tests were

carried out on interdialytic day, while nutritional assessment was performed in post dialysis period of the same week. Control group underwent fasting blood tests, as well as nutritional assessment, in the same day of the indirect calorimetry test.

Anthropometry and body composition

Subjects were weighted with light clothes and without shoes on a platform manual scale balance (Filizola[®], São Paulo, Brazil). Body mass index (BMI) was calculated as body weight divided by squared height. Lean body mass and body water were assessed by bioelectrical impedance analysis using a single frequency tetrapolar technique with an electrical current of 800 μ A at 50 kHz (BIA 101 Quantum, RJL Systems, Detroit, USA). The electrodes were placed in the standard positions (two electrodes placed on the hand and wrist and another two positioned on the foot and ankle) in the opposite side of vascular access, with the subject in supine. The software Fluids & Nutrition (version 3.0) provided by the manufacturer was used to estimate the lean body mass and body water.

Skinfold measurement at four standard sites (biceps, triceps, subscapular and suprailiac) was performed for determining body fat, since the method seems to be superior to bioelectrical impedance analysis for the measurement of this compartment (Kamimura *et al*, 2003). Body density was calculated from the sum of the four skinfold measurements according to Durnin & Womersley (1974), and the percentage of body fat was then calculated by Siri's (1961) equation.

Resting energy expenditure (REE)

REE measurements were obtained by indirect calorimetry using an open circuit ventilated computerized metabolic system (Vmax series 29n; SensorMedics Corp; Yorba Linda, CA, USA). The oxygen and carbon dioxide sensors were calibrated before each REE measurement with the use of mixed reference gases of known composition. All subjects were previously instructed to refrain from any unusual physical activity 24-hour period prior to the test and to sleep at the same time as usual in the night before the REE measurement. They were admitted in the clinic at 8:00 a.m. after an overnight fast of 12 hours. After resting for 30 minutes in a recumbent position, subjects breathed for 30 minutes through a clear plastic canopy over their heads in a quiet dimly lit thermo neutral room. They were instructed to avoid hyperventilation, fidgeting or falling asleep during the test. Oxygen consumption and carbon dioxide production were measured at 1-minute intervals and the mean of the last 20 minutes were used to calculate the REE according to the Weir's equation without using urinary urea nitrogen (Weir, 1949).

Laboratory data

In the HD group, serum creatinine and urea were obtained from the monthly routine exam. Blood samples for glucose, bicarbonate, thyroid stimulating hormone (TSH), serum albumin, intact parathyroid hormone (PTH), high-sensitivity C-reactive protein (CRP) were drawn just before the indirect calorimetry test. The

control group had serum determination of creatinine, glucose, TSH and CRP also before the indirect calorimetry test.

Serum creatinine, urea and glucose were determined using a standard autoanalyser. Bicarbonate was measured by an automated potentiometer (normal range: 23-27 mmol/l). TSH by immunofluorometric assay (normal range: 0.3-4.0 μ IU/ml), and serum albumin by green bromcresol method (normal range: 2.5 - 4.0 g/dl). Intact PTH and high-sensitivity CRP (inflammatory state: \geq 0.50 mg/dl) were determined by immunochemiluminescence. Dialysis adequacy was assessed by Kt/V as recommended by the National Kidney Foundation guideline (2001).

Statistical analysis

Data are expressed as mean \pm standard deviation. Variables that did not present normal distribution were log transformed (natural base) and their values are presented in terms of geometric means with limit values. For comparisons between the HD group and the Control group, the 2-tailed paired student-*t* test and chi-square test were used, as appropriate. Pearson's correlation coefficient was used to observe which variables presented linear correlation with the REE and multiple linear regression analysis was applied to evaluate the determinants of REE. The use of ratios for adjusting REE for lean body mass may create errors and differences between the two groups may be found when there is no actual difference (Ravussin & Bogardus, 1989). Thus, in order to compare REE measurements between the two groups independently to the differences in lean body mass REE was adjusted for

lean body mass using multiple linear regression analysis with robust estimation for the error structure due to the matching design of the study (Kleinbaum et al, 1998). Differences with $P < 0.05$ were considered statistically significant. The statistical analyses were conducted using the True Epistat software (Texas, USA, 1995) and Stata Corp software, release 7.0 (Texas, USA, 2001).

Results

Demographic, clinical and laboratory characteristics of the subjects are provided in Table 1. The age of patients ranged from 19 to 75 years, and the vintage on dialysis therapy ranged from 2 months to 13 years. Patients were receiving adequate dialysis dose according to the Kt/V. All subjects had normal thyroid function. The main etiology of CKD was hypertensive nephrosclerosis (35%), followed by undetermined causes (31%), chronic glomerulonephritis (11%), interstitial nephritis (7%) and others (16%). As expected, HD patients exhibited higher levels of CRP in comparison to control subjects. Increased CRP levels (defined as CRP \geq 0.5 mg/dl) were found in 43.6% of the patients. On the other hand, patients had lower BMI, body fat and lean body mass. REE adjusted for lean body mass did not differ between HD patients and healthy individuals (Figure 1).

In the HD group, REE correlated positively with lean body mass ($r=0.74$; $P < 0.001$) and BMI ($r=0.37$; $P < 0.01$), and negatively with Kt/V ($r=-0.46$; $P < 0.001$). No significant correlation was found between REE and age, dialysis vintage, serum creatinine, urea, albumin, bicarbonate, PTH or CRP. As expected, a negative correlation was found between CRP and albumin ($r=-0.36$; $P < 0.01$). A direct association of CRP with age was observed ($r=0.36$; $P < 0.01$), however, no correlation was found between CRP and other laboratory or nutritional parameters. In the multiple linear regression analysis using REE as dependent variable, the final model showed that age, lean body mass, CRP, and PTH were the independent determinants of REE in HD group (Table 2).

Table 1. Demographic, clinical and nutritional characteristics of the subjects

	HD group (n=55)	Control group (n=55)	P
Gender (Male/Female)	28/27	28/27	
Age (years)	41.4 ±12.6	41.5 ±12.5	0.80
Length of dialysis (months)	34.5 ±33.6	---	
Kt/V	1.36 ±0.2	---	
Serum creatinine (mg/dl)	10.9 ±3.2	0.9 ±0.2	< 0.001
Blood urea nitrogen (mg/dl)	72.9 ±15.8	---	
Serum glucose (mg/dl)	92 ±79	82.6±16.3	0.37
PTH (pg/ml) *	166.3 (1-2154)	---	
TSH (μIU/ml)	2.1 ±2.2	1.56 ±0.92	0.21
Serum bicarbonate (mmol/l)	23.0 ±4.25	---	
Serum albumin (g/dl)	4.1 ±0.5	---	
C-reactive protein (mg/dl) *	0.45 (0.01-15)	0.11 (0.02-2.48)	< 0.001
Body mass index (kg/m ²)	22.5 ±2.5	25.1 ±3.8	< 0.001
Body fat (kg)	14.1 ±5.4	19.4 ±6.3	< 0.001
Body water (%)	54.1 ±4.9	52.9 ±5.8	0.12
Lean body mass (kg)	44.9 ±9.7	50.1 ±10.7	< 0.001
REE (kcal/d)	1379 ±272	1440 ±259	0.11

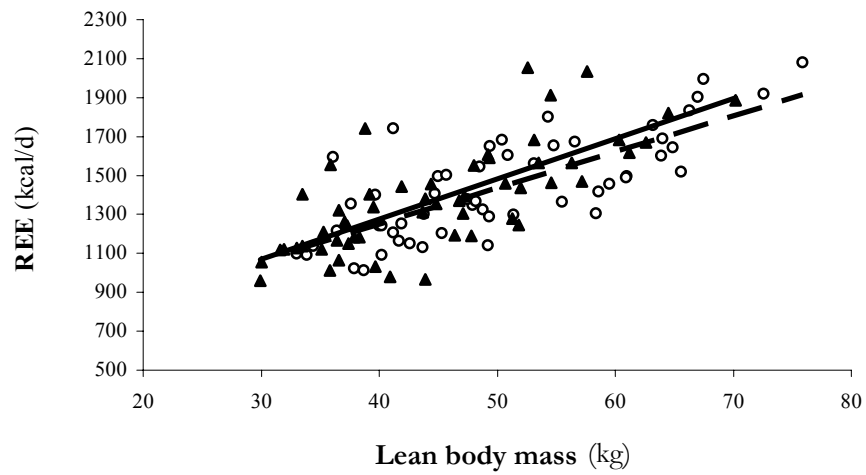
Values given as mean and ± standard deviation

* Geometric mean and ranges

Table 2. Multiple linear regression analysis using REE as dependent variable in HD group
($R^2=0.64$)

	Coefficient (kcal)	P	95% CI
Age	-5.7	< 0.01	-9.35 to -2.04
Lean body mass	20.6	< 0.0001	16 to 25.2
CRP	23.6	< 0.01	6.4 to 39.7
PTH	0.13	0.02	0.03 to 0.23
Constant	613.5		

Figure 1. Resting energy expenditure (REE) adjusted for lean body mass in HD group (▲ —) and control group (○ - -). Coefficient -40.8 (P=0.24), CI -109.7 to 28 kcal



Discussion

This study showed that REE of HD patients was comparable to that of age and gender-matched healthy controls. This finding is in accordance with some investigators (Monteon *et al*, 1986; Schneeweiss *et al*, 1990), but differs from others that found increased REE in HD patients (Ikizler *et al*, 1996). The exact factors affecting REE of CKD patients are not fully understood, but several mechanisms involving HD patients may be inducing either increase or reduction of REE.

Kidneys have important metabolic functions and perform a number of oxygen-dependent activities (Silva, 1987). In healthy individuals, the kidneys account for up to 20% of the REE (Wang *et al*, 2004). Hence, renal failure might be associated with decrease in energy metabolism. In fact, Kurnik *et al* (1992) have demonstrated that patients with moderate loss of renal function have lower renal blood flow and lower renal oxygen consumption per kidney than healthy individuals. Moreover, the profound abnormalities in cell metabolism that occur in renal failure (Om *et al*, 1980) and the impaired energy metabolism of skeletal muscle caused by circulating uremic toxins (Conjard *et al*, 1995) may be additional factors contributing to reduce REE in renal failure patients. Accordingly, studies with CKD patients not yet on dialysis have recently demonstrated lower REE than healthy pair-matched controls (O'Sullivan *et al*, 2002; Avesani *et al*, 2004b). In HD patients evaluated in a nondialysis day, a recent study showed that protein breakdown and oxidation was considerably reduced compared with control subjects, suggesting lower metabolic

activity in this patient group (Veeneman *et al*, 2004). However, REE was not assessed in that study.

In contrast to the possibilities described above, the comorbid conditions commonly present in CKD are important contributors for elevating REE in HD patients. The multiple regression analysis showed that besides the well-known determinants of REE such as lean body mass and age, CRP and PTH were also independent determinants of REE in HD patients. Inflammation is frequent among CKD patients and is a powerful predictor of mortality in dialysis patients (Zimmerman *et al*, 1999). It has been suggested that low clearance of CRP and cytokines, uremia itself, hypervolemia, and the presence of comorbidities are possible causes for inducing the acute-phase reaction in dialysis patients (Stenvinkel & Yeun, 2004). We found that 43.6% of the patients (n=24) had CRP levels of 0.5mg/dl or greater, a value considered indicative of an inflammatory condition. A direct association between inflammatory state and REE has been reported in other disease conditions such as rheumatoid arthritis (Roubenoff *et al*, 1994), acquired immune deficiency syndrome (Garcia-Lorda *et al*, 2000), sepsis (Chioléro *et al*, 1997) and pancreatic cancer (Falconer *et al*, 1994). Recently, our group also demonstrated such relationship in CKD patients not yet on dialysis (Avesani *et al*, 2004a; Utaka *et al*, 2005). To the best of our knowledge, this is the first study that evaluated the association of REE and inflammation in patients undergoing HD therapy. The exact mechanisms involving inflammation and REE cannot be fully identified, but it seems reasonable to speculate that protein catabolism caused by inflammation might be implicated in the increase of REE. In fact, our HD patients exhibited elevated

CRP and reduced lean body mass when compared to pair-matched healthy controls. Actually, the association of elevated inflammatory markers and reduced muscle mass measured by computed tomography has been observed in HD patients (Kaizu *et al*, 2003). We failed to show such correlation in our study. However, the low sensitive method used for assessing lean body mass and the cross-sectional design of this study could be implicated in the lack of association between CRP and muscle mass. Another potential catabolic factor, related or not to the inflammatory process, is the HD procedure *per se*. A recent study showed that rates of both whole body and, more intensively, muscle proteolysis were significantly increased during HD (Ikizler *et al*, 2002). In the same study, the authors found a significant increase in energy expenditure during the dialysis session and in the subsequent 2 hours when compared to basal (7% and 12%, respectively), suggesting that because protein synthesis and breakdown are processes that require energy, part of this energy increase may be due to the increased protein turnover. The fact this catabolic event is less exacerbated in a nondialysis day (Veeneman *et al*, 2004) could explain the finding of non-increased REE found in the current study, in which REE was obtained in an interdialytic period.

High PTH levels have been demonstrated to be associated with reduced lean body mass and increased REE in chronic HD patients (Cuppari *et al*, 2004). In this recent study, patients with severe hyperparathyroidism (defined as $PTH \geq 700\text{pg/ml}$) showed markedly increased REE when compared to patients with lower values of PTH and healthy controls pair-matched for age and gender. Additionally, after parathyroidectomy REE decreased significantly (23.1%). PTH excess has been

pointed as exerting toxic effects on various organs and body systems. Besides bone, several lines of evidence indicate that skeletal muscle is also a target organ for PTH. It has been documented that excessive PTH affects the bioenergetics of skeletal muscle, impairing energy production, transfer and utilization (Baczynski *et al*, 1985). In addition, the hormone may enhance muscle proteolysis and increase the release of alanine and glutamine *in vitro* (Garber, 1983). If we consider that protein catabolism by circulating PTH may contribute to elevate REE in these patients, then an association of PTH with muscle parameter would be expected. However, in our patients no correlation of PTH with lean body mass was found. The lack of association between them could be in part explained by the predominance of patients with lower PTH observed in our sample, 27 patients (49%) had PTH < 200pg/ml, and other 19 (34.5%) had mild to moderate levels of PTH (defined as PTH 200-700pg/ml), and only 9 patients had excessive PTH. Finally, although PTH and CRP were determinants of REE in the current study, it is possible that their levels were not sufficient to determine REE higher than those of controls.

In conclusion, HD patients yielded similar REE with that of healthy pair-matched controls. Moreover, we demonstrated that besides the well-recognized determinants of REE such as lean body mass and age, frequent condition in CKD such as secondary hyperparathyroidism and inflammation were positively associated with REE. Since HD patients present concomitant factors, particular to the disease and the dialysis procedure, that contribute to both reduction and elevation of REE, further studies are necessary to evaluate the hypometabolic and hypermetabolic conditions involving patients on HD therapy.

Acknowledgements. This study is dedicated to the memory of Nelma Scheyla José dos Santos who believed in this work. This study was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) and Oswaldo Ramos Foundation.

References

Avesani CM, Cuppari L, Silva AC, Sigulem DM, Cendoroglo M, Cesso R & Draibe SA (2001): Resting energy expenditure in pre-dialysis diabetic patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* **16**, 556-560.

Avesani CM, Draibe SA, Kamimura MA, Colugnati FAB & Cuppari L (2004a): Resting energy expenditure of chronic kidney disease patients: influence of renal function and subclinical inflammation. *Am. J. Kidney Dis.* **44**, 1008-1016.

Avesani CM, Draibe SA, Kamimura MA, Dalboni MA, Colugnati FA, Cuppari L (2004b). Decreased resting energy expenditure in non-dialyzed chronic kidney disease patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* **19**, 3091-3097.

Baczynski R, Massry SG, Magott M, El-Belbessi S, Kohan R & Brautbar N (1985): Effect of parathyroid hormone on energy metabolism of skeletal muscle. *Kidney Int.* **28**, 722-727.

Chioléro R, Revelly JP & Tappy L (1997): Energy metabolism in sepsis and injury. *Nutrition* **13**, 45-51.

Conjard A, Ferrier B, Martin M, Caillette A, Carrier H & Baverel G (1995): Effects of chronic renal failure on enzymes of energy metabolism in individual human muscle fibers. *J. Am. Soc. Nephrol.* **6**, 68-74.

Cuppari L & Avesani CM (2004). Energy requirements in patients with chronic kidney disease. *J. Renal Nutr.* **14**, 121-126.

Cuppari L, Carvalho AB, Avesani C, Kamimura MA, Lobão RRS & Draibe SA (2004): Increased resting energy expenditure in hemodialysis patients with severe secondary hiperparathyroidism. *J. Am. Soc. Nephrol.* **15**, 2933-2939.

Docci D, Bilancioni R, Buscaroli A, Baldrati L, Capponcini C, Mengozzi S, Turci F & Feletti C (1990): Elevated serum levels of C-reactive protein in hemodialysis patients. *Nephron* **56**, 364-367.

Durnin JVGA & Womersley J (1974): Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged 16 to 72 years. *Br. J. Nutr.* **32**, 77-97.

Falconer JE, Fearon KCH, Plester CE, Ross JA & Carter DC (1994): Cytokines, the acute-phase response, and resting energy expenditure in cachectic patients with pancreatic cancer. *Ann. Surg.* **219**, 325-331.

Garber AJ (1983): Effect of parathyroid on skeletal muscle protein and aminoacid metabolism in the rat. *J. Clin. Invest.* **71**, 1806-1821.

Garcia-Lorda P, Serrano P, Jiménez-Exposito J, Fraile J, Bullo M, Alonso C, Bonada A, Viciano P, Luna PP & Salas-Salvado J (2000): Cytokine-driven inflammatory response is associated with the hypermetabolism of AIDS patients with opportunistic infections. *J. Parent. Enteral Nutr.* **24**, 317-322.

Ikizler TA, Pupim LB, Brouillette JR, Levenhagen DK, Farmer K, Hakim RM & Flakoll P (2002): Hemodialysis stimulates muscle and whole body protein loss and alters substrate oxidation. *Am. J. Endocrinol. Metab.* **282**, 107-116.

Ikizler TA, Wingard RL, Sun M, Harvell J, Parker RA & Hakim RM (1996): Increased energy expenditure in hemodialysis patients. *J. Am. Soc. Nephrol.* **7**, 2646-2656.

Institute of Medicine/Food and Nutrition Board (2002). Dietary Reference Intakes for Energy. Washington: National Academy Press.

Kaizu Y, Ohkawa S, Odamaki M, Ikegaya N, Hibi I, Miyaji K & Kumagai H (2003): Association between inflammatory mediators and muscle mass in long-term hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* **42**, 295-302.

Kamimura MA, Avesani CM, Cendoroglo M, Canziani, MEF, Draibe SA & Cuppari L (2003): Comparison of skinfold thicknesses and bioelectrical impedance analysis with dual-energy X-ray absorptiometry for the assessment of body fat in patients on long-term haemodialysis therapy. *Nephrol. Dial. Transplant.* **18**, 101-105.

Kurnik BRC, Weisberg LS & Kurnik PB (1992): Renal and systemic oxygen consumption in patients with normal and abnormal renal function. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2**, 1617-1626.

McIntyre C, Harper I, Macdougall IC, Raine AE, Williams A & Baker LR (1997): Serum C-reactive protein as a marker for infection and inflammation in regular dialysis patients. *Clin. Nephrol.* **48**, 371-374.

Mitch WE, Du J, Bailey JL & Price SR (1999): Mechanisms causing muscle proteolysis in uremia: the influence of insulin and cytokines. *Miner. Electrolyte Metab.* **25**, 216-219.

Monteon FJ, Laidlaw ST, Shaib JK & Kopple JD (1986): Energy expenditure in patients with chronic renal failure. *Kidney Int.* **30**, 741-747.

National Kidney Foundation (2001): DOQI – Kidney Disease Outcome Quality Initiative, Clinical practice guidelines. *Am. J. Kidney Dis.* **37** (Suppl 1), S27-S33.

O’Sullivan AJ, Lawson JA, Chan M & Kelly JJ (2002): Body composition and energy metabolism in chronic renal insufficiency. *Am. J. Kidney Dis.* **39**, 369-375.

Om P & Hohenegger M (1980): Energy metabolism in acute uremic rats. *Nephron* **25**, 249-253.

Ortega O, Rodrigues I, Gallar P, Carreno A, Ortiz M, Espejo B, Jimenez J, Gutierrez M, Olier A & Vigil A (2002): Significance of high C-reactive protein levels in pre-dialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* **17**, 1105-1109.

Ravussin E & Bogardus C (1989): Relationship of genetics, age, and physical fitness to daily energy expenditure and fuel utilization. *Am. J. Clin. Nutr.* **49**, 968-975.

Riley M, Elborn JS, McKane WR, Bell N, Stanford CF & Nicholls DP (1991): Resting energy expenditure in chronic cardiac failure. *Clin. Sci.* **80**, 633-639.

Roubenoff R, Roubenoff RA, Cannon JG, Kehayias JJ, Zhuang H, Dawson-Hughes B, Dinarello CA & Rosenberg IH (1994): Rheumatoid cachexia: cytokine-driven hypermetabolism accompanying reduced body cell mass in chronic inflammation. *J. Clin. Invest.* **93**, 2379-2386.

Schneeweiss B, Wolfgang G, Stockenhuber F, Druml W, Ferenci P, Eichinger S, Grimm G, Laggner AN & Lenz K (1990): Energy metabolism in acute and chronic renal failure. *Am. J. Clin. Nutr.* **52**, 596-601.

Silva P (1987): Renal fuel utilization, energy requirements, and function. *Kidney Int.* **32** (Suppl 22), S9-S14.

Siri WE (1961): Body composition from fluid spaces and density: analysis of methods. In Brozek J, Henschel A, ed. *Techniques for Measuring Body Composition*. pp 223-244. Washington: National Research Council.

Stenvinkel P & Yeun JY (2004): Role of inflammation in malnutrition and atherosclerosis in chronic renal failure. In Kopple JD & Massry SG, 2nd ed Lippincott Williams & Wilkins, pp 199-212.

Utaka S, Avesani CM, Draibe S, Kamimura MA, Andreoni S & Cuppari L (2005): Inflammation is associated with increased energy expenditure in chronic kidney disease patients. *Am. J. Clin. Nutr.* **82**, 801-805.

Veeneman JM, Kingma HA, Boer TS, Stellaard F, Jong PE, Reijngoud DJ & Huisman R (2004): The metabolic response to ingested protein is normal in long-term hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* **43**, 330-341.

Wang AY, Sea MM, Tang N, Sanderson JE, Li PKT & Woo J (2004): Resting energy expenditure and subsequent mortality risk in peritoneal dialysis patients. *J. Am. Soc. Nephrol.* **15**, 3134-3143.

Weir JBV (1949): New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J. Physiol. Lond.* **109**, 1-9.

Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T & Wanner C (1999): Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int.* **55**, 1956-1960.

5.1. CONFIRMAÇÃO DE SUBMISSÃO DO ARTIGO 1

----- Original Message -----

From: <ejcn@nature.com>

To: <lilian@dis.epm.br>

Sent: Tuesday, January 10, 2006 8:48 AM

Subject: 2006EJCN0010 Receipt of New Paper by European Journal of Clinical Nutrition

10th Jan 2006

Dear Prof. Cuppari,

Title: Resting energy expenditure and its determinants in hemodialysis patients

Corresponding Author: Prof. Cuppari

Thank you for submitting the above manuscript for consideration in the European Journal of Clinical Nutrition. The manuscript number we have assigned to you is 2006EJCN0010. It is important that you keep this number, as this will be your reference should you need to contact us.

You have approved the converted files and your paper will await potential reviewer assignment. We should have a decision for you in the next ten-twelve weeks.

If you require an update on the progress of your manuscript, please click on the link below. Alternatively, please contact James Ashton, Nature Publishing Group (ejcn@nature.com).

<http://mts-ejcn.nature.com/cgi-bin/main.plex?el=A2BJ1wf1A6BIN6J2A9lzfHQn0H4ah3sOqLZu7AZ>>

Yours sincerely,

Jaap C Seidell
Editor, EJCN
Nature Publishing Group
The Macmillan Building
4 Crinan Street London N1 9XWUK
Email: ejcn@nature.com

EJCN - This email has been sent through the NPG Manuscript Tracking System NY-610A-NPG&MTS

6. ARTIGO 2: Submetido ao *American Journal of Kidney Diseases*

Serum and cellular interleukin-6 in hemodialysis patients: relationship with energy expenditure

Maria A. Kamimura¹, Sergio A. Draibe², Maria A. Dalboni², Miguel Cendoroglo²,
Carla M. Avesani², Silvia R. Manfredi², Maria E.F. Canziani², Lilian Cuppari^{1,2}

¹Nutrition Program, Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil

²Division of Nephrology, Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil

Corresponding author:

Lilian Cuppari

Rua Pedro de Toledo, 282

Cep: 04039-000

São Paulo, SP, Brazil

Phone: +55-11-5572-0530 / 55-11-5571-3261

Fax: +55-11- 5572-1862

E-mail: lilian@dis.epm.br

Abstract

Background: Inflammation has been implicated with several metabolic derangements in end-stage renal disease (ESRD) patients. The role of cytokines on energy metabolism of ESRD has not been studied. We hypothesized that interleukin-6 (IL-6) may be associated with increase in energy expenditure of hemodialysis patients.

Methods: In this cross-sectional study, serum IL-6 was measured in 80 patients undergoing hemodialysis therapy for at least 2 months. In a subgroup of 30 patients and 11 healthy individuals the spontaneous and endotoxin stimulated productions of IL-6 by peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were assessed. Resting energy expenditure was measured in a nondialysis day by means of indirect calorimetry. Nutritional evaluation included anthropometry, body composition and subjective global assessment.

Results: In the univariate analysis, resting energy expenditure was positively associated with lean body mass ($r=0.68; P < 0.001$) and BMI ($r=0.44; P < 0.001$). When multivariate linear regression analysis was performed, adjusting for age and lean body mass, serum IL-6 was an independent determinant of resting energy expenditure in hemodialysis patients ($n=80; R^2=0.58$). IL-6 production by PBMC in healthy group increased significantly after cell stimulation by endotoxin. However, in hemodialysis patients the spontaneous and stimulated productions of IL-6 were similarly high and comparable to that of stimulated production of healthy subjects.

Secretion of IL-6 by PMBC showed no association with resting energy expenditure.

Conclusion: Serum IL-6, but not monocyte-derived IL-6, was associated with increase of resting energy expenditure in hemodialysis patients.

Keywords: Hemodialysis, inflammation, interleukin-6, energy expenditure

Introduction

End-stage renal disease (ESRD) is associated with inflammatory state characterized by elevated circulating levels of proinflammatory cytokines such as interleukin-6 (IL-6), which has been recognized as a predictor of mortality in both incident and prevalent dialysis patients.^{1,2} Although the causes of elevated IL-6 in ESRD patients are not fully understood, various uremia and dialysis-related factors may contribute.³ In fact, previous studies show that more than 30% of the patients on dialysis have elevated circulating IL-6 levels. In addition, it has been suggested that ESRD patients have overproduction of proinflammatory cytokines by peripheral blood mononuclear cells (PBMC), which can be caused by frequent contact between blood and dialyzer membrane during the hemodialysis procedure.^{4,5}

Much interest has been focused on IL-6 in ESRD due to its complex spectrum of biological activities, including the role of mediating the development of malnutrition.^{6,7} Although the pathophysiologic link between inflammation and malnutrition has not been clearly elucidated, it has been shown that serum IL-6 induces protein catabolism,⁸ lipolysis,⁹ insulin resistance, and suppression of appetite.¹⁰ Additionally, it has been suggested in other diseases that the release of cytokines by PBMC is associated with hypermetabolism.¹¹⁻¹³ In chronic kidney disease, although elevated energy expenditure has been associated with high C-reactive protein levels,^{14,15} it remains unclear whether a similar association exists with cytokines.

Considering the harmful effect of elevated energy expenditure on nutritional status and on clinical outcomes of ESRD patients,¹⁶ we aimed to investigate the relationship of serum and monocyte-derived IL-6 with resting energy expenditure in patients undergoing hemodialysis.

Subjects and methods

Patients

This cross-sectional cohort included 80 patients (51 male/29 female) on maintenance hemodialysis at the Dialysis Unit of the Federal University of São Paulo – Oswaldo Ramos Foundation (São Paulo, SP, Brazil). The exclusion criteria were age below 18 years, length of hemodialysis below 2 months, altered thyroid or hepatic functions, diabetes, and active malignance. Patients were dialyzed for 4 hours thrice a week using acetate membrane or polissulphone membrane. The majority of the patients were under use of human recombinant erythropoietin, iron saccharate and vitamin complex, and none was under use of hormone, corticosteroid or immunosuppressive drugs. A subgroup of 30 hemodialysis patients and 11 healthy subjects were submitted to the cytokine production assessment. All control subjects had normal kidney and thyroid functions, and none of them was taking any medication.

This study was approved by the University Ethical Advisory Committee, and all participants provided written informed consent.

Resting energy expenditure

Resting energy expenditure was assessed in a nondialysis day by indirect calorimetry using an open circuit ventilated computerized metabolic system (Vmax series 29n; SensorMedics Corp; Yorba Linda, CA, USA). The oxygen and carbon dioxide sensors were calibrated before each resting energy expenditure measurement with the use of mixed reference gases of known composition. All subjects were previously instructed to refrain from any unusual physical activity 24-hour period prior to the test and to sleep at the same time as usual in the night before the resting energy expenditure measurement. They were admitted in the clinic at 8:00 a.m. after an overnight fast of 12 hours. After resting for 30 minutes in a recumbent position, subjects breathed for 30 minutes through a clear plastic canopy over their heads in a quiet dimly lit thermo neutral room. They were instructed to avoid hyperventilation, fidgeting or falling asleep during the test. Oxygen consumption and carbon dioxide production were measured at 1-minute intervals and the mean of the last 20 minutes were used to calculate the resting energy expenditure according to the Weir's equation without using urinary urea nitrogen.¹⁷

Anthropometry and body composition

Nutritional assessment was performed 15 to 30 min after the dialysis session in the day before the indirect calorimetry test. Subjects were weighted with light clothes and without shoes on a platform manual scale balance (Filizola[®], São Paulo, Brazil).

Body mass index (BMI) was calculated as body weight divided by squared height. Lean body mass was assessed by bioelectrical impedance analysis using a single frequency tetrapolar technique with an electrical current of 800 μA at 50 kHz (BIA 101 Quantum, RJL Systems, Detroit, USA). The electrodes were placed in the standard positions (two electrodes placed on the hand and wrist and another two positioned on the foot and ankle) in the opposite side of vascular access, with the subject in the supine position. The software Fluids & Nutrition (version 3.0) provided by the manufacturer was used to estimate the lean body mass.

Skinfold measurements at four standard sites (biceps, triceps, subscapular and suprailiac) were performed for determining body fat, since the method seems to be superior to bioelectrical impedance analysis for the measurement of this compartment in hemodialysis patients.¹⁸ Body density was calculated from the sum of the four skinfold measurements according to Durnin and Womersley,¹⁹ and the percentage of body fat was then calculated by Siri's equation.²⁰

Subjective global assessment

The subjective global assessment was used to evaluate the overall protein-energy nutritional status. It includes assessing the patient's history of weight loss, presence of anorexia, vomiting, edema/ascite, grading of muscle wasting and loss of subcutaneous fat. Based on these data, each patient was scored as follow: 1= well-nourished, 2= mild-moderately malnourished and 3= severely malnourished.²¹

Laboratory data

Fasting blood samples for glucose, bicarbonate, thyroid stimulating hormone, serum albumin, intact parathyroid hormone, C-reactive protein were drawn just before the indirect calorimetry test. Serum creatinine and urea were obtained from the monthly routine exam (predialysis session). Serum glucose, creatinine and urea were determined using a standard autoanalyser. Bicarbonate was measured by an automated potentiometer (normal range: 23-27 mmol/l). Thyroid stimulating hormone by immunofluorometric assay (normal range: 0.3-4.0 μ IU/ml) and serum albumin by green bromcresol technique (normal range: 2.5-4.0 g/dl). Intact parathyroid hormone and high-sensitivity C-reactive protein (inflammatory state: ≥ 0.50 mg/dl) were determined by immunochemiluminescence. Aliquots of serum were frozen and stored at -70° C and by using a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay IL-6 (BD Biosciences Pharmingen, USA) and adiponectin (Linco Research, USA) were measured. Kt/V was determined according to the K/DOQI guideline.²²

Cytokine production

Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were also obtained in the same day of the indirect calorimetry test. Blood was layered on a Ficoll-Hypaque gradient and centrifuged at 1200 rpm for 25 minutes. Cells were washed 3 times in sterile,

pyrogen-free saline, and were suspended at 5×10^6 /ml in RPMI (Sigma Chemical Co.) After the isolation described above, aliquots of PBMC of each patient with 1×10^6 cells/ml were incubated with RPMI (spontaneous production) and RPMI plus 500 ng/ml of *Escherichia coli* endotoxin (stimulated production) for 24h in CO₂ at 37°C. After incubation, the cells were kept at -70°C until analysis. Immunoenzymatic assays were performed to assess the production of IL-6 (BD Biosciences Pharmingen, USA).

Statistical analysis

Data are expressed as mean \pm standard deviation. Variables that did not present normal distribution are presented in median and ranges. Spearman's correlation was used for the univariate analysis among the study parameters, and the multiple linear regression analysis for analyzing the determinants of resting energy expenditure. Variables tested in the regression model were those that correlated significantly with resting energy expenditure or those that are known to influence resting energy expenditure. Differences with $P < 0.05$ were considered statistically significant. The statistical analyses were conducted using the True Epistat software (Texas, USA, 1995).

Results

Total hemodialysis patients

Table 1 depicts the main characteristics of the patients. The age ranged from 18 to 76 years, and the length on dialysis therapy from 2 months to 13 years. Hypertensive nephrosclerosis was the main etiology of chronic kidney disease corresponding to 35% (n=24), followed by undetermined causes in 28% (n=22), chronic glomerulonephritis in 15% (n=12), and other causes accounted for 28% (n=22). Patients were adequately dialyzed according to Kt/V. BMI was within the normal range (18.5 to 24.9 kg/m²) in 75% of the patients, 20% had BMI \geq 25 kg/m², and 5% had BMI < 18.5 kg/m². According to subjective global assessment, 69.2% of the patients were well-nourished, 24.4% were mild to moderately malnourished and 6.4% were severely malnourished. Serum IL-6 was not significantly different between well-nourished and malnourished hemodialysis patients (5.4 (2.2 to 163.5) pg/ml and 7.7 (2.2 to 30.3) pg/ml, respectively). Forty-eight percent of the patients had C-reactive protein values higher than 0.5 mg/dl and 31.3% had values \geq 1.0 mg/dl. In the univariate analysis, serum IL-6 was positively associated with age ($r=0.26$; $P=0.02$) and with C-reactive protein ($r=0.31$; $P< 0.01$). No association was observed between serum IL-6 and length of dialysis, Kt/V, adiponectin, albumin, body composition parameters or resting energy expenditure. Resting energy expenditure correlated positively with lean body mass ($r=0.68$; $P< 0.001$) and BMI ($r=0.44$; $P< 0.001$), and negatively with Kt/V ($r=-0.37$; $P=0.001$). Multivariate linear

regression was used to analyze parameters that explained the variability in serum IL-6 and resting energy expenditure. We found that body fat was the determinant of serum IL-6 ($\beta=0.98$;standard error=0.41;P=0.02), and explained 7.3% of the IL-6 variations when adjusted for age. The determinants of resting energy expenditure are shown in Table 2. As can be seen, together with the well-known determinants such as age and lean body mass, serum IL-6 was the independent determinant of resting energy expenditure of hemodialysis patients.

Cytokine production study groups

The subgroup of 30 hemodialysis patients was not significantly different from the total hemodialysis group regarding age, length of dialysis, Kt/V, body composition, C-reactive protein, IL-6 and resting energy expenditure (analysis not shown). The main characteristics of the subgroup of hemodialysis patients and of the healthy control group are presented in Table 3. As can be seen, C-reactive protein and serum IL-6 levels were significantly higher in hemodialysis patients. No difference was observed regarding body composition and resting energy expenditure. The spontaneous IL-6 production in hemodialysis group tended to be increased in comparison to healthy group, however, it did not reach statistical significance (Table 3 and Figure 1). The stimulated production of IL-6 was similar between the groups (P=0.22). While in healthy group IL-6 production increased after cell stimulation by endotoxin, in hemodialysis patients the spontaneous and stimulated productions of IL-6 were similarly high and comparable to that of stimulated production of healthy

group. Spontaneous IL-6 correlated positively with stimulated IL-6 in hemodialysis group ($r=0.67;P< 0.01$), and this association was much stronger among healthy individuals ($r=0.85;P< 0.01$). IL-6 derived by PBMC of the patients showed no association with serum IL-6 and C-reactive protein levels. In addition, IL-6 production did not show any association with variables such as age, length of dialysis, albumin, subjective global assessment, body composition or resting energy expenditure. In regards to serum IL-6 in this subgroup of patients, a positive correlation was found with age ($r=0.51;P< 0.01$), C-reactive protein ($r=0.51;P< 0.01$) and body fat ($r=0.42;P=0.02$). Similarly to the total hemodialysis group, the resting energy expenditure in this subgroup of patients correlated positively with lean body mass ($r=0.77;P< 0.001$) and BMI ($r=0.42;P=0.02$), and inversely with Kt/V ($r=-0.61;P< 0.001$). Among healthy subjects, resting energy expenditure was positively associated only with lean body mass ($r=0.86;P< 0.001$).

Table 1. Demographic, clinical and nutritional characteristics of the patients

	Total (n=80)
Gender (male/female)	51/29
Age (years)	43.1 ±14.2
Length of dialysis (months)	31.6 ±33.7
Kt/V	1.32 ±0.24
Serum creatinine (mg/dl)	10.7 ±3.1
Blood urea nitrogen (mg/dl)	72.6 ±16.1
Serum glucose (mg/dl)	90 ±66.1
Intact parathyroid hormone (pg/ml) *	194 (1-2154)
Thyroid stimulating hormone (μIU/ml)	2.0 ±2.0
Serum bicarbonate (mmol/l)	24.4 ±3.8
Serum albumin (g/dl)	4.2 ±0.5
C-reactive protein (mg/dl) *	0.49 (0.01-21.5)
Interleukin-6 (pg/ml) *	6.3 (2.2-163.5)
Adiponectin (mg/l)	39.5 ±14.5
Body mass index (kg/m ²)	23.1 ±3.5
Body fat (%)	23.8 ±8.9
Lean body mass (kg)	44.9 ±9.7
Resting energy expenditure (kcal/d)	1408 ±286

Values given as mean ± standard deviation

* Median and ranges

Table 2. Multiple linear regression analysis using resting energy expenditure as a dependent variable (n=80;R²=0.58)

	β (kcal)	Standard error	P
Age	-5.6	1.5	< 0.001
Lean body mass	18.1	2.1	< 0.001
Interleukin-6	2.4	0.9	0.014
Constant	757.4		

Table 3. Main characteristics of the cytokine production study groups

	Hemodialysis group (n=30)	Healthy group (n=11)
Gender (male/female)	17/13	7/4
Age (years)	46.5 ±16.2	36.7 ±14.6
Length of dialysis (months)	32.3 ±34.3	----
Serum creatinine (mg/dl)	9.9 ±2.6	1.1 ±0.1 ^a
Serum glucose (mg/dl)	82.8 ±9.4	83.5 ±9.7
Serum albumin (g/dl)	4.3 ±0.3	----
C-reactive protein (mg/dl) *	0.44 (0.01-21.5)	0.07 (0.04-0.35) ^a
Interleukin-6 (pg/ml) *		
<i>Serum</i>	7.1 (2.2-163.5)	3.8 (2.2-20) ^a
<i>Spontaneous production</i>	6,541 (96-7,739)	3,410 (50-7,806) ^b
<i>Stimulated production</i>	6,530 (579-7,671)	5,304 (1,527-7671)
Body mass index (kg/m ²)	23.8 ±4.1	23.9 ±3.4
Body fat (kg)	15.4 ±6.6	16.8 ±5.3
Body fat (%)	23.5 ±7.3	23.8 ±3.5
Lean body mass (kg)	48.1 ±12.8	52.9 ±10.8
Lean body mass (%)	73.8 ±9.2	75.6 ±4.3
Resting energy expenditure (kcal/d)	1414 ±360	1377 ±269

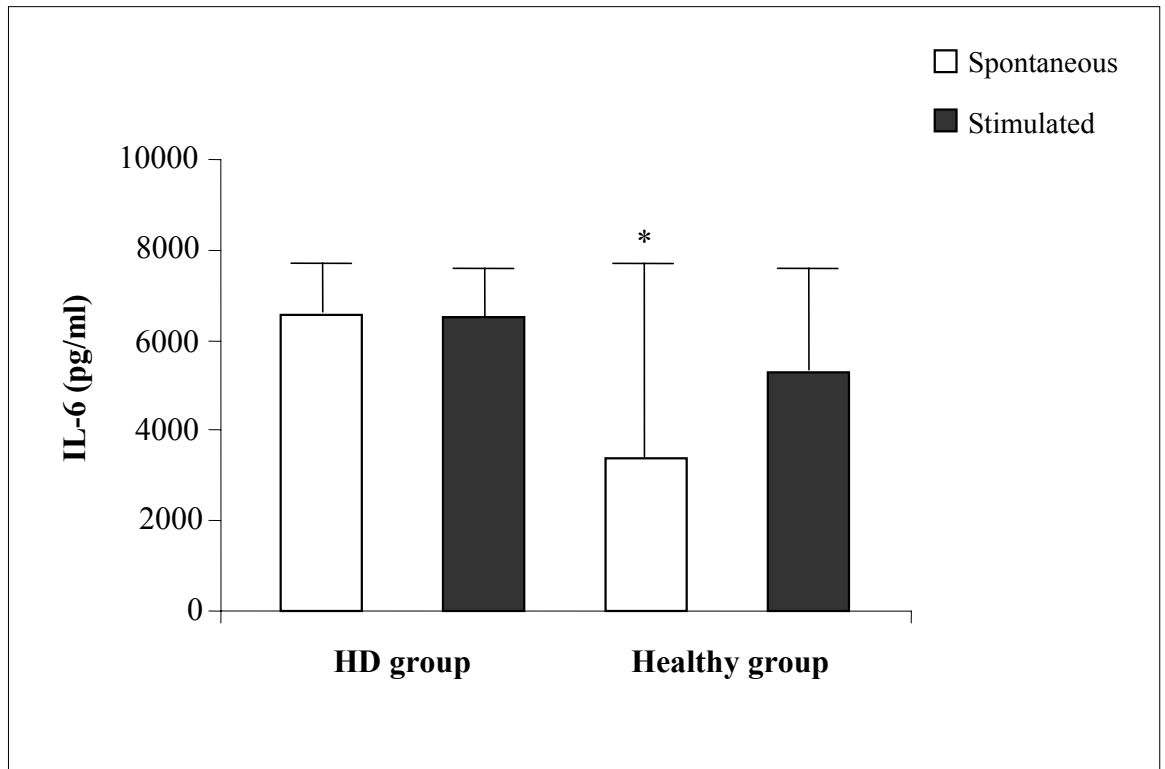
Values given as mean ± standard deviation

* Median and ranges

^a P< 0.01 Healthy group vs hemodialysis group

^b P< 0.01 Spontaneous vs stimulated PBMC production of interleukin-6

Figure 1. Interleukin-6 production by PBMC in hemodialysis (n=30) and healthy (n=11) groups. * P< 0.01 Spontaneous vs stimulated PBMC production of interleukin-6 in healthy group.



Discussion

Despite many advances in medical care over the past decades, the mortality is still elevated among ESRD patients.²³ High cytokine levels¹ and, more recently, increased resting energy expenditure¹⁶ have shown to contribute to this condition. In the present study, we demonstrated a linkage between circulating IL-6 levels and energy expenditure in hemodialysis patients.

The resting energy expenditure of hemodialysis patients has shown to be equal or higher than that of healthy individuals.²⁴⁻²⁶ Although some aspects of loss of renal function may contribute to reduce energy metabolism in chronic kidney disease patients,^{27,28} comorbid conditions, such as diabetes²⁹ and hyperparathyroidism,³⁰ seems to exert an effect increasing resting energy expenditure of these patients. The current analysis demonstrating that a single measurement of IL-6 in serum was a determinant of resting energy expenditure in hemodialysis patients supports the previous findings by our group that suggested the role of inflammation increasing resting energy expenditure of nondialyzed chronic kidney disease patients.^{14,15} By using C-reactive protein as an inflammatory marker, Avesani *et al*¹⁴ showed that subclinical inflammation was sufficient to increase resting energy expenditure of these patients. Further, a subsequent analysis showed that after treatment of acute infection of the patients the reduction on C-reactive protein levels (median from 2.05 to 0.35 mg/dl) was accompanied by 13% reduction of resting energy expenditure.¹⁵

The exact mechanisms involving inflammation and resting energy expenditure cannot be fully identified, but it seems reasonable to speculate that protein catabolism caused by inflammation might be implicated in the increase of resting energy expenditure. In fact, the association of IL-6 and reduced muscle mass measured by computed tomography has been observed in hemodialysis patients.⁷ The lack of association between circulating IL-6 and lean body mass in the present study may possibly be due to the low sensitive method used for assessing lean body mass and the cross-sectional design of the study.

The spontaneous IL-6 production by PBMC in hemodialysis patients tended to be elevated in comparison to healthy controls, which is in accordance with previous studies that show overproduction of cytokines by monocytes in uremic patients.^{4,5} Regarding the stimulated IL-6 production, the rates were comparable between hemodialysis and controls in our study. This finding is supported by some investigators³¹ but contradict others who found significantly reduced cytokine release by PBMC after cell stimulation.³² It is noteworthy that studies vary in terms of type and doses of endotoxin for cell activation, cell collection period (before, during or after dialysis, or nondialysis day), cell culture duration, dosage techniques, and type of dialysis membrane used. Moreover, in this complex pathological condition such as chronic kidney disease, we can not exclude the possible intrinsic alterations of signaling pathways and immune defectiveness of the patients.³¹ In fact, we observed that while in healthy group stimulated IL-6 production was higher than the spontaneous production, in hemodialysis group the IL-6 production showed no change after cell stimulation, suggesting the cells of the patients were

hyporesponsive to exogenous stimuli. Some authors have indeed reported an impaired endotoxin-induced IL-6 release from PBMC of hemodialysis patients.³³ Yet, a recent study showed that the ability of hemodialysis patients to secrete TNF- α , IL-1 β and IL-6 by stimulated monocytes decreased progressively according to length on dialysis therapy.³² However, the fact the spontaneous production of IL-6 tended to be already elevated in hemodialysis patients suggests that the monocytes might be chronically activated and subsequently refractory to any further stimulation. In particular, blood interaction with dialyzer membrane may chronically activate PBMC of hemodialysis.³⁴

The dysregulation of cytokine production is involved with several clinically relevant acute and chronic complications of dialysis treatment, including fever, hypotension, sleep disorders, dialysis-related amyloidosis, impaired immunity, bone disease and anemia.³⁵ Moreover, in other diseases an association of cytokine production by PBMC with energy expenditure has been suggested. In cachectic patients with pancreatic cancer, elevated resting energy expenditure was found in patients with enhanced spontaneous production of TNF- α and IL-6.¹¹ Roubenoff *et al*¹² demonstrated in patients with rheumatoid arthritis that TNF- α and IL-1 β production was higher than in controls and, more importantly, explained 20% of the variability in resting energy expenditure. In our hemodialysis patients the IL-6 production by PBMC, regardless of the presence or absence of endotoxin stimulation, showed no association with the resting energy expenditure. The reasons for this lack of relationship are not clear. It is of note that the cellular production of IL-6 was not associated with serum IL-6 as well. A combination of many factors

related to disturbances in the cytokine network may overcome the association between monocyte-derived IL-6 and circulating levels of IL-6 in hemodialysis patients. Moreover, the proportional contribution of different sources of IL-6 in the circulation of human is unclear. For instance, in the last few years, adipose tissue has emerged as an additional important source of systemic IL-6.³⁶ Mohamed-Ali *et al*³⁷ showed that fat release of IL-6 may account for up to 35% of IL-6 in plasma. Accordingly, in the current study body fat was an independent determinant of serum IL-6 in hemodialysis patients. Axelsson *et al*³⁸ also found a positive association between body fat and circulating IL-6 in chronic kidney disease patients.

In conclusion, the circulating IL-6 was associated with increase in resting energy expenditure of hemodialysis patients. The effect of acute and chronic elevation of energy expenditure on nutritional parameters of ESRD patients remains to be analyzed in longitudinal studies.

Acknowledgements. This study was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) and Oswaldo Ramos Foundation, and is dedicated to the memory of Nelma Scheyla José dos Santos.

References

1. Pecoits-Filho R, Bárany P, Lindholm B, Heimbürger O, Stenvinkel P: Interleukin-6 is an independent predictor of mortality in patients starting dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* 17:1684-1688, 2002
2. Rao M, Guo D, Perianayagam MC, et al: Plasma interleukin-6 predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 45:324-333, 2005
3. Stenvinkel P, Alvestrand A: Inflammation in end-stage renal disease: sources, consequences, and therapy. *Semin Dial* 15:329-337, 2002
4. Memoli B, Libetta C, Rampino T, et al: Hemodialysis related induction of interleukin-6 production by peripheral blood mononuclear cells. *Kidney Int* 42:320-326, 1992
5. Girndt M, Sester U, Kaul H, Kohler H: Production of proinflammatory and regulatory monokines in hemodialysis patients shown at a single-cell level. *J Am Soc Nephrol* 9:1689-1996, 1998
6. Stenvinkel P, Barany P, Heimbürger O, Pecoits-Filho R, Lindholm B: Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: what is the role of interleukin-6? *Kidney Int Suppl* 80:S103-S108, 2002
7. Kaizu Y, Kimura M, Yoneyama T, Mijaji K, Hibi I, Kumagai H: Interleukin-6 may mediate malnutrition in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 31:93-100, 1998

-
-
8. Kaizu Y, Ohkawa S, Odamaki M, et al: Association between inflammatory mediators and muscle mass in long-term hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 42:295-302, 2003
 9. Bistrian BS: Role of the systemic inflammatory response syndrome in the development of protein-calorie malnutrition in ESRD. *Am J Kidney Dis* 32:S113-S117, 1998
 10. Kalantar-Zadeh K, Block G, McAllister CJ, Humphreys MH, Kopple JD: Appetite and inflammation, nutrition, anemia, and clinical outcome in hemodialysis patients. *Am J Clin Nutr* 80:299-307, 2004
 11. Falconer JS, Fearon KCH, Plester CE, Ross JA, Carter DC: Cytokines, the acute-phase response, and resting energy expenditure in cachectic patients with pancreatic cancer. *Ann Surg* 219:325-331, 1994
 12. Roubenoff R, Roubenoff RA, Cannon JG, et al: Rheumatoid cachexia: cytokine-driven hypermetabolism accompanying reduced body cell mass in chronic inflammation. *J Clin Invest* 93:2379-2386, 1994
 13. Garcia-Lorda P, Serrano P, Jiménez-Expósito J, et al: Cytokine-driven inflammatory response is associated with the hypermetabolism of AIDS patients with opportunistic infections. *J Parent Enteral Nutr* 24:317-322, 2000
 14. Avesani CM, Draibe SA, Kamimura MA, Colugnati FA, Cuppari L: Resting energy expenditure of chronic kidney disease patients: influence of renal function and subclinical inflammation. *Am J Kidney Dis* 44:1008-1016, 2004

-
-
15. Utaka S, Avesani CM, Draibe S, Kamimura MA, Andreoni S, Cuppari L: Inflammation is associated with increased energy expenditure in chronic kidney disease patients. *Am J Clin Nutr* 82:801-805, 2005.
 16. Wang AY, Sea MM, Tang N, et al: Resting energy expenditure and subsequent mortality risk in peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 15:3134-3143, 2004
 17. Weir JBV: New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J Physiol Lond* 109:1-9, 1949
 18. Kamimura MA, Avesani CM, Cendoroglo M, Canziani, MEF, Draibe SA, Cuppari L: Comparison of skinfold thicknesses and bioelectrical impedance analysis with dual-energy X-ray absorptiometry for the assessment of body fat in patients on long-term hemodialysis therapy. *Nephrol Dial Transplant* 18:101-105, 2003
 19. Durnin JVGA, Womersley J: Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged 16 to 72 years. *Br J Nutr* 32:77-97, 1974
 20. Siri WE: Body composition from fluid spaces and density: analysis of methods, in Brozek J, Henschel A (ed): *Techniques for Measuring Body Composition*. Washington: National Research Council, 1961, pp 223-244
 21. Detsky AS, McLaughlin JR, Baker JP, et al: What is subjective global assessment of nutritional status? *J Parenter Enteral Nutr* 11:8-13, 1987
 22. National Kidney Foundation: K/DOQI - Kidney Disease Outcome Quality Initiative, Clinical practice guidelines. *Am J Kidney Dis* 37:S27-S33, 2001

-
-
23. USRDS: Excerpts from United States Renal Data System 1999 Annual Data Report. *Am J Kidney Dis* 34:S1-S176, 1999
 24. Monteon FJ, Laidlaw ST, Shaib JK, Kopple JD: Energy expenditure in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 30:741-747, 1986
 25. Schneeweiss B, Wolfgang G, Stockenhuber F, et al: Energy metabolism in acute and chronic renal failure. *Am J Clin Nutr* 52:596-601, 1990
 26. Ikizler TA, Wingard RL, Sun M, Harvell J, Parker RA, Hakim RM: Increased energy expenditure in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 7:2646-2656, 1996
 27. Avesani CM, Draibe SA, Kamimura MA, Dalboni MA, Colugnati FA, Cuppari L: Decreased resting energy expenditure in non-dialyzed chronic kidney disease patients. *Nephrol Dial Transplant* 19:3091-3097, 2004
 28. O'Sullivan AJ, Lawson JA, Chan M, Kelly JJ: Body composition and energy metabolism in chronic renal insufficiency. *Am J Kidney Dis* 39:369-375, 2002
 29. Avesani CM, Cuppari L, Silva AC, et al: Resting energy expenditure in pre-dialysis diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant* 16:556-560, 2001
 30. Cuppari L, Carvalho AB, Avesani CM, Kamimura MA, Lobão RRS, Draibe SA: Increased resting energy expenditure in hemodialysis patients with severe secondary hiperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol* 15:2933-2939, 2004
 31. Le Meur Y, Lorgeot V, Aldigier JC, Wijdenes, Leroux-Robert C, Praloran V: Whole blood production of monocytic cytokines in haemodialysed patients. *Nephrol Dial Transplant* 14:2420-2426, 1999

-
-
32. Malaponte G, Bevelacqua V, Fatuzzo P, et al: IL-1 β , TNF- α and IL-6 release from monocytes in haemodialysis patients in relation to dialytic age. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:1964-70
 33. Paczek L, Schaefer RM, Heidland A: Dialysis membranes decrease immunoglobulin and interleukin-6 production by peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Nephrol Dial Transplant* 3:41-44, 1991
 34. Memoli B, Minutolo R, Bisesti V, et al: Changes of serum albumin and C-reactive protein are related to changes of interleukin-6 release by peripheral blood mononuclear cells in hemodialysis patients treated with different membranes. *Am J Kidney Dis* 39:266-273, 2002
 35. Pertosa G, Grandaliano G, Gesualdo L, Schena FP: Clinical relevance of cytokine production in hemodialysis. *Kidney Int Suppl* 58:S104-111, 2000
 36. Wisse BE: The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol* 15:2792-2800, 2004
 37. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, et al: Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 82:4196-4200, 1997
 38. Axelsson J, Qureshi AR, Suliman ME, et al: Truncal fat mass as a contributor to inflammation in end-stage renal disease. *Am J Clin Nutr* 80:1222-1229, 2004

6.1. CONFIRMAÇÃO DE SUBMISSÃO DO ARTIGO 2

----- Original Message -----

From: "AJKD Editorial Manager" <deanna.gunderson@co.hennepin.mn.us>

To: <lilian@dis.epm.br>

Sent: Tuesday, May 09, 2006 1:04 PM

Subject: AJKD Acknowledgment & Manuscript Number

May 09, 2006

Dr Lilian Cuppari
Affiliated Professor
Nephrology
Federal University of São Paulo
Nephrology
R Pedro de Toledo, 282
Sao Paulo 04039-000
BRAZIL

Dear Dr. Cuppari:

We received your manuscript "Serum and cellular interleukin-6 in hemodialysis patients: relationship with energy expenditure" and have assigned it manuscript number AJKD-D-06-00436.

The Editorial Manager tracking system is being built; in the meantime, you may track your manuscript's status via www.ajkd.org (Note: when entering the manuscript number, please use "06-" and only the last 4 digits of the number above [eg, an Editorial Manager manuscript number of AJKD-D-06-00017 would be 06-0017 on www.ajkd.org]).

The editorial office is open 8:00 a.m. to 4:30 p.m.(US Central Standard Time) Monday through Friday. We receive many manuscripts and process them in the order received. Please do not contact the editorial office regarding manuscript status. Information will not immediately appear on www.ajkd.org, so you will need to periodically check this site regarding the status of your manuscript.

Our editors appreciate the opportunity to review your work.

Sincerely,

The AJKD Editorial Office
Tel: 612-347-7770
Fax: 612-347-4321
E-mail: deanna.gunderson@co.hennepin.mn.us
Editorial Manager: <http://ajkd.edmgr.com>

7. CONCLUSÃO FINAL

A inflamação avaliada pelos dois principais marcadores, a proteína C-reativa e a interleucina-6 sérica, esteve associada com o aumento do gasto energético de repouso de pacientes com doença renal crônica submetidos à hemodiálise.