

Ana Lucia Cardoso Santos Abreu

**AVALIAÇÃO DOS MARCADORES DO METABOLISMO MINERAL E
ÓSSEO EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM DOENÇA RENAL
CRÔNICA EM TRATAMENTO CONSERVADOR**

**Dissertação apresentada à
Universidade Federal de São Paulo -
Escola Paulista de Medicina para a
obtenção do Título de Mestre em
Ciências.**

**São Paulo
2018**

Ana Lucia Cardoso Santos Abreu

**AVALIAÇÃO DOS MARCADORES DO METABOLISMO MINERAL E
ÓSSEO EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM DOENÇA RENAL
CRÔNICA EM TRATAMENTO CONSERVADOR**

**Dissertação apresentada à
Universidade Federal de São Paulo –
Escola Paulista de Medicina para a
obtenção do Título de Mestre em
Ciências.**

Orientador:

Prof. Dr. Dirceu Sole

Co-orientador:

Prof. Dr. Aluizio Barbosa Carvalho

Co-orientador:

Profa. Dra. Maria Cristina de Andrade

São Paulo

2018

Cardoso Santos Abreu, Ana Lucia

Avaliação dos marcadores do metabolismo mineral e ósseo em pacientes pediátricos com doença renal crônica em tratamento conservador/ Ana Lucia Cardoso Santos Abreu. - São Paulo, 2018
xvi, 56f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Ciências Aplicadas à Pediatria.

Título em Inglês: Avaliation of markers of bone mineral metabolismo in pediatric patients with chronic kidney disease in conservative treatment.

1. Insuficiência Renal Crônica. 2. Fatores de Crescimento de Fibroblastos. 3. Distúrbio Mineral e Ósseo na Doença Renal Crônica. 4. Pediatria. 5. Fator de Necrose Tubular alfa.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PEDIATRIA E
CIÊNCIAS APLICADAS À PEDIATRIA

Chefe do Departamento: Profa. Dra. Ana Lucia Goulart

Coordenador do Curso de Pós-Graduação: Prof. Dr. Dirceu Sole

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Maria da Glória e Delfim,

Vocês são meus exemplos de amor, dedicação e trabalho. Sempre presentes com sua força e carinho, incentivando e apoiando minhas iniciativas. Amo vocês do fundo do meu coração.

A Delfim Filho, Ana Paula, Luiz Henrique e Isabella, Ana de Fátima e Vera. Obrigada pelo apoio, incentivo, carinho e por compreender os momentos que não pude estar com vocês. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Dirceu Sole, agradeço pela sua paciência, sua ajuda, disponibilidade e a gentileza com a qual sempre me recebeu. Sem sua orientação não teria sido possível eu concretizar este meu sonho. Gratidão eterna!

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Aluízio Barbosa Carvalho, sou imensamente grata a você por ter me recebido, de braços abertos, no grupo do osso. Com você aprendi, além do intrincado mundo do osso, o que é trabalhar em equipe, com união, respeito e carinho. É uma honra fazer parte deste grupo! Muito obrigada!

À minha co-orientadora Profa. Dra. Maria Cristina de Andrade, obrigada por sua ajuda, por sua determinação, por sua confiança e amizade! Seu apoio e tranquilidade foram fundamentais! Agradeço de coração!

Ana Paula Brecheret e Renata Lopes, queridas amigas, sem vocês eu não teria conseguido chegar até aqui. Os momentos que passamos juntas nesta caminhada estão marcados no meu coração, muitas alegrias e o carinho de vocês nos meus momentos de lágrimas... Obrigada!

Maria Luiza do Val e Marta Maia, vocês fazem parte da minha vida de forma especial, sempre presentes dando força, incentivando e mesmo cobrando quando necessário. Lembranças lindas com vocês, minhas amigas queridas! E vamos retomar nossas viagens!

Anelise Del Vecchio Gessulo e Paulo Kock Nogueira, com vocês dei meus primeiros passos neste mundo da nefrologia pediátrica e fiquei encantada! Aprendi muito com vocês. Saudade! Obrigada por tudo!

Dr. João Tomás de Abreu Carvalhaes e Maria Aparecida Cançado, cresci como profissional e como pessoa com a ajuda de vocês. Obrigada por todos esses anos nos ensinando e dividindo suas experiências conosco!

Adriana Sanudo, meus agradecimentos de coração por seu trabalho e, o mais importante, por sua amizade! Obrigada!

Dr. Francisco, Tatiane e Cristina do laboratório dos lípidos, obrigada por seus conselhos, tranquilidade e confiança que tudo daria certo!

Dra. Vanda, Dra. Rosa e Luciene obrigada pela oportunidade de ter sido recebida no laboratório de osso, por suas orientações e gentileza!

Ana Paula Bocaleti, Valeska e Kellen, passamos ótimos momentos juntas. Obrigada por tudo!

Silvia Bedran, Giancarlo Spizzirri, Leonardo Bedran, amigos que estão há tanto tempo, ou nem tanto, acompanhando minha vida. Vocês, com suas intuições, sabem o que preciso ouvir e quando! Muito obrigada pelo carinho! Gratidão!

Pierre Cochat, você é um exemplo para mim de atenção e carinho aos pacientes. Uma inspiração! Muito obrigada! *Merci beaucoup!*

Maria Cecília, Flávia e Ho, obrigada pelas palavras de confiança e incentivo!

À equipe da nefrologia pediátrica, Vera Ligia, Ilma, Alzira, Jaynes, Marilene, Renan, Santana, Vera Orestes e Vera, muito obrigada pelo apoio e carinho que sempre recebi! É muito bom trabalhar com vocês!

Às crianças e adolescentes que fizeram parte deste estudo, sem vocês ele não teria sido possível. Meu muito obrigada!! E a seus pais e responsáveis obrigada por permitirem a participação de seus filhos.

SUMÁRIO

Dedicatória	iv
Agradecimentos	v
Lista de figuras	viii
Lista de quadros e tabelas	ix
Lista de abreviaturas	x
Resumo	xi
Abstract	xiv
1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO DA LITERATURA	9
2.1 Fator de Crescimento do Fibroblasto-23 (FGF-23)	14
2.2 Esclerostina	16
2.3 Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α)	16
3. OBJETIVOS	19
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS	21
4.1 Critérios de inclusão	21
4.2 Critérios de exclusão	21
4.3 Avaliação clínica e física	21
4.4 Pressão arterial	22
4.5 Testes Laboratoriais	22
4.6 Análise Estatística	24
4.7 Considerações éticas	25
5. RESULTADOS	27
5.1 Determinantes do FGF-23	33
5.2 Determinantes da Esclerostina	35
5.3 Determinantes do TNF- α	37
6. DISCUSSÃO	30
6.1 Hipertensão arterial	41
6.2 Etiologia da DRC	42
6.3 Ácido Úrico	42
6.4 PTH, Vitamina D, Fósforo e Magnésio	42
6.5 FGF-23, Esclerostina e TNF- α	43
7. CONCLUSÃO	47
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
9. Anexos	
Anexo 1: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	
Anexo 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	
Anexo 3: Termo de Assentimento Informado	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação diagramática da patogênese da osteodistrofia renal	6
--	---

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1. Estágios da doença renal crônica de acordo com National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF-K/DOQI, 2002)	9
Quadro 2. Classificação da pressão arterial para crianças e adolescentes	22
Quadro 3. Valores de referência laboratoriais	23
Quadro 4. Valores alvo do PTH de acordo com estágios da DRC recomendados por K/DOQI (2008)	24
Quadro 5. Valores de fósforo de acordo com a idade recomendado por K/DOQI (2008)	24
Tabela 1. Características gerais clínicas e demográficas das crianças e adolescentes de acordo com estágio da DRC	28
Tabela 2. Exames laboratoriais das crianças e adolescentes de acordo com estágios da DRC	30
Tabela 2(cont.). Exames laboratoriais das crianças e adolescentes de acordo com DRC	31
Tabela 3. Descrição das 44 crianças e adolescentes de acordo com marcadores do metabolismo ósseo e estágio da DRC	32
Tabela 4. Análise de regressão simples do logaritmo natural de FGF-23	34
Tabela 5. Análise de regressão múltipla para FGF-23	35
Tabela 6. Análise de regressão simples do logaritmo natural de esclerostina	36
Tabela 7. Análise de regressão múltipla para esclerostina	37
Tabela 8. Análise de regressão simples do logaritmo natural de TNF- α	38
Tabela 9. Análise de regressão múltipla para TNF- α	39

LISTA DE ABREVIATURAS

1,25(OH) ₂ D	1,25-di-hidroxivitamina D
25(OH)D	25-hidroxivitamina D
BMP	proteína mineral óssea
CAC	calcificação de artéria coronária
DMO-DRC	distúrbio mineral ósseo da doença renal crônica
DRC	doença renal crônica
FGF	fibroblast growth factor
FGF-23	fibroblast growth factor-23 fator de crescimento do fibroblasto-23
FGFr	receptor do FGF
IMC	índice de massa corpórea
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
KDOQI	Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
LRP5 e LRP6	low-density lipoprotein receptor-related 5 e 6
NKF-KDOQI	National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
pmpic	por milhão da população em idade compatível
PTH	hormônio paratiroidiano
RAAS	sistema renina angiotensina aldosterona
RANKL	receptor activator of the nuclear factor κ B ligand
TFG	taxa de filtração glomerular
TMV	turnover, mineralization, volume
TNF- α	fator de necrose tumoral alfa
zIMC	escore z de índice de massa corpórea
zE/I	escore z de estatura/idade

Resumo

RESUMO

Introdução: Os rins têm um papel importante no equilíbrio do metabolismo mineral e ósseo e distúrbios na regulação deste metabolismo ocorrem precocemente na DRC resultando em alterações na modelação e remodelação óssea com alterações no crescimento e deformidades esqueléticas nas crianças.

Objetivo: Avaliar os parâmetros do metabolismo mineral e marcadores do metabolismo ósseo de pacientes pediátricos com DRC em tratamento conservador. Investigar as correlações desses parâmetros entre si e com a função renal de pacientes pediátricos com DRC em tratamento conservador.

Métodos: Estudo observacional e transversal de crianças e adolescentes com DRC. Coletada amostra de sangue em jejum para determinação dos níveis séricos de creatinina, ureia, ácido úrico, cálcio total e cálcio iônico, fósforo, fosfatase alcalina, albumina, proteína C reativa, bicarbonato sérico, hemograma, PTH intacto, 25OH vitamina D, FGF-23, esclerostina e TNF- α .

Resultados: A média de idade dos 44 participantes foi de 11,7 anos (Desvio Padrão 3,4 anos), 30 eram do sexo masculino (68,2%) e estavam assim distribuídos: 18 pacientes no estágio 2/3a, 11 no estágio 3b, 15 no estágio 4/5. A pressão arterial estava normal em 50% dos pacientes, 60% dos pacientes que se encontram nos estágios 4/5 apresentaram hipertensão estágio 1. Cinquenta e dois por cento dos 44 pacientes apresentaram PTH elevado. A mediana do PTH foi de 181,8 pg/mL nos estágios 4/5 com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$). A mediana da 25OH vitamina D foi de 28,2 ng/mL (mínimo 3,0 – máximo 85,8 ng/mL) e classificada como suficiente em 45,5% dos pacientes. Os níveis plasmáticos de FGF-23 e de esclerostina não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os diferentes estágios da DRC e suas medianas foram respectivamente 46,5 pg/mL e 1755,4 pg/mL. TNF- α apresentou níveis séricos mais elevados nos estágios 4/5 com diferença estatisticamente significativa comparados aos outros estágios (estágio 2/3a 3,34 pg/mL; estágio 3b 4,07 pg/mL; estágio 4/5 6,69 pg/mL) $p < 0,001$. O FGF-23 apresentou correlação negativa com fosfatase alcalina (-

0,430; p 0,004). TNF- α apresentou correlação positiva com ureia, creatinina, fósforo e PTH e correlação negativa com o *clearance* de creatinina e PCR.

Conclusões: Neste estudo em pacientes pediátricos com DRC em tratamento conservador, observamos que, de acordo com a progressão da DRC, há alteração dos parâmetros do metabolismo mineral e marcadores do metabolismo ósseo com a elevação dos níveis séricos de fósforo, PTH, magnésio, TNF- α , FGF-23 esclerostina.

Na avaliação do FGF-23 e da esclerostina, não foi possível evidenciar diferença estatística segundo os estágios da DRC.

Foi evidenciada associação do TNF- α e FGF-23 com piora da função renal.

Há necessidade de se atentar para os distúrbios do metabolismo mineral e ósseo na faixa pediátrica dos pacientes com DRC, mesmo na fase pré-dialítica, com o intuito de intervir de maneira precoce e eficaz para a diminuição da morbimortalidade.

Abstract

ABSTRACT

OBJECTIVE: To evaluate bone mineral markers serum levels and to investigate their interrelationships and associations with stages of chronic kidney disease (CKD) and with laboratory abnormalities of bone mineral disease in children and adolescents with CKD on conservative treatment.

METHODS: Observational and cross-sectional study of children and adolescents with CKD. A fasting blood sample was collected for serum creatinine, urea, uric acid, total and ionic calcium levels, phosphorus, alkaline phosphatase, albumin, C-reactive protein, serum bicarbonate, intact PTH, 25(OH)vitamin D, FGF-23, sclerostin and TNF- α .

RESULTS: The mean age of the 44 participants was 11.7 years (Standard Deviation 3.4 years), 30 were male (68.2%) and were distributed as follows: 18 patients in stage 2 / 3a, 11 in stage 3b, 15 in stage 4/5. Blood pressure was normal in 50% of the patients, 60% of those in the 4/5 stages had stage 1 hypertension. 52% of the 44 patients had elevated PTH levels. The median PTH was 181.8 pg / mL in stages 4/5 with a statistically significant difference ($p < 0.001$). The median 25OH vitamin D was 28.2 ng / mL (minimum 3.0 - maximum 85.8 ng / mL), classified as sufficient in 45.5% of patients. Plasma levels of FGF-23 and sclerostin did not show a statistically significant difference between the different stages of CKD and their medians were 46.5 pg / mL and 1755.4 pg / mL, respectively. TNF- α showed higher serum levels in stages 4/5 with a statistically significant difference compared to the other stages (stage 2 / 3a 3.34 pg / mL, stage 3b 4.07 pg / mL, stage 4/5 6.69 pg / mL) $p < 0.001$. FGF-23 presented a negative correlation with alkaline phosphatase (-0.430 , $p 0.004$). TNF- α , we found a positive correlation with urea, creatinine, phosphorus and PTH and a negative correlation with creatinine clearance and CRP.

CONCLUSION: In this study on CKD pediatric patients on conservative treatment, we found altered mineral metabolism parameters and markers of bone metabolism with an increase in phosphorus, PTH, magnesium, TNF- α , higher levels observed among patients with lower GFR. FGF-23 and sclerostin did not show statistic difference between the CKD stages.

There was an associated evidence between TNF- α and FGF-23 with decreased renal function.

We must pay attention to bone and mineral metabolism disorders on CKD pediatric patients even prior to dialysis, to early diagnose in order to prevent comorbidities.

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A National Kidney Foundation produziu diretrizes para a prática clínica por meio de Iniciativa de Qualidade de Desfechos de Doenças Renais [*Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (K/DOQI)], e em 2002 publicou uma diretriz para doença renal crônica (DRC) definindo DRC como a presença de danos renais com achados patológicos, laboratoriais ou de imagem por período maior ou igual a três meses ou taxa de filtração glomerular menor do que 60 ml/min/1,73m² por período maior ou igual a três meses.

A doença renal crônica (DRC) é uma condição relacionada ao dano renal irreversível que pode progredir para doença renal estágio terminal. DRC é um problema de saúde pública importante em todo o mundo por apresentar mortalidade e morbidade altas, sendo a doença cardiovascular a principal causa de morbimortalidade nesta população. Estes fatos são observados tanto na população adulta quanto na pediátrica, sendo que nas crianças ocorrem problemas específicos, como o prejuízo no crescimento, desenvolvimento e adaptação psicossocial, com forte impacto sobre a qualidade de vida destas crianças (Harambat et al., 2012; Hill et al., 2016; Pereira et al., 2016).

A prevalência da DRC na infância varia e pode chegar a 92,4 casos por milhão da população em idade compatível (pmpic). Nos pacientes em terapia de substituição renal, a prevalência está aumentando, o que pode representar sinal de melhora da sobrevida em longo prazo (Warady e Chadha, 2007; Koch Nogueira et al., 2011; Konstantyner et al., 2015).

A infância e a adolescência são períodos cruciais para o desenvolvimento de um sistema esquelético e vascular saudável; alterações na modelação e remodelação óssea ou na biologia vascular em jovens leva a consequências que gravemente afetam a sua qualidade de vida e sobrevida (Wesseling-Perry e Salusky, 2017).

Na criança, a DRC causa regulação desordenada do metabolismo mineral com subsequentes alterações na modelação, remodelação e crescimento ósseos. Estas alterações ocorrem precocemente no curso da DRC e além disso, são associadas com o desenvolvimento de calcificações cardiovasculares. Como o déficit do crescimento e baixa estatura são clinicamente aparentes, preocupando pacientes, familiares e médicos, a

otimização do crescimento e altura final do adulto têm sido o foco no manuseio da DRC na infância. Entretanto, a doença cardiovascular é a causa mais importante de mortalidade tanto em crianças como em adultos com DRC e metabolismo mineral alterado, doença óssea, e suas terapias estão intimamente ligadas a processos patológicos cardiovasculares. Juntas, essas alterações são denominadas distúrbio do metabolismo mineral e ósseo da doença renal crônica (DMO-DRC) (Wesseling et al., 2008).

DMO-DRC é definido como uma alteração sistêmica do metabolismo mineral e ósseo resultado da DRC que se manifesta como uma ou combinação dos seguintes:

- a) alterações no metabolismo do cálcio, fósforo, hormônio paratiroidiano (PTH) e vitamina D.
- b) anormalidades da histologia óssea, crescimento linear e rigidez óssea.
- c) calcificação vascular ou de outros tecidos extra ósseos.

Osteodistrofia renal é o termo tradicionalmente utilizado e específico para descrever as anormalidades na morfologia óssea que ocorrem na DRC. Na prática clínica a biópsia óssea, padrão ouro para a classificação histomorfométrica da lesão óssea, não é usada frequentemente por ser um método invasivo, caro, e as amostras obtidas necessitam de processamento especializado, que não está amplamente disponível. A histomorfometria óssea essencialmente avalia três aspectos da histologia óssea: remodelação, mineralização e volume ósseos, permitindo a classificação em doença óssea com alta taxa de remodelação (osteíte fibrosa e doença mista) e baixa taxa de remodelação (osteomalácia e doença óssea adinâmica) (Martin et al., 2004; Moe e Drüeke, 2008).

As formas mais comuns de osteodistrofia renal são relacionadas a variações nos níveis plasmáticos de PTH, sendo este utilizado como um indicador substituto da remodelação óssea, e usado juntamente com medidas séricas de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina para avaliar, diagnosticar e guiar o tratamento da osteodistrofia renal.

O hiperparatireoidismo e a doença óssea associada à DRC são resultados de numerosas alterações fisiopatológicas no metabolismo mineral. Entretanto, a especificidade do PTH como indicador da remodelação óssea tem sido questionada. Vários outros marcadores bioquímicos de formação (fosfatase alcalina total, fosfatase alcalina óssea e osteocalcina) e de reabsorção óssea [piridinolina, sialoproteína óssea, interleucinas, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)] tem sido investigados como indicadores clínicos de remodelação óssea, mas sua aplicabilidade clínica ainda deve ser estabelecida (Urena e de Vernejoul, 1999; Moe et al., 2006).

Com a progressão da DRC, ocorre o hiperparatireoidismo secundário atribuído à deficiência de 1,25 di-hidroxivitamina D [$1,25(\text{OH})_2\text{D}$] combinada com a hiperfostatemia e hipocalcemia; causando alterações na mineralização e remodelação ósseas. A deficiência da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ pode ocorrer precocemente durante a evolução da DRC por deficiência da 1α -hidroxilase e tem sido associada ao excesso do FGF-23 (Gutierrez et al., 2005; Quarles, 2008; Wesseling-Perry e Salusky, 2012).

O fator de crescimento de fibroblastos-23 (FGF-23), hormônio produzido no tecido ósseo, tem sido definido como um regulador importante do metabolismo mineral e doença cardiovascular no contexto do DMO-DRC (Wesseling-Perry e Salusky, 2017). O FGF-23 é secretado pelos osteócitos e tem um papel importante na homeostase do fósforo (Quarles, 2008).

Os níveis séricos de FGF-23 começam a elevar-se precocemente (estágio 2 da DRC: taxa de filtração glomerular entre 60 e 90 ml/min/1,73m²) tanto em adultos como em crianças. Os níveis séricos elevados são devido à combinação da excreção renal diminuída, de alterações na degradação e aumento da produção dos osteócitos (Larsson et al., 2003; Gutierrez et al., 2005; Portale et al., 2014).

A sinalização do FGF-23, feita pelos receptores para FGF e seu co-receptor Klotho leva à diminuição da atividade de dois co-transportadores de sódio-fósforo no túbulo proximal renal, promovendo a excreção urinária de fósforo. Além disso, o FGF-23 diminui a concentração sérica da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, pois inibe a 1α -hidroxilase e estimula a enzima 24-hidroxilase que cataboliza a $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (Mitchell et al., 2017).

Com a progressão da DRC, a elevação sérica do FGF-23 resulta em declínio da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, levando a uma relação inversa dos níveis circulantes da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ e FGF-23.

Na DRC a redução da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ sérica contribui para o hiperparatiroidismo secundário e a hiperplasia da glândula paratireoide pelas seguintes formas: absorção intestinal de cálcio diminuída, diminuição da ligação da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ com o receptor da vitamina D, diminuição expressão do receptor da vitamina D e do receptor cálcio-sensível (Martin e González, 2007; Wesseling-Perry e Salusky, 2017).

A deficiência da 25-hidroxi-vitamina D [$25(\text{OH})\text{D}$] é resultado de inúmeros fatores nos pacientes com DRC: baixa exposição à luz solar, restrições dietéticas da DRC, especialmente de derivados de leite; diminuição da síntese da vitamina D na pele em resposta ao sol e doenças proteinúricas levando à perda urinária da proteína carreadora de vitamina D. Níveis baixos de 25-OH-vitamina D também contribuem para o desenvolvimento de hiperparatiroidismo secundário, tanto diretamente quanto pela limitação do substrato para formação de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (Kumar et al., 2016).

Mesmo que a hiperfosfatemia se manifeste somente nos estágios mais tardios da DRC, a retenção do fósforo e a hiperfosfatemia são importantes gatilhos na patogênese do hiperparatiroidismo secundário, pois promovem a secreção do PTH. A resistência óssea à ação hipercalcêmica do PTH é outra causa potencial de hiperparatiroidismo com insuficiência renal. (KDOQI 2002; Martin e González, 2007; Wesseling-Perry e Salusky, 2017)

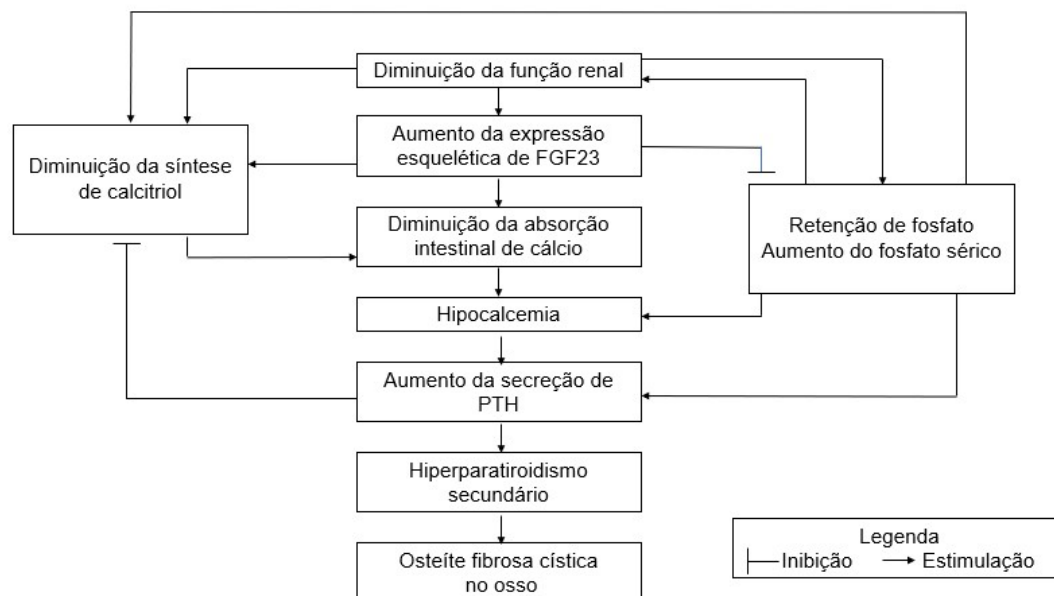


Figura 1. Representação diagramática da patogênese da osteodistrofia renal.

Modificada de Wessling-Perry e Salusky, 2017.

Como já descrito, o DMO-DRC se inicia precocemente no curso da doença renal e é associado a alterações tanto na morfologia como na função dos osteócitos. Estes representam mais de 90% de todas as células no tecido ósseo e são envolvidos pela matriz mineralizada em espaços repletos de fluídos denominados canalículos (Wang et al., 2005; Capulli et al., 2014).

A morfologia específica dos osteócitos permite seu funcionamento efetivo para direcionar o balanço entre as atividades osteoblástica e osteoclástica, e para regular o metabolismo mineral sistêmico quando necessário. Além disto, estas células são o local primário para a produção de vários fatores importantes para o metabolismo mineral e ósseo, incluindo FGF-23 e esclerostina, que funciona como regulador negativo da Wnt/ β catenina (Moysés e Schiavi, 2015).

Em condições fisiológicas a sinalização Wnt/ β catenina no osso tem ação anabólica. Em geral, este sistema está associado ao aumento da diferenciação e/ou função das células da linhagem dos osteoblastos e osteócitos. A ativação da via Wnt promove a diferenciação das células tronco mesenquimais em linhagem osteoblástica e aumenta a proliferação das células precursoras comprometidas com o osteoblasto. Sua ação ocorre pelos receptores transmembrana e co-receptores, e sua regulação é realizada por inibidores,

como por exemplo, a esclerostina. Na DRC tem-se observado acúmulo de esclerostina sérica com a piora da função renal, isto poderia ocorrer tanto pelo aumento da produção pelos osteócitos como pela diminuição do clearance renal de esclerostina. Os níveis elevados da esclerostina promoveriam uma baixa remodelação óssea com consequente perda da massa óssea ao longo do tempo (Schiavi, 2015).

Outro fator importante no metabolismo mineral e ósseo é o $\text{TNF-}\alpha$ que é uma citocina que regula vários processos celulares e biológicos como diferenciação e proliferação das células, apoptose e função imune. $\text{TNF-}\alpha$ tem efeito no metabolismo ósseo diminuindo a formação óssea pela inibição da diferenciação, maturação e atividade dos osteoblastos além de promover a reabsorção óssea pela ativação dos osteoclastos (Cope et al., 1997; Lee et al., 2010; Griffin et al., 2015).

Revisão da literatura

2 Revisão da Literatura

A *National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (NKF-K/DOQI) publicou em 2002 uma diretriz para DRC que incluía um sistema de classificação para gravidade da DRC, independentemente de sua causa. A definição de DRC é a presença de danos renais com achados patológicos, laboratoriais ou de imagem por período maior ou igual a 3 meses ou taxa de filtração glomerular menor do que 60 ml/min/1,73m² por período maior ou igual a 3 meses. Este sistema classifica a DRC em cinco estágios baseados no nível da taxa de filtração glomerular (TFG) conforme descrito no quadro 1 abaixo.

Quadro 1. Estágios da doença renal crônica de acordo com National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF-K/DOQI, 2002).

Estágio	Descrição	TFG (ml/min/1,73m ²)
1	Lesão renal com TFG normal ou elevada	≥ 90
2	Lesão renal com TFG levemente diminuída	60-89
3	Moderada diminuição da TFG	30-59
4	Grave diminuição da TFG	15-29
5	Falência renal	< 15 ou diálise

TFG: taxa de filtração glomerular

Esta classificação do K/DOQI não se aplica a crianças menores de dois anos de idade por apresentarem TFG menor. Os valores normais do adulto são alcançados somente por volta de dois anos de idade. Além disso, crianças nascidas com anomalias estruturais graves são consideradas terem DRC não necessitando aguardar os três meses para este diagnóstico.

Em 2005, o *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO) questionou se o estágio 3 deveria ser subdividido em dois estágios devido ao risco maior de doença cardiovascular em pacientes com função renal menor (estágio 3b: TFG entre 30 a 44 ml/min/1,73m²) quando comparados àqueles com TFG entre 45 a 59 ml/min/1,73m² (estágio 3a) (Levey et al., 2005).

Em pediatria a DRC tem sua prevalência estimada em 84,6 casos por milhão da população de idade compatível (Collins et al., 2010). Em avaliações realizadas foram relatadas taxas de incidência de DRC em crianças mais

elevadas nos Estados Unidos, Nova Zelândia e Áustria (respectivamente 14,8; 13,6 e 12,4 por milhão de população); e taxas mais baixas no Japão. Quanto à prevalência da doença renal terminal na faixa pediátrica foi relatada taxa mais alta na Itália com 258 pacientes por milhão de população, embora neste levantamento consideraram também pacientes até 24 anos de idade (Warady e Chadha, 2007).

No Brasil há poucos estudos que mostrem a incidência e/ou prevalência da DRC, e estudos que mostram as causas de mortalidade nesta população são ainda mais escassos. Em trabalho de Koch Nogueira e colaboradores (2011) a prevalência estimada da DRC terminal em crianças no estado de São Paulo foi de 23,4 casos pmpic no ano de 2008. Outro estudo brasileiro avaliando a incidência e prevalência da DRC terminal em tratamento dialítico na faixa pediátrica em 2012 encontrou taxa de incidência de seis e prevalência de 20 casos pmpic (Konstantyner et al., 2015). Há vários fatores que influenciam a variabilidade da prevalência da DRC na infância como a distribuição étnica e racial, o tipo de doença renal prevalente na população e a qualidade dos cuidados médicos disponíveis para a população com impacto importante no resultado destes pacientes (Warady e Chadha, 2007).

A DRC em crianças é uma doença grave e sua taxa de mortalidade na doença renal terminal em diálise está entre 30 e 150 vezes a taxa de mortalidade para a população geral pediátrica; e a expectativa de vida para crianças até os 14 anos que estejam em diálise é de apenas 20 anos (USRDS, 2004). A principal causa de mortalidade na DRC é a doença cardiovascular, que resulta de vários fatores, dentre eles o distúrbio mineral de osso da DRC.

Os rins têm papel central no equilíbrio mineral e ósseo. Regulam o metabolismo de cálcio, fósforo e magnésio, participam do catabolismo do PTH, e sintetizam a $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ou calcitriol que é o metabólito ativo da vitamina D. Acompanhando a progressão da DRC são observadas alterações no metabolismo do cálcio, fósforo, FGF-23 e vitamina D, com elevação do PTH, o que contribui para o desenvolvimento do hiperparatireoidismo secundário. Distúrbios na regulação do metabolismo mineral ocorrem precocemente na DRC, resultando em alterações na modelação e remodelação óssea e no crescimento (Wesseling-Perry e Salusky, 2012).

A remodelação óssea é um processo dinâmico que se inicia nos estágios precoces da embriogênese e permanece ao longo de toda a vida; é controlado rigorosamente pelos osteoblastos, construtores ósseos, e pelos osteoclastos que reabsorvem o osso. O tecido ósseo é composto pela matriz mineral, que fornece rigidez e força, e pela matriz orgânica, com colágeno como seu principal componente, permitindo dureza e maleabilidade do tecido (Becerikli et al., 2017).

Durante o desenvolvimento e crescimento, o esqueleto é esculpido para adquirir sua forma e tamanho pela remoção do osso de um local e deposição em outro diferente. Este processo é chamado de modelação. Após o esqueleto alcançar a maturidade, a regeneração continua com a remoção do osso velho que é substituído por osso novo no mesmo local, este processo é chamado de remodelação. A remodelação óssea é responsável pela integridade mecânica do esqueleto e a manutenção da homeostase de cálcio e fósforo. A remoção óssea pela reabsorção é tarefa dos osteoclastos e a formação do novo osso é papel dos osteoblastos. Ambos os processos são controlados pelos osteócitos (Manolagas e Parfitt, 2010; Chapurlat e Confavreux, 2016).

A definição de doença mineral óssea da DRC (DMO-DRC) incorpora elementos do metabolismo mineral alterado, composição e estrutura óssea alterada e calcificação extra óssea (Moe et al., 2006; Moe e Drüeke, 2008).

DMO-DRC é um distúrbio sistêmico do metabolismo mineral e ósseo decorrente da DRC e se manifesta por uma ou pela combinação das seguintes alterações: anormalidades do metabolismo de cálcio, fósforo, PTH ou vitamina D; anormalidades na remodelação, mineralização, volume, crescimento linear ou força ósseos; calcificação vascular ou de outros tecidos moles (Moe et al., 2006).

Vale ressaltar que na criança o DMO-DRC difere da forma vista em adultos, pois as deformidades ósseas, o crescimento ósseo linear anormal e a velocidade de crescimento são problemas específicos na faixa etária pediátrica (Kuisson e Salusky, 1999).

A DRC está associada a anormalidades eletrolíticas, sendo uma delas a hiperfosfatemia, que atinge aproximadamente 70% dos pacientes sendo relacionada com a osteodistrofia renal e a calcificação metastática (Block et al., 1998; Llach, 1999; Block e Port 2000; Hsu e Chertow, 2002).

A osteodistrofia renal pode se desenvolver nos estágios iniciais de perda de função renal. Quando o ritmo de filtração glomerular cai 50% do normal, mais do que 50% dos pacientes apresentam histologia óssea alterada (Salusky, 1995).

O KDIGO definiu osteodistrofia renal como sendo patologia óssea específica encontrada em pacientes com DRC (Moe et al., 2006). É um dos componentes do distúrbio mineral ósseo que ocorre como complicação da DRC. A osteodistrofia renal representa uma gama de lesões ósseas, cujo padrão histológico específico pode variar durante a evolução da DRC e também como consequência das terapêuticas utilizadas. As doenças ósseas são classificadas de acordo com as alterações na remodelação óssea, variando de alta taxa de remodelação óssea (com níveis elevados de PTH, ou seja, hiperparatireoidismo e osteíte fibrosa) até baixa taxa de remodelação óssea (com níveis normais ou baixos de PTH) caracterizada por doença óssea adinâmica e osteomalácia (Martin et al., 2004; Wesseling-Perry e Salusky, 2012). A avaliação e diagnóstico definitivos de osteodistrofia renal requer a biópsia óssea, que fornece informação sobre a aparência e dinâmica da formação e mineralização óssea. A histomorfometria não é essencial para o diagnóstico clínico, mas deve ser realizada em estudos de pesquisa e em situações clínicas específicas (por exemplo, presença de fraturas patológicas), utilizando-se a nomenclatura recomendada pela American Society for Bone and Mineral Research. Para classificar a osteodistrofia renal são utilizados 3 descritores histológicos: remodelação, mineralização e volume ósseo (sistema TMV do inglês *turnover, mineralization, volume*). A classificação TMV proporciona uma descrição clínica relevante da patologia óssea básica subjacente, acessada pela histomorfometria, que auxilia a definir a fisiopatologia e consequente terapia (Moe et al., 2006; Moe e Drüeke, 2008; Wesseling-Perry e Salusky, 2012).

Embora a biópsia óssea permaneça como padrão ouro para classificação histológica da osteodistrofia renal, ela não é realizada rotineiramente e tem indicações específicas como inconsistência entre os parâmetros bioquímicos, o que impede uma interpretação definitiva, presença de fraturas ou dores ósseas inexplicáveis, calcificação vascular progressiva grave, hipercalcemia persistente inexplicável, suspeita de intoxicação por

alumínio ou outros metais, antes da realização da paratiroidectomia ou do início do tratamento com bisfosfonatos (Moe et al., 2006). Desta forma, as dosagens séricas de PTH, fósforo e cálcio ionizado são as mais comumente utilizadas como índices do metabolismo mineral ósseo. Estes marcadores devem ser feitos rotineiramente no seguimento dos pacientes com DRC, uma vez que as anormalidades podem se desenvolver ou agravar, de acordo com a piora da função renal.

Nos pacientes com DRC, vários fatores contribuem para a manutenção de níveis altos de PTH e para a lesão de alta taxa de remodelação óssea, que engloba a osteíte fibrosa e a doença mista. Entre eles estão: hiperfosfatemia, hipocalcemia, produção diminuída de calcitriol, e resistência óssea à ação calcemiante do PTH (Chesney et al., 1982; Feinfeld e Sherwood, 1988).

Além dessas anormalidades ósseas, as calcificações extra ósseas são complicações bem conhecidas do DMO-DRC em pacientes com doença renal terminal mantidos em tratamento dialítico crônico. Os fatores de risco para o desenvolvimento de calcificações incluem: hiperparatireoidismo secundário, hiperfosfatemia, produto cálcio-fósforo (CaxP) elevado, uso de análogos da vitamina D e quelantes de fósforo que contenham cálcio (Miliner et al., 1990; Guerin et al., 2000; Goodman, 2001).

Uma vez que o cálcio e o fósforo na forma de hidroxiapatita são os blocos construtores do osso, é de se esperar que as desordens no metabolismo mineral estejam intimamente ligadas à doença óssea da DRC (Wesseling-Perry e Salusky, 2012).

Os níveis de cálcio sérico são controlados pela vitamina D ativa, pelo PTH, Klotho e calcitonina. A vitamina D ativa, ou 1,25 di-hidroxivitamina D, estimula a absorção intestinal de cálcio e facilita sua incorporação pelo osso. O PTH aumenta o cálcio sérico, por promover atividade da enzima 1α -hidroxilase renal, aumentando desta forma a produção da vitamina D ativa. Além disso, o PTH diminui a excreção renal de cálcio e tem efeito variável no osso, dependendo do seu nível: em doses elevadas aumenta a reabsorção de cálcio e em doses mais baixas, a formação óssea. A calcitonina reduz o nível sérico de cálcio pela diminuição da reabsorção óssea mediada pelo osteoclasto (Shanahan et al., 2011).

Durante a progressão da DRC com diminuição da taxa de filtração glomerular, ocorre queda da atividade da 1α -hidroxilase renal e elevação do FGF-23 sérico (que é um inibidor direto da atividade da 1α -hidroxilase), levando a deficiência da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Esta, por sua vez, leva à hipocalcemia, que junto com a hiperfosfatemia estimula a secreção do PTH, ocasionando o hiperparatiróidismo secundário observado na DRC. O tratamento da hiperfosfatemia com quelantes à base de cálcio pode induzir posterior elevação do cálcio em alguns indivíduos. (Kestenbaum e Belozeroff, 2007).

2.1 Fator de Crescimento do Fibroblasto-23 (FGF-23)

O FGF-23 é um hormônio polipeptídeo composto por 251 aminoácidos (32 kD) secretado pelos osteócitos. Pode ser encontrado em menor proporção nos osteoblastos, na glândula paratiroide, nos ovários e testículos, no coração e em alguns sítios do sistema nervoso central como hipotálamo, hipocampo, córtex, núcleo talâmico ventrolateral, por exemplo. Sua remoção é realizada pelos rins. O FGF-23 intacto é clivado em fragmentos inativos N e C-terminais por um processo proteolítico. Sua degradação tem efeito regulador em sua atividade biológica, pois o fragmento C-terminal pode ter efeito inibitório na ação do FGF-23 intacto (Liu e Quarles, 2007; Wolf e White, 2014; Haffner e Leifheit-Nestler, 2017). Suas ações no metabolismo mineral incluem o aumento na excreção renal de fósforo e redução da síntese renal da vitamina D ativa. O aumento da excreção de fósforo decorre da diminuição da atividade e da expressão de transportadores de fósforo sódio-dependentes localizados na membrana apical do túbulo proximal. O FGF-23 induz redução da síntese renal da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ e também estimula a sua degradação via citocromo P450. Além disso, o FGF-23 atua ainda nos rins, estimulando a reabsorção tubular distal de sódio e cálcio e a supressão da transcrição da enzima de conversão da angiotensina 2 (Dai et al., 2012; Haffner e Leifheit-Nestler, 2017).

FGF23 é um hormônio fosfatúrico que se eleva precocemente na DRC, mesmo antes que qualquer alteração nos níveis séricos de cálcio, fósforo ou PTH sejam aparentes. (Gutierrez et al., 2005; Portale et al., 2014).

O FGF-23 tem efeito fisiológico importante na manutenção da homeostase do fósforo; mas quando seus níveis estão elevados passa a ser um fator de risco para a mortalidade e doença cardiovascular. Vários trabalhos em pacientes com DRC mostram a associação entre os níveis elevados de FGF-23 e enrijecimento arterial, assim como alteração na dilatação fluxo mediada, aterosclerose e hipertrofia de ventrículo esquerdo (Yilmaz et al., 2010, Faul et al., 2011; Seeherunvong et al., 2012, Srivaths et al., 2014).

A produção do FGF-23 pelos osteócitos é regulada pela $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ e pela carga de fósforo, e sua síntese sofre também influência de outros fatores como cálcio, PTH, sistema renina angiotensina aldosterona (RAAS) e estresse oxidativo. (Shimada et al., 2005; Rodriguez-Ortiz et al., 2012; Haffner e Leifheit-Nestler, 2017).

A ação do FGF-23 é realizada por sua ligação aos receptores do FGF e co-receptor Kloto, que é uma proteína transmembrana tipo I e, de acordo com sua expressão em tecidos específicos, determinará os efeitos do FGF-23 (Kurosu et al., 2006).

O Kloto está expresso nas glândulas paratiroides, células tubulares renais e plexo coroide (Kuro-o et al., 1997; Haffner e Leifheit-Nestler, 2017) e os receptores FGF estão expressos abundantemente no coração, vasos e sistema nervoso central (Powers et al., 2000; Haffner e Leifheit-Nestler, 2017).

Na DRC encontramos níveis muito elevados de FGF-23 e deficiência de seu co-receptor Kloto. A elevação do FGF-23 sérico é a primeira alteração metabólica detectável em pacientes com DRC (Portale et al., 2014). Conforme ocorre o declínio da taxa de filtração glomerular, há aumento progressivo dos níveis séricos do FGF-23 e diminuição da capacidade renal de excretar fósforo, com consequente hiperfosfatemia (Hu et al., 2013; Portale et al., 2014).

2.2 Esclerostina

O sistema de sinalização celular Wnt é responsável pela diferenciação das células mesenquimais precursoras de osteoblastos. O complexo formado pelas proteínas do sistema Wnt e receptores transmembrana [*frizzles*, *low-density lipoprotein receptor-related* 5 e 6 (LRP5 e LRP6)] liberam a beta-catenina que em nível celular nuclear ativa a expressão de genes que promovem a diferenciação específica para osteoblastos (Tamai et al., 2000).

Os osteócitos secretam a esclerostina para manter inibição da formação óssea, que é suspensa quando forças mecânicas são aplicadas sobre o osso, iniciando-se então a formação óssea na superfície do osso (Manolagas e Parfitt 2010).

A esclerostina, secretada pelos osteócitos, liga-se à proteína mineral óssea (BMP), inibindo a proliferação e diferenciação dos osteoblastos. É uma regulação negativa da formação óssea e seu aumento está relacionado à osteopenia por diminuição desta formação.

2.3 Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α)

TNF- α é uma citocina pró-inflamatória envolvida na remodelação óssea. Classicamente, seu principal papel na regulação da homeostase óssea é estimular a osteoclastogênese e inibir a função do osteoblasto. É produzida principalmente por monócitos como uma proteína transmembrana que é clivada a uma forma solúvel. Ambas as formas são biologicamente ativas e se ligam ao receptor do TNF. Sua ligação com o receptor 1TNF inicia a sinalização apoptótica pela ativação vários fatores como caspases e NF κ B, levando à transcrição de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e moléculas antiapoptóticas (Osta et al., 2014).

A remodelação é regulada por diversas células, como osteoclastos, osteoblastos e osteócitos. A remodelação contínua evita e remove micro lesões relacionadas ao desgaste e permite a adaptação da estrutura e da massa ósseas. O número e atividade de osteoclastos e osteoblastos são determinados por múltiplos fatores, como hormônios, citocinas e moléculas produzidas

localmente, sob a influência de estímulos mecânicos. Entre estes fatores está o $\text{TNF-}\alpha$ que tem grande efeito em osteoblastos e osteoclastos. O $\text{TNF-}\alpha$ suprime a diferenciação osteoblástica e a formação óssea pela ativação dos inibidores da via Wnt [esclerostina e proteína relacionada a Dickkopf 1 (DKK1)], e acelera a reabsorção óssea pelo aumento da expressão do receptor ativador do ligante de NF- κ B (RANKL). (Osta et al., 2014).

Objetivos

3 OBJETIVOS

- 1- Avaliar os parâmetros do metabolismo mineral (cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, 25OH vitamina D) e marcadores do metabolismo ósseo (PTH, FGF-23, Esclerostina e TNF- α) de pacientes pediátricos com DRC em tratamento conservador.
- 2- Investigar as correlações desses parâmetros entre si e com a função renal de pacientes pediátricos com DRC em tratamento conservador.

Casuística e Métodos

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

Estudo observacional e transversal onde foi utilizada uma amostra de conveniência composta por crianças e adolescentes com DRC que são acompanhados no ambulatório de tratamento conservador e diálise peritoneal do Setor de Nefrologia Pediátrica da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-Unifesp), por pelo menos três meses. A coleta de dados foi realizada entre maio de 2015 e março de 2016.

4.1 Critérios de inclusão

Idade entre 6 e 18 anos, *Clearance* de creatinina $< 90 \text{ ml/min/1,73m}^2$, ou seja, estágios 2, 3a, 3b, 4 e 5 não dialítico da DRC segundo o KDIGO (2012).

4.2 Critérios de exclusão

Crianças menores de 6 anos e adolescentes maiores de 18 anos. Pacientes com doenças cardíacas congênitas, neoplásicas, infecciosas ou inflamatórias. Estar em tratamento dialítico.

Das 50 crianças e adolescentes com DRC que preenchiam os critérios de inclusão, 3 recusaram o convite de participação e 3 não compareceram para a realização dos exames e avaliação antropométrica. Quarenta e quatro pacientes participaram da coleta de dados para o estudo.

4.3 Avaliação clínica e física

A avaliação das medicações em uso foi feita por levantamento dos dados de prontuário.

As medidas antropométricas (peso e estatura) foram realizadas por um único observador (nutricionista). Os pacientes foram pesados com roupas íntimas, sem sapatos em uma balança eletrônica (Filizola®, SP, Brasil) e medidos em estadiômetro fixado à parede. As medidas de peso e estatura foram utilizadas para o cálculo do *score z* de índice de massa corpórea (zIMC)

e escore z de estatura/idade (zE/I), seguindo o padrão de referência e a preconização da Organização Mundial da Saúde (World Health Organization, 2006). O índice de massa corporal (IMC) foi calculado como peso dividido pela estatura ao quadrado (kg/m^2).

4.4 Pressão arterial

Para verificação da pressão arterial foi utilizado aparelho digital (Dixtal®, SP, Brasil), que foi confirmada por método auscultatório com o paciente em repouso por 3-5 minutos. Utilizou-se manguito adequado (largura e comprimento) à circunferência do braço no ponto médio entre o olécrano e acrômio. A pressão arterial foi classificada segundo a Diretriz de Prática Clínica para Triagem e Controle da Pressão Arterial Elevada em Crianças e Adolescentes (Flynn et al., 2017) (Quadro 2).

Quadro 2. Classificação da pressão arterial para crianças e adolescentes.

	Crianças de 1 a 13 anos	Crianças acima de 13 anos
Normal	< percentil 90	PA <120/<80mmHg
Elevada	≥ percentil 90 e < percentil 95 ou entre 120/80 mmHg e percentil 95 (o que for menor)	PA entre 120/<80 e 129/<80mmHg
Estágio 1	≥ percentil 95 e < percentil 95 + 12mmHg ou entre 130/80 e 139/89 (o que for menor)	PA entre 130/80 e 130/89
Estágio 2	≥ percentil 95 + 12mmHg ou ≥ 140/90mmHg (o que for menor)	PA ≥ 140/90

Adaptada do Practice Guideline for Screening and Management of High Blood Pressure in Children and Adolescents (Flynn et al., 2017).

4.5 Testes Laboratoriais

Foi coletada amostra de sangue em jejum de 12 horas para determinação dos níveis séricos de creatinina, ureia, ácido úrico, cálcio total e iônico, fósforo, fosfatase alcalina, albumina, proteína C reativa, magnésio, gasometria venosa, hemoglobina, PTH intacto, 25OH vitamina D, FGF-23, esclerostina e TNF- α .

PTH e vitamina D foram dosados por eletroquimioluminescência. Creatinina, ureia, ácido úrico, cálcio iônico e total, fósforo, fosfatase alcalina,

PCR (proteína C reativa), hemoglobina, albumina e magnésio foram dosados por método padrão do laboratório central do Hospital São Paulo – Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP/EPM), em equipamento Cobas® C 501 – Roche® Diagnostics, Indianapolis, IN, USA.

Os valores de referência destes exames estão no quadro 3.

Quadro 3. Valores de referência laboratoriais.

	Valor de referência
Cálcio total	8,6 a 10,2 mg/dL
Cálcio iônico	1,20 a 1,37 mmol/L
Fósforo	2,5 a 4,5 mg/dL
Fosfatase alcalina	6anos <269 U/L 7-12 anos < 300 U/L Meninas 13-17 anos < 187 U/L Meninos 13-17 anos < 390 U/L
PCR	Até 1,00 mg/L
Albumina	4 dias a 14 anos: 3,8 a 5,4 g/dL 14 a 18 anos: 3,2 a 4,5 g/dL
Magnésio	1,8 a 2,5 mg/dL
Vitamina D	> 30 ng/dL
Bicarbonato de sódio	23 a 27 mmol/L
Ácido úrico	2,4 a 5,7 mg/dL
Hemoglobina	12,0 a 15,5 g/dL
Ureia	10 a 50 mg/dL
PTH	15 a 65 pg/dL

PCR proteína C reativa; PTH paratormônio.

Os marcadores do metabolismo mineral e ósseo (FGF-23, esclerostina e TNF- α) foram dosados pela técnica de quantificação de conteúdo proteico – multiplex. Após a coleta, o sangue dos pacientes foi centrifugado e o plasma estocado em freezer -80°C. Os níveis proteicos de TNF- α , esclerostina e FGF-23 foram medidos empregando-se kits Milliplex® MAP (multi-analyte panels – Human Bone Magnetic Bead Panel - HBNMAG-51K, EMD Millipore Corporation, Darmstadt, Alemanha), baseado na tecnologia Luminex™ xMAP, de acordo com as instruções do fabricante (Magpix ® System – tecnologia Luminex™ xMAP (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha).

Neste teste os limites para detecção dos analitos foram: TNF- α : 0,4 pg/ml, esclerostina: 31,1 pg/ml e FGF-23: 9,2 pg/ml.

O *clearance* de creatinina foi estimado pela da fórmula de Schwartz (1976) e a população em estudo foi agrupada de acordo com os estágios da DRC segundo o KDIGO da seguinte maneira grupo 2/3a, grupo 3b e grupo 4/5, de acordo com os dados de semelhança dos grupos.

Hiperparatiroidismo e hiperfosfatemia foram definidos de acordo com o K/DOQI (2008), nos diferentes estágios da DRC (Quadros 4 e 5).

Quadro 4. Valores alvo do PTH de acordo com estágios da DRC recomendados por K/DOQI (2008).

Estágio da DRC	Alvo do PTH intacto (pg/mL)
2 e 3	35 – 70
4	70 – 110
5	200 – 300

Quadro 5. Valores de fósforo de acordo com a idade recomendado por K/DOQI (2008).

Idade	Fósforo (mg/dL)
6 – 12 anos	3,6 – 5,8
13 – 20 anos	2,3 – 4,5

4.6 Análise Estatística

As variáveis contínuas foram expressas como média $\pm$ desvio padrão ou mediana e intervalos interquartis quando não se apresentaram normalmente distribuídas. Variáveis categóricas foram expressas como frequência absoluta e porcentagens. Para a comparação dos valores médios (medianos) dos parâmetros clínicos, demográficos e exames laboratoriais entre os estágios da DRC foi utilizado análise de variância com um fator (ONEWAY ANOVA) ou teste de Kruskal-Wallis conforme a distribuição da variável.

Para a análise estatística das variáveis FGF-23, esclerostina e TNF- α , os valores individuais foram transformados em função logaritmo natural para assim satisfazer a suposição de normalidade, e então foi utilizada análise de regressão linear simples e múltipla para determinar associações entre os parâmetros bioquímicos e marcadores do metabolismo ósseo. Variáveis que apresentaram valor de p de até 15% ($p < 0,15$) foram incluídas no modelo de regressão múltipla.

Em toda análise estatística foi adotado um nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$), ou seja, foram considerados como estatisticamente significantes os resultados que apresentaram valor de p menor do que 5% ($p<0,05$). As análises foram realizadas no STATA/SE 14.2 for Windows (StataCorp, CollegeStation, TX).

4.7 Considerações éticas

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIFESP (CEP número 2130/11).

Foram explicadas aos pais, às crianças e aos adolescentes as razões da pesquisa, seus exames, objetivos, e o termo de consentimento livre esclarecido e termo de assentimento, quando pertinentes, foram obtidos de todos os participantes e seus responsáveis.

Resultados

5 RESULTADOS

A média de idade dos 44 participantes foi de 11,7 anos (desvio padrão = 3,4 anos), 30 eram do sexo masculino (68,2%) e estavam assim distribuídos de acordo com os estágios da DRC: 10 (22,7%) pacientes no estágio 2, 8 (18,2%) no estágio 3a, 11 (25%) no estágio 3b, 11 (25%) no estágio 4 e 4 (9,1%) pacientes no estágio 5 (sem diálise). A pressão arterial foi classificada como normal em 50% do total dos pacientes, 60% dos pacientes que se encontram nos estágios 4 e 5 da DRC foram classificados como tendo hipertensão estágio 1.

A Tabela 1 apresenta as características clínicas e demográficas das crianças e adolescentes de acordo com o estágio da DRC de onde se pode observar que, com exceção da etiologia da doença, as crianças e adolescentes não se diferenciaram entre as categorias da DRC ($p>0,05$). Para a etiologia da doença pode-se verificar que, enquanto para os estágios 3b, 4 e 5 houve uma maior porcentagem de crianças e adolescentes com uropatia, para o estágio 2 e 3a houve maior porcentagem de outras etiologias ($p=0,037$).

Tabela 1. Características gerais clínicas e demográficas das crianças e adolescentes de acordo com estágio da DRC.

Características	Total (n=44)	Estágio da DRC			p
		2 e 3a (n=18)	3b (n=11)	4 e 5 (n=15)	
Sexo					0,512
Masculino (%)	68,2	77,8	63,6	60,0	
Idade					0,451
Média±desvio padrão	11,7 ± 3,4	12,4 ± 3,5	11,5 ± 3,5	10,9 ± 3,3	
Raça					0,722
Branca (%)	65,9	72,2	63,6	60,0	
Etiologia da DRC (%)					0,037
Uropatia	61,4	38,9	90,9	66,7	
Glomerulopatia	4,5	5,5	0,0	6,6	
Outros	34,1	55,6	9,1	26,7	
Tempo de DRC (anos)					0,393
Mediana (P25%; P75%)	5,0 (2,5; 9,0)	3,0 (1,0; 9,0)	5,0 (3,0; 9,0)	6,0 (3,0; 11,0)	
Mínimo; Máximo	0,5; 16,0	0,5; 11,0	2,0; 12,0	0,5; 16,0	
z-estatura para idade					0,143
Mediana (P25%; P75%)	-1,0 (-2,6; -0,1)	-0,6 (-2,2; 0,4)	-0,8 (-2,4; -0,3)	-1,5 (-3,3; -0,7)	
Mínimo; Máximo	-7,3; 2,6	-7,3; 1,7	-3,1; 2,6	-4,2; 0,4	
z-IMC para idade					0,961
Mediana (P25%; P75%)	-0,7 (-1,3; 0,6)	-0,6 (-1,7; 2,1)	-0,6 (-1,5; 0,8)	-0,8 (-1,1; 0,3)	
Mínimo; Máximo	-5,6; 3,1	-5,6; 3,1	-1,7; 1,6	-2,2; 1,6	
Pressão Arterial					0,108
Normal	50,0	61,1	54,5	33,3	
Elevada	9,1	11,1	9,1	6,7	
Hipertensão estágio 1	36,4	27,8	18,2	60,0	
Hipertensão estágio 2	4,5	0,0	18,2	0,0	

DRC doença renal crônica, z-IMC escore z índice de massa corpórea.

A Tabela 2 reúne os exames laboratoriais de acordo com o estágio da DRC, pode-se observar que cálcio total, cálcio iônico, fosfatase alcalina, PCR, albumina, bicarbonato (HCO_3) e vitamina D não apresentaram diferença significativa quanto à mediana entre os estágios da DRC ($p>0,05$). Além disso, também pode-se observar que:

- ✓ pacientes nos estágios 4 e 5 apresentaram maior mediana de ureia quando comparado à apresentada pelos demais estágios ($p<0,001$);
- ✓ a mediana de creatinina para pacientes nos estágios 4 e 5 foi estatisticamente maior do que a apresentada pelos demais estágios ($p<0,001$);
- ✓ *clearance* de creatinina diferenciou de forma significativa os estágios da DRC ($p<0,001$), sendo que pacientes classificados como estágios 2 e 3a apresentaram maior valor mediano quando comparado aos demais;
- ✓ a mediana dos valores séricos de ácido úrico foi menor entre os pacientes com estágios 4 e 5 quando comparado aos demais estágios ($p=0,006$);
- ✓ pacientes nos estágios 4 e 5 apresentaram maior mediana de níveis séricos de fósforo quando comparado à apresentada pelos demais estágios ($p=0,029$);
- ✓ pacientes no estágio 3b apresentaram maior mediana de níveis séricos de hemoglobina quando comparados à apresentada pelos demais estágios ($p=0,027$);
- ✓ pacientes nos estágios 4 e 5 apresentaram maior mediana de níveis séricos de PTH quando comparado à apresentada pelos demais estágios ($p<0,001$), e
- ✓ pacientes nos estágios 4 e 5 apresentaram maior mediana de níveis séricos de magnésio quando comparado à apresentada pelos demais estágios ($p<0,001$).

Tabela 2. Exames laboratoriais das crianças e adolescentes de acordo com estágios da DRC.

	Total (n=44)	Estágio da DRC			P
		2 e 3a (n=18)	3b (n=11)	4 e 5 (n=15)	
Ureia					<0,001
Mediana (P25%;P75%)	59,5 (46; 94)	46 (39; 56)	63 (54; 79)	105 (86; 119)	
Mínimo; Máximo	25; 187	25; 91	39; 100	44; 187	
Creatinina					<0,001
Mediana (P25%;P75%)	1,5 (1,0; 2,4)	0,9 (0,8; 1,0)	1,4 (1,3; 1,6)	3,0 (2,2; 3,9)	
Mínimo; Máximo	0,6; 4,7	0,6; 1,5	1,2; 1,8	1,7; 4,7	
Clearance de Creatinina					<0,001
Mediana (P25%;P75%)	41,0 (23,5; 57,3)	64,5 (51,7; 75,7)	39,5 (38,7; 43,0)	15,8 (13,0; 24,3)	
Mínimo; Máximo	11,9; 81,4	45,0; 81,4	36,6; 44,9	11,9; 27,8	
Ácido úrico					0,006
Mediana (P25%;P75%)	5,5 (5,0; 6,3)	5,8 (5,0; 6,4)	6,3 (5,5; 6,8)	5,0 (4,4; 5,5)	
Mínimo; Máximo	4,2; 8,3	4,2; 8,3	5,0; 8,0	4,2; 7,5	
Cálcio Total					0,208
Mediana (P25%;P75%)	9,7 (9,4; 10,0)	9,7 (9,5; 10,0)	9,9 (9,6; 10,2)	9,4 (9,1; 10,1)	
Mínimo; Máximo	6,4; 10,4	9,0; 10,3	9,5; 10,4	6,4; 10,2	
Cálcio Iônico					0,939
Mediana (P25%;P75%)	1,20 (1,18; 1,25)	1,20 (1,18; 1,25)	1,20 (1,18; 1,25)	1,20 (1,18;1,25)	
Mínimo; Máximo	1,05; 1,45	1,13; 1,35	1,10; 1,30	1,05; 1,45	
Fósforo					0,029
Mediana (P25%;P75%)	4,7 (4,2; 5,2)	4,5 (4,1; 4,8)	4,7 (3,8; 4,9)	5,3 (4,6; 5,6)	
Mínimo; Máximo	3,5; 8,3	3,5; 5,9	3,5; 6,3	3,9; 8,3	

Tabela 2(cont.). Exames laboratoriais das crianças e adolescentes de acordo com DRC.

Exames	Total (n=44)	Estágio da DRC			P
		2 e 3a (n=18)	3b (n=11)	4 e 5 (n=15)	
Fosfatase Alcalina					0,507
Mediana	236,5 (180,0;	230,0 (142,0;	238,0 (164,0;	237,0 (209,0;	
(P25%;P75%)	277,5)	270,0)	277,0)	298,0)	
Mínimo; Máximo	63; 456	63; 408	89; 285	106; 456	
PCR					0,075
Mediana	0,90 (0,6;	1,15 (0,85;	1,07 (0,6;	0,60 (0,60;	
(P25%;P75%)	2,0)	3,03)	4,46)	1,38)	
Mínimo; Máximo	0,6; 147,6	0,6; 147,6	0,6; 43,28	0,6; 13,28	
Albumina					0,221
Mediana	4,5 (4,2; 4,7)	4,6 (4,3; 4,7)	4,7 (4,2; 4,8)	4,4 (3,9; 4,6)	
(P25%;P75%)					
Mínimo; Máximo	0,7; 5,1	3,9; 5,0	4,1; 5,0	0,7;5,1	
Hemoglobina					0,027
Mediana	12,5 (11,2;	12,4 (11,8;	14,1 (12,3;	12,4 (10,4;	
(P25%;P75%)	13,9)	14,0)	14,4)	12,9)	
Mínimo; Máximo	7,0; 15,8	7,0; 15,8	11,2; 15,3	9,4; 13,8	
HCO₃					0,214
Mediana	23,5 (22,0;	23,8 (21,8;	24,0 (23,3;	23,1 (18,8;	
(P25%;P75%)	25,6)	25,6)	26,3)	23,9)	
Mínimo; Máximo	13,9; 29,9	17,2; 29,9	21,0; 29,8	13,9; 28,1	
PTH					<0,001
Mediana	80,2 (52,3;	52,1 (30,8;	80,0 (55,0;	181,8 (118,0;	
(P25%;P75%)	129,8)	82,0)	83,3)	415,8)	
Mínimo; Máximo	13,5; 580,8	13,5; 187,3	48,3; 93,1	62,4; 580,8	
PTH					0,008
Alto (%)	59,1	33,3	63,6	86,7	
Vitamina D					0,170
Mediana	28,2 (20,0;	25,0 (20,5;	41,3 (24,2;	29,2 (11,3;	
(P25%;P75%)	40,7)	38,7)	46,1)	33,0)	
Mínimo; Máximo	3,0; 85,8	14,0; 55,0	19,9; 85,8	3,0; 55,0	
Vitamina D					0,441
Suficiente (%)	45,5	38,9	63,6	40,0	
Magnésio					0,005
Mediana	2,1 (1,9; 2,2)	1,9 (1,8; 2,1)	2,0 (1,9; 2,1)	2,3 (2,1; 2,5)	
(P25%;P75%)					
Mínimo; Máximo	1,3; 2,9	1,3; 2,4	1,6; 2,3	1,8; 2,9	

DRC doença renal crônica, PCR proteína C reativa, HCO₃ bicarbonato, PTH hormônio paratiroideano.

A Tabela 3 apresenta as medidas descritivas dos níveis plasmáticos de FGF-23, esclerostina e TNF- α de acordo com o estágio da DRC. De acordo com as medidas da Tabela 3 pode-se observar que não houve diferença estatisticamente significativa entre os estágios da DRC para as medianas de FGF-23 e de esclerostina ($p>0,05$). Ou seja, apesar da mediana de ambos os marcadores para pacientes nos estágios 2 e 3a apresentarem valores menores do que os observados para os demais estágios o teste estatístico não foi capaz de evidenciar tal diferença.

A mediana do TNF- α de pacientes nos estágios 4 e 5 foi estatisticamente maior do que a apresentada pelos demais estágios ($p<0,001$).

Tabela 3. Descrição das 44 crianças e adolescentes de acordo com marcadores do metabolismo ósseo e estágio da DRC.

	Total (N=44)	Estágio Doença Renal Crônica			p
		2 e 3a (N=18)	3b (N=11)	4 e 5 (N=15)	
FGF-23					0,168
Mediana (P25%; P75%)	46,5 (37,0; 60,1)	39,8 (35,1; 46,5)	52,3 (44,6; 60,1)	50,4 (35,1; 79,8)	
Mínimo; Máximo	31,3; 261,2	31,3; 141,5	40,8; 261,2	31,3; 237,8	
Esclerostina					0,341
Mediana (P25%; P75%)	1.923 (1.206; 2.929)	1.418 (853; 2.929)	2.211 (1.598; 3.026)	1.819 (1.315; 2.929)	
Mínimo; Máximo	484; 5.921	484; 5.921	563; 5.034	683; 3.409	
TNF-α					<0,001
Mediana (P25%; P75%)	4,34 (3,22; 6,44)	3,22 (2,63; 4,73)	3,94 (3,55; 4,86)	6,83 (5,46; 8,27)	
Mínimo; Máximo	1,53; 11,91	1,53; 5,78	2,01; 9,90	3,84; 11,91	

DRC doença renal crônica; FGF-23 fator de crescimento de fibroblasto-23; TNF- α fator de necrose tumoral alfa

5.1 Determinantes do FGF-23

A Tabela 4 apresenta os resultados da análise univariada, isto é, foi construído um modelo de regressão linear simples tendo como variável resposta o FGF-23 e como variável dependente cada uma das características clínicas, demográficas e exames laboratoriais.

Como a distribuição do marcador FGF-23 não se mostrou normalmente distribuída, os valores individuais de tal marcador foram transformados em função logaritmo natural (log), tal transformação foi necessária para satisfazer a suposição de normalidade que o modelo de regressão requer.

De acordo com a Tabela 4 pode-se verificar que apenas a fosfatase alcalina mostrou-se associada ao FGF-23 ($p=0,002$). Para a construção do modelo multivariado, isto é, regressão linear múltipla, selecionou-se, além da fosfatase alcalina as variáveis que apresentaram valores de $p<0,15$. Dessa forma selecionou-se: sexo, uso do alopurinol, creatinina e HCO_3^- . Após o ajuste da regressão múltipla, verificou-se que creatinina e fosfatase alcalina mostraram-se independentemente associadas ao FGF-23 (Tabela 5). Especificamente, para a interpretação dos coeficientes obtidos faz-se necessário voltar para a escala de medida original do FGF-23, dessa forma os coeficientes foram exponenciados e obteve-se que, quando a creatinina aumenta em 1 unidade, ocorre um acréscimo de 14% no FGF-23 ($p=0,026$), quando a fosfatase alcalina aumenta em uma unidade ocorre um decréscimo de 0,30% no FGF-23 ($p<0,001$).

Tabela 4. Análise de regressão simples do logaritmo natural de FGF-23.

Determinantes	Coefficiente Regressão	IC 95%	p
Mudança no log de FGF-23			
Feminino	0,29	-0,03; 0,61	0,077
Idade	0,03	-0,02; 0,07	0,201
Etiologia			0,842
Uropatia	referência		
Glomerulopatias	0,22	-0,55; 0,99	0,564
Outros	0,002	-0,33; 0,34	0,991
Tempo de DRC	-0,013	-0,051; 0,025	0,500
Estágio DRC			0,421
2 e 3a	referência		
3b	0,24	-0,15; 0,64	0,220
4 e 5	0,17	-0,19; 0,53	0,352
Uso de alopurinol	0,30	0,00; 0,61	0,050
Uso CaCO_3	0,19	-0,17; 0,55	0,287
Uso calcitriol	0,19	-0,35; 0,73	0,488
Uso colecalciferol	-0,07	-0,40; 0,25	0,652
Pressão arterial			0,193
Normal	referência		
Elevada	0,58	0,04; 1,13	0,036
Estágio 1	0,17	-0,16; 0,50	0,036
Estágio 2	0,18	-0,56; 0,92	0,626
Ureia	0,002	-0,003; 0,006	0,483
Creatinina	0,10	-0,03; 0,24	0,136
Ácido úrico	-0,072	-0,221; 0,076	0,330
Cálcio total	0,063	-0,178; 0,304	0,601
Cálcio iônico	0,189	-2,18; 2,56	0,873
Clearance de Creatinina	-0,0028	-0,0100; 0,0044	0,435
Fósforo	0,055	-0,12; 0,23	0,539
Hiperfosfatemia	0,034	-0,33; 0,39	0,849
Fosfatase Alcalina	-0,003	-0,004; -0,001	0,002
PCR	-0,003	-0,010; 0,003	0,337
Albumina	-0,034	-0,235; 0,168	0,738
HCO_3	0,035	-0,007; 0,078	0,103
PTH	0,0002	-0,0009; 0,0013	0,723
Vitamina D	-0,0048	-0,015; 0,0051	0,331
Magnésio	0,26	-0,25; 0,77	0,331

FGF-23 fator de crescimento de fibroblasto-23; DRC doença renal crônica; CaCO_3 carbonato de cálcio; PCR proteína C reativa; HCO_3 bicarbonato; PTH hormônio da paratiroide

Tabela 5. Análise de regressão múltipla para FGF-23.

Variáveis	Coefficiente	IC 95%	p
Creatinina	1,145	1,017; 1,289	0,026
Fosfatase alcalina	0,997	0,995; 0,999	<0,001

Obs: os coeficientes já foram exponenciados para permitir a interpretação.

5.2 Determinantes da Esclerostina

A Tabela 6 apresenta os resultados da análise univariada do ajuste de regressão entre a esclerostina e cada uma das características clínicas, demográficas e exames laboratoriais.

De acordo com a Tabela 6 pode-se verificar que apenas o magnésio mostrou-se associado à esclerostina ($p=0,047$).

Para a construção do modelo multivariado, selecionou-se, além do magnésio as variáveis que apresentaram valores de $p<0,15$. Dessa forma selecionou-se: uso de CaCO_3 e HCO_3 . Após o ajuste da regressão múltipla, verificou-se que o uso de CaCO_3 e o HCO_3 mostraram-se independentemente associados à esclerostina (Tabela 7). Especificamente, para a interpretação dos coeficientes obtidos faz-se necessário voltar para a escala de medida original da esclerostina, dessa forma os coeficientes foram exponenciados e obteve-se que, pacientes que usam CaCO_3 apresentam um aumento de 1,62 unidades na esclerostina ($p=0,025$), quando o HCO_3 aumenta em uma unidade ocorre um acréscimo de 5,7% na esclerostina ($p=0,034$).

Tabela 6. Análise de regressão simples do logaritmo natural de esclerostina.

Determinantes	Coefficiente Regressão	IC 95%	P
Mudança no log de esclerostina			
Feminino	-0,2204	-0,6320; 0,1912	0,286
Idade	0,0253	-0,0313; 0,0819	0,373
Etiologia			0,424
Uropatia	referência		
Glomerulopatia	0,2551	-0,6820; 1,1922	0,585
Outros	0,2601	-0,1517; 0,6719	0,209
Tempo de DRC	-0,0214	-0,0684; 0,0255	0,363
Tubulopatia	0,3499	-0,1701; 0,8700	0,182
Estágio da DRC			0,321
2 e 3a	referência		
3b	0,3624	-0,1237; 0,8485	0,140
4 e 5	0,1912	-0,2528; 0,6352	0,390
Uso Alopurinol	-0,0185	-0,4138; 0,3768	0,925
Uso CaCO ₃	0,4138	-0,0162; 0,8437	0,059
Uso Calcitriol	-0,0231	-0,6991; 0,6529	0,945
Uso Colecalciferol	0,0607	-0,3488; 0,4703	0,766
Pressão arterial			0,956
Normal	referência		
Elevada	0,0622	-0,6541; 0,7786	0,861
Estágio 1	-0,0965	-0,5295; 0,3365	0,655
Estágio 2	0,0408	-0,9325; 1,0141	0,933
Ureia	0,0014	-0,0042; 0,0069	0,621
Creatinina	0,0761	-0,0939; 0,2462	0,372
Ácido úrico	-0,0322	-0,2189; 0,1544	0,729
Cálcio total	-0,0640	-0,3636; 0,2355	0,668
Cálcio iônico	2,2782	-0,5797; 5,1361	0,115
Clearance de creatinina	-0,0044	-0,0133; 0,0046	0,330
Fósforo	-0,0272	-0,2513; 0,1969	0,808
Fosfatase Alcalina	-0,0002	-0,0024; 0,0021	0,878
PCR	-0,0041	-0,0126; 0,0044	0,338
Albumina	-0,1049	-0,3537; 0,1438	0,339
HCO ₃	0,0468	-0,0063; 0,1000	0,083
PTH	-0,0001	-0,0014; 0,0013	0,921
Vitamina D	0,0048	-0,0076; 0,0172	0,438
Magnésio	0,6202	0,0073; 1,2331	0,047

DRC doença renal crônica; CaCO₃ carbonato de cálcio; PCR proteína C reativa; HCO₃ bicarbonato; PTH hormônio da paratiroide

Tabela 7. Análise de regressão múltipla para esclerostina.

Variáveis	Coefficiente	IC 95%	p
uso de CaCO_3	1,616	1,065; 2,451	0,025
HCO_3	1,057	1,004; 1,112	0,034

Obs: os coeficientes já foram exponenciados para permitir a interpretação.

5.3 Determinantes do $\text{TNF-}\alpha$

A Tabela 8 apresenta os resultados da análise univariada do ajuste de regressão entre o $\text{TNF-}\alpha$ e cada uma das características clínicas, demográficas e exames laboratoriais.

De acordo com a Tabela 8 pode-se observar que as seguintes variáveis se mostraram estatisticamente associadas ao $\text{TNF-}\alpha$ estágio da DRC, uso de CaCO_3 , níveis séricos de ureia, creatinina, ácido úrico, fósforo e PTH, e *clearance* de creatinina ($p < 0,05$).

Para a construção do modelo multivariado, selecionou-se, além das variáveis que apresentaram significância estatística aquelas que apresentaram valores de $p < 0,15$. Dessa forma selecionou-se: etiologia da DRC, albumina e magnésio. Após o ajuste da regressão múltipla, verificou-se que apenas creatinina e uso de CaCO_3 , como quelante de fósforo, mostraram-se independentemente associadas ao $\text{TNF-}\alpha$ (Tabela 9). Especificamente, para a interpretação dos coeficientes obtidos faz-se necessário voltar para a escala de medida original do $\text{TNF-}\alpha$, dessa forma os coeficientes foram exponenciados e obteve-se que, pacientes que usam CaCO_3 , como quelante de fósforo, apresentaram aumento de 1,36 unidades no $\text{TNF-}\alpha$ ($p = 0,029$) e quando a creatinina aumenta em uma unidade ocorre um acréscimo de 1,23 unidades no $\text{TNF-}\alpha$ ($p < 0,001$).

Tabela 8. Análise de regressão simples do logaritmo natural de TNF- α .

Determinantes	Coefficiente Regressão	IC 95%	p
Mudança no log de TNF-α			
Feminino	0,156	-0,148; 0,461	0,306
Idade	-0,028	-0,069; 0,013	0,178
Etiologia			0,141
Uropatia	referência		
Glomerulopatia	0,330	-0,344; 1,004	0,329
Outros	-0,234	-0,012; 0,057	0,118
Tempo de DRC	0,023	-0,012; 0,057	0,189
Estágio da DRC			<0,001
2 e 3a	referência		
3b	0,198	-0,080; 0,476	0,158
4 e 5	0,695	0,441; 0,949	<0,001
Uso Alopurinol	0,057	-0,235; 0,348	0,697
Uso CaCO₃	0,548	0,263; 0,832	<0,001
Uso Calcitriol	-0,015	-0,515; 0,484	0,951
Uso Colecalciferol	0,168	-0,131; 0,466	0,263
Pressão arterial			0,268
Normal	referência		
Elevada	0,193	-0,313; 0,700	0,444
Estágio 1	0,297	-0,0086; 0,6036	0,057
Estágio 2	0,0016	-0,686; 0,690	0,996
Ureia	0,0080	0,0047; 0,0113	<0,001
Creatinina	0,257	0,158; 0,355	<0,001
Ácido úrico	-0,164	-0,293; -0,036	0,013
Cálcio total	-0,129	-0,347; 0,089	0,241
Cálcio iônico	0,280	-1,894; 2,455	0,796
Clearance de creatinina	-0,0146	-0,0195; -0,0097	<0,001
Fósforo	0,168	0,0110; 0,326	0,037
Fosfatase Alcalina	0,0001	-0,0015; 0,0018	0,862
PCR	-0,00009	-0,0065; 0,0063	0,976
Albumina	-0,174	-0,351; 0,0034	0,054
Hemoglobina	-0,081	-0,158; -0,0034	0,041
HCO₃	-0,0195	-0,060; 0,021	0,335
PTH	0,0017	0,0008; 0,0025	<0,001
Vitamina D	-0,00267	-0,0118; 0,0065	0,560
Magnésio	0,381	-0,079; 0,841	0,102

TNF- α fator de necrose tumoral alfa; DRC doença renal crônica; CaCO₃ carbonato de cálcio; PCR proteína C reativa; HCO₃ bicarbonato; PTH hormônio da paratiroide

Tabela 9. Análise de regressão múltipla para TNF- α .

Variáveis	Coefficiente	IC 95%	p
uso de CaCO₃	1,362	1,034; 1,794	0,029
creatinina	1,226	1,034; 1,794	<0,001

Obs: os coeficientes já foram exponenciados para permitir a interpretação.

Discussão

6 DISCUSSÃO

As anormalidades no metabolismo mineral e na estrutura óssea são achado quase universal com a progressão da DRC (KDOQI, 2005). As alterações do metabolismo mineral em crianças com DRC resultam em complicações significativas semelhantes àsquelas observadas em pacientes adultos (por exemplo, fraturas, dor óssea e necrose avascular) e outras que são exclusivas de crianças, como por exemplo, falência do crescimento e deformidades esqueléticas.

Muitas das complicações da DRC, incluindo a osteodistrofia renal, podem ser prevenidas ou retardadas por sua detecção e tratamento precoces. Como resultado, o desenvolvimento de novos exames laboratoriais do metabolismo ósseo-mineral é de fundamental importância para estes pacientes.

6.1 Hipertensão arterial

A hipertensão arterial sistêmica é um importante fator de risco para a progressão da DRC e para complicações cardiovasculares nestes pacientes. Estudos têm mostrado, tanto em adultos como em crianças com DRC, que o controle rigoroso da pressão arterial diminui a progressão da doença renal e reduz o risco de doença cardiovascular. (Wingen et al., 1997; Wühl e Schaefer, 2008; Wühl et al., 2009) A prevalência da hipertensão em crianças com DRC é alta mesmo quando a taxa de filtração glomerular está discretamente reduzida e aumenta com o declínio da função renal. A prevalência de hipertensão varia de 48 a 54% na população pediátrica com DRC. (Flynn et al., 2008; Kogon et al., 2014).

Em nossos achados, verificamos que pressão arterial foi classificada como normal em 50% dos pacientes. No entanto, 60% dos pacientes que se encontram nos estágios 4 e 5 da DRC foram classificados como tendo hipertensão estágio 1. Por outro lado, dos pacientes no estágio 3b, 18,2% apresentaram hipertensão estágio 2; mesmo em uso de medicação anti-hipertensiva. Este fato foi também descrito no trabalho de Flynn et al. (2008), observou-se que, em uma coorte de 586 crianças com DRC, 54% eram

hipertensas e destas 48% apresentavam hipertensão arterial não controlada mesmo com o uso de medicação.

6.2 Etiologia da DRC

Em levantamento do *North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study* (NAPRTCS) de 6.482 pacientes foi encontrada como causa principal da DRC a aplasia/hipoplasia/displasia renal na coorte inicial (de 1992 a 2001) e glomérulo esclerose segmentar e focal na coorte formada de 2002 a 2011. (Weaver et al., 2017). Em 2015 Doyon e colaboradores, avaliando uma coorte pediátrica mostraram que 74% desta população apresentava malformação do trato urinário como doença de base da DRC; resultado semelhante ao que encontramos em nossa população, em sua maioria tendo como etiologia as uropatias, ou seja, malformação do trato urinário.

6.3 Ácido Úrico

A hiperuricemia tem sido estudada em pacientes com DRC, por ter um papel importante na disfunção endotelial, inflamação e aterosclerose, e por ser um fator de risco cardiovascular modificável, como mostrado em diferentes estudos clínicos randomizados, onde o tratamento com alopurinol resultou na melhora da função endotelial e progressão da doença renal (Navaneethan e Beddhu, 2009; Madero et al., 2009; Jalal et al., 2013; Lai et al., 2014). Em nosso estudo, a mediana dos níveis séricos de ácido úrico foi menor entre os pacientes com estágio 4 e 5, quando comparada aos demais estágios ($p=0,006$); fato este devido, provavelmente, ao uso de alopurinol por estes pacientes.

6.4 PTH, Vitamina D, Fósforo e Magnésio

Observamos aumento progressivo dos níveis de PTH de acordo com a piora da função renal, e os valores de fósforo estavam mais elevados nos estágios 4 e 5 da DRC, ambos de acordo com o descrito por Doyon e

colaboradores (2015) ao avaliarem coorte de 556 crianças e adolescentes com doença renal, em que mostraram que a prevalência e gravidade da hiperfosfatemia e hiperparatireoidismo aumentavam com a diminuição da taxa de filtração glomerular.

De modo semelhante ao estudo de outros pesquisadores, os níveis séricos de 25(OH)D encontrados em nossos pacientes não apresentaram associação estatisticamente significativa com a função renal (Doyon et al., 2015).

Os pacientes nos estágios 4 e 5 apresentaram os maiores valores séricos de magnésio quando comparados aos demais estágios da DRC. A maior parte do magnésio é eliminada através da excreção renal e, com a perda da função renal, ocorre um balanço positivo de magnésio, sendo encontrados relatos de hipermagnesemia em adultos com *clearance* de creatinina mais baixos. Este fato, porém, não foi observado em avaliação de crianças em hemodiálise, onde os níveis de magnésio sérico mais baixos mostram correlação negativa com espessamento da íntima média de aorta. (Ohya et al., 2014; Zaher et al., 2016).

6.5 FGF-23, Esclerostina e TNF- α

Encontramos neste estudo a creatinina independentemente associada ao FGF-23 o que é consistente com a hipótese de que uma das causas do aumento do FGF-23 na DRC seja a diminuição do seu *clearance* renal, fato este também verificado por outros (Siomou et al., 2011; Portale et al., 2014).

Vários estudos, tanto na faixa pediátrica como em adultos, mostram aumento dos níveis de FGF-23 de acordo com a queda da taxa de filtração glomerular, podendo este aumento se iniciar precocemente nos estágios 2 ou 3 da DRC, o que estaria relacionado com a função do FGF-23 em manter da homeostase do fósforo dentro de parâmetros normais. (Fliser et al., 2007; Bacchetta et al., 2010; van Husen et al., 2010; Fischer et al., 2012; Doyon et al., 2015; Dhayat et al., 2016). Neste estudo, apesar dos valores de FGF-23 nos estágios 2/3a serem menores do que os observados nos outros estágios, não se encontrou diferença estatística. Além disso, em nosso estudo, não houve correlação entre o FGF-23 e os níveis de fósforo.

Correlação positiva entre FGF-23 e esclerostina tem sido descrita na doença renal crônica em tratamento conservador (Pelletier et al., 2013; Kanbay et al., 2014).

Estudo com crianças saudáveis mostrou que os níveis de esclerostina estavam mais elevados nos meninos quando comparado às meninas, havendo um declínio em ambos os sexos após o início da puberdade (Kirmani et al., 2012). Esta diferença entre os gêneros foi observada em coorte pediátrica com DRC (Doyon et al., 2015), não havendo, porém, alteração com a idade. Os nossos dados estão de acordo com os descritos por Doyon e colaboradores (2015), onde as meninas apresentaram níveis de esclerostina mais baixos que os meninos, independente da faixa etária.

Em pacientes adultos com DRC, os níveis de esclerostina se elevam com a perda da função renal (Pelletier et al., 2013; Morena et al., 2015; Behets et al., 2017). Estudo em camundongos com doença renal progressiva demonstrou aumento nos níveis de esclerostina ao início da doença renal, estando entretanto estes níveis diminuídos na doença renal terminal (Sabbagh et al., 2012). Neste mesmo estudo também foi avaliada a expressão da esclerostina em biópsias ósseas, porém, em humanos (normais, com DRC em tratamento conservador e em hemodiálise) e observou-se que a expressão estava alta nos indivíduos com DRC, diminuía substancialmente nos pacientes em hemodiálise comparados aos com DRC, mas estavam elevados em relação aos indivíduos normais (Sabbagh et al., 2012). Doyon e colaboradores (2015) observaram este mesmo comportamento dos níveis séricos de esclerostina em crianças. Os nossos dados, porém, diferem destes estudos, pois os níveis séricos de esclerostina não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os estágios da DRC em nossos pacientes.

Em modelo animal, Baek e colaboradores (2014) demonstraram que a ingestão de dieta rica em gordura aumentou os níveis de TNF- α em osteócitos e sérico, comparados com animais controle. Documentou também que o TNF- α induziu a expressão de esclerostina pela ativação de NF κ B, o qual se liga ao promotor do gene SOST, estimulando a transcrição de esclerostina. Além disso, a imunohistoquímica do tecido ósseo evidenciou maior intensidade de esclerostina nos animais com dieta rica em gordura. Nosso estudo não pode

corroborar este achado, uma vez que não encontramos correlação significativa entre TNF- α e esclerostina nos nossos pacientes.

Nosso estudo mostrou que o TNF- α estava independentemente associado à creatinina, o que é consistente com achados prévios em adultos, onde níveis séricos de TNF- α estavam associados à gravidade da DRC (Upadhyay et al., 2011; Gupta et al., 2012; Lee et al., 2015).

Observamos que o TNF- α se mostrou independentemente associado ao uso de carbonato de cálcio. Teorizamos que esta associação possa ser explicada pelo fato de o carbonato de cálcio ter sido utilizado nestes pacientes como quelante de fósforo. Desta forma, esta associação poderia estar expressando a presença de um passado de hiperfosfatemia.

Conclusões

7 CONCLUSÕES

Neste estudo em pacientes pediátricos com DRC em tratamento conservador, observamos que, de acordo com a progressão da DRC, há alteração dos parâmetros do metabolismo mineral e marcadores do metabolismo ósseo com a elevação dos níveis séricos de fósforo, PTH, magnésio, TNF- α , FGF-23 esclerostina.

Na avaliação do FGF-23 e da esclerostina, não foi possível evidenciar diferença estatística segundo os estágios da DRC.

Foi evidenciada associação do TNF- α e FGF-23 com piora da função renal.

Os fatores independentemente associados a FGF-23 foram a creatinina e a fosfatase alcalina; enquanto os associados a esclerostina foram bicarbonato sérico e o uso de carbonato de cálcio, utilizado como quelante de fósforo. Para o TNF- α foram encontrados como fatores independentemente associados a creatinina e o uso de carbonato de cálcio como quelante.

Há necessidade de se atentar para os distúrbios do metabolismo mineral e ósseo na faixa pediátrica dos pacientes com DRC, mesmo na fase pré-dialítica, com o intuito de intervir de maneira precoce e eficaz para a diminuição da morbi-mortalidade.

Referências Bibliográficas

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bacchetta J, Dubourg L, Harambat J, Ranchin B, Abou-Jaoude P, Arnaud S, et al. The influence of glomerular filtration rate and age on fibroblast growth factor 23 serum levels in pediatric chronic kidney disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95(4):1741-1748.

Baek K, Hwang HR, Park HJ, Kwon A, Qadir AS, Ko SH, et al.. TNF- α upregulates sclerostin expression in obese mice fed a high-fat diet. *Journal of Cellular Physiology.* 2014; 229:640-650.

Becerikli M, Jaurich H, Schira J, Schulte M, Döbele C, Wallner C, et al.. Age-dependent alterations in osteoblast and osteoclast activity in human cancellous bone. *J Cell Mol Med.* 2017; 21(11):2773-2781.

Behets GJ, Viaene L, Meijers B, Blocki F, Brandenburg VM, Verhulst A, et al.. Circulating levels of sclerostin but not DKK1 associate with laboratory parameters of CKD-MBD. *PLoS ONE.* 2017; 12(5):e0176411.

Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK. Association of serum phosphorus and calcium X phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am J Kidney Dis.* 1998; 31:607-617.

Block GA, Port FK. Re-evaluation of risks associated with hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in dialysis patients: recommendations for a change in management. *Am J Kidney Dis.* 2000; 35:1226 – 1237.

Capulli M, Paone R, Rucci N. Osteoblast and osteocyte: game without frontiers. *Arch Biochem Biophys.* 2014; 561:3-12.

Chapurlat RD, Confavreux CB. Novel biological markers of bone: from bone metabolism to bone physiology. *Rheumatology.* 2016; 55:1714-1725.

Chesney RW, Hamstra AJ, Mazzees RB, Rose P, DeLuca HF. Circulating vitamin D metabolite concentrations in childhood diseases. *Kidney Int.* 1982; 21:65-69.

Collins A, Foley R, Herzog C, Chavers B, Gilbertson D, Ishami A et al.. Excerpts from US Renal Data System 2009 Annual Data Report. *Am J Kidney Dis.* 2010; 55(1 Suppl 1):S1-420, A6-7.

Cope AP, Liblau RS, Yang XD, Congia M, Laudanna C, Schreiber RD, et al.. Chronic tumor necrosis factor alters T cell responses by attenuating T cell receptor signaling. *J Exp Med.* 1997; 185:1573-1584.

Dai B, David V, Martin A, Huang J, Li H, Jiao Y, et al.. A comparative transcriptome analysis identifying FGF23 regulated genes in the kidney of a mouse CKD model. *PLoS One.* 2012; 7:e44161.

Dhayat NA, Ackermann D, Pruijm M, Ponte B, Ehret G, Guessous I, et al.. Fibroblast growth factor 23 and markers of mineral metabolism in individuals with preserved renal function. *Kidney Int.* 2016; 90:648-657.

Doyon A, Fischer DC, Bayazit AK, Campolat N, Duzova A, Sözeri B, et al.. Markers of bone metabolism are affected by renal function and growth hormone therapy in children with chronic kidney disease. *PLoS ONE.* 2015; 10(2):e0113482. Doi:10.1371/journal.pone.0113482

Faul C, Amaral AP, Oskouei B, Hu MC, Sloan A, Isakova T, et al.. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest.* 2011; 121:4393-4408.

Feinfeld DA, Sherwood, LM. Parathyroid hormone and 1,25(OH)₂D₃ in chronic renal failure. *Kidney Int.* 1988; 33:1049-1058.

Fischer DC, Mischek A, Wolf S, Rahn A, Salweski B, Kundt G, et al.. Paediatric reference values for the C-terminal fragment of fibroblast-growth factor-23, sclerostin, bone-specific alkaline phosphatase and isoform 5b of tartrate-resistant acid phosphatase. *Ann Clin Biochem.* 2012; 49:546-553.

Fliser D, Kollerits B, Neyer U, Ankerst DP, Lhotta K, Lingenhel A, et al.. Fibroblast growth factor 23 (FGF23) predicts progression of chronic kidney disease: the Mild to Moderate Kidney Disease (MMKD) Study. *J Am Soc Nephrol.* 2007; 18:2600-2008.

Flynn JT, Mitsnefes M, Pierce C, Cole SR, Parekh RS, Furth SL, et al.. Blood pressure in children with chronic kidney disease. A report from the Chronic Kidney Disease in Children Study. *Hypertension.* 2008; 52:631-637.

Flynn JT, Kaelber DC, Baker-Smith CM, Blowey D, Carroll AE, Daniels SR, et al.. Clinical Practice Guideline for Screening and Management of High Blood Pressure in Children and Adolescents. *Pediatrics.* 2017; 140(3):e20171904.

Goodman WG. Vascular calcification in chronic renal failure. *Lancet.* 2001; 358:1115-1116.

Griffin LM, Thayu M, Baldassano RN, DeBoer MD, Zemel BS, Denburg MR, et al.. Improvements in bone density and structure during anti-TNF- α therapy in pediatric Crohn's disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015; 100(7):2630-2639.

Guerin AP, London GM, Marchais SJ, Metivier F. Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2000; 15:1014-1021.

Gupta J, Mitra N, Kanetsky PA, Devaney J, Wing MR, Reilly M, et al.. Association between albuminuria, kidney function, and inflammatory biomarker profile in CKD in CRIC. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012; 7:1938-1946.

Gutierrez O, Isakova T, Rhee E, Shah A, Holmes J, Collerone G, et al.. Fibroblast growth factor 23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates

calcitriol deficiency in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2005; 16:2205-2215.

Haffner D, Leifheit-Nestler M. Extrarenal effects of FGF23. *Pediatr Nephrol.* 2017; 32:753-765.

Harambat J, van Stralen KJ, Kim JJ, Tizard EJ. Epidemiology of chronic kidney disease in children. *Pediatr Nephrol.* 2012; 27:363-373.

Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O'Callaghan CA, Lasserson DS, et al.. Global Prevalence of Chronic Kidney Disease - A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2016; 11(7):e0158765.

Hsu CY, Chertow GM. Elevations of serum phosphorus and potassium in mild to moderate chronic renal insufficiency. *Nephrol Dial Transplant.* 2002; 17:1419-1425.

Hu MC, Kuro-o M, Moe OW. Klotho and chronic kidney disease. *Contrib Nephrol.* 2013; 180:47-63.

Jalal DI, Chonchol M, Chen W, Targher G. Uric acid as a target of therapy in CKD. *Am J Kidney Dis.* 2013; 61:134-146.

Kanbay M, Siriopol D, Saglam M, Kurt YG, Gok M, Cetinkaya H, e al. Serum sclerostin and adverse outcomes in nondialyzed chronic kidney disease patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99:E1854-E1861.

Kestenbaum B, Belozeroff V. Mineral metabolism disturbances in patients with chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest.* 2007; 37:607-622.

Kirmani S, Amin S, McCready LK, Atkinson EJ, Melton III LJ, Müller R, et al.. Sclerostin levels during growth in children. *Osteoporos Int.* 2012; 23:1123-1130.

Koch Nogueira PC, Feltran LS, Camargo MF, Leão ER, Benninghoven JRCS, Gonçalves NZ, et al.. Prevalência estimada da doença renal crônica terminal em crianças no Estado de São Paulo. *Rev Assoc Med Bras.* 2011; 57(4):443-449.

Kogon AJ, Pierce CB, Cox C, Brady TM, Mitsnefes M, Warady BA, et al.. Nephrotic range proteinúria is strongly associated with poor blood pressure control in pediatric chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2014; 85(4):938-944.

Konstantyner T, Sesso R, Camargo MF, Feltran LS, Koch Nogueira PC. Pediatric Chronic Dialysis in Brazil: Epidemiology and Regional Inequalities. *PLoS ONE.* 2015; 10(8):e0135649. doi:10.1371/journal.pone.0135649.

Kuizon BD, Salusky IB: Growth retardation in children with chronic renal failure. *J Bone Miner Res.* 1999; 14:1680-1690.

Kumar J, McDermott K, Abraham AG, Friedman LA, Johnson VL, Kaskel FJ, et al.. Prevalence and correlates of 25-hydroxyvitamin D deficiency in the Chronic Kidney Disease in Children (CKiD) cohort. *Pediatr Nephrol*. 2016; 31:121-129.

Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, et al.. Mutation of the mouse *klotho* gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*. 1997; 390:45-51.

Kurosu H, Ogawa Y, Miyoshi M, Yamamoto M, Nandi A, Roseblatt KP, et al.. Regulation of Fibroblast Growth Factor-23 Signaling by *Klotho*. *Journal of Biological Chemistry*. 2006; 281:6120-6123.

Lai S, Mariotti A, Coppola B, Lai C, Aceto P, Dimko M, et al.. Uricemia and homocysteinemia: nontraditional risk factors in the early stages of chronic kidney disease-preliminary data. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014; 18:1010–1017.

Larsson T, Nisbeth U, Ljunggren O, Juppner H, Honsson KB. Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. *Kidney Int*. 2003; 64:2272-2279.

Lee HL, Yi T, Woo KM, Ryoo HM, Kim GS, Baek JH. *Msx2* mediates the inhibitory action of TNF- α on osteoblast differentiation. *Experimental and Molecular Medicine*. 2010; 42 (6): 437-445.

Lee BT, Ahmed FA, Hamm LL, Teran FJ, Chen CS, Liu Y, et al.. Association of C-reactive protein, tumor necrosis factor- α , and interleukin-6 with chronic kidney disease. *BMC Nephrology*. 2015; 16:77.

Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rosserdt J, et al.. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int*. 2005; 67:2089-2100.

Liu S, Quarles LD. How fibroblast growth factor 23 works. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18:1637-1647.

Llach F. Hyperphosphatemia in end-stage renal disease patients: pathophysiological consequences. *Kidney Int*. 1999; 56:S32-S37.

Madero M, Sarnak MJ, Menon V. Uric acid and long-term outcomes in CKD. *Am J Kidney Dis*. 2009; 53:796–803.

Manolagas SC, Parfitt AM. What old means to bone. *Trends Endocrinol Metab*. 2010; 21(6):369-374.

Martin KJ, González EA. Metabolic bone disease in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18:875-885.

Martin KJ, Olgaard K, Coburn JW, Coen GM, Fukagawa M, Langman C, et al.. Diagnosis, assessment, and treatment of bone turnover abnormalities in renal osteodystrophy. *Am J Kidney Dis*. 2004; 43(3):558-565.

Miliner DS, Zinsmeister AR, Lieberman E, Landing B. Soft tissue calcifications in pediatric patients with end-stage renal disease. *Kidney Int.* 1990; 38:931-936.

Mitchell DM, Jüppner H, Burnett-Bowie S-AM. FGF23 is not associated with age-related changes in phosphate, but enhances renal calcium reabsorption in girls. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(4):1151-1160.

Moe S, Drueke T, Cunningham J, Goodman W, Martin K, Olgaard K, et al.. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int.* 2006; 69:1945-1953.

Moe SM, Drüeke T. Improving Global Outcomes in Mineral and Bone Disorders. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008; 3:S127-S130.

Morena M, Jaussent I, Dupuy AM, Bargnoux AS, Kuster N, Chenine L, et al.. Osteoprotegerin and sclerostin in chronic kidney disease prior to dialysis: potential partners in vascular calcifications. *Nephrol Dial Transplant.* 2015; 30:1345-1356.

Moysés RMA, Schiavi SC. Sclerostin, Osteocytes, and Chronic Kidney Disease – Mineral Bone Disorder. *Seminars in Dialysis.* 2015; 28:578-586.

National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: evaluation, classification and stratification. *Am J Kidney Dis.* 2002; 39(suppl 1):S1-S266.

National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in children with chronic kidney disease. *Am Dis J Kidney.* 2005; 46[4 suppl 1]:S1-S121.

Navaneethan SD, Beddhu S. Associations of serum uric acid with cardiovascular events and mortality in moderate chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2009; 24:1260–1266.

Ohya M, Negi S, Sakaguchi T, Koiwa F, Ando R, Komatsu Y, et al.. Significance of serum magnesium as an independent correlative factor on the parathyroid hormone level in uremic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99(10):3873-3878.

Osta B, Benedetti G, Miossec P. Classical and paradoxical effects of TNF α on bone homeostasis. *Frontiers in Immunology.* 2014; vol 5 article 48.

Pelletier S, Dubourg L, Carlier MC, Hadj-Aissa A, Fouque D. The relation between renal function and serum sclerostin in adult patients with CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2013; 8:819-823.

Pereira ER, Pereira AC, Andrade GB, Naghettini AV, Pinto FK, Batista SR, et al.. Prevalence of chronic renal disease in adults attended by the family health strategy. *J Bras Nefrol.* 2016; 38(1):22-30.

Portale AA, Wolf M, Jüppner H, Messinger S, Kumar J, Wessling-Perry K, et al.. Disordered FGF23 and mineral metabolism in children with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014; 9:344-353.

Powers CJ, McLeskey SW, Wellstein A. Fibroblast growth factors, their receptors and signaling. *Endocr Relat Cancer*. 2000; 7:165-197.

Quarles LD. Endocrine functions of bone in mineral metabolism regulation. *J Clin Invest*. 2008; 118:3820-3828.

Rodriguez-Ortiz ME, Lopez I, Munoz-Castaneda JR, Martinez-Moreno JM, Ramirez AP, Pineda C, et al.. Calcium deficiency reduces circulating levels of FGF23. *J Am Soc Nephrol*. 2012; 23:1190-1197.

Sabbagh Y, Gracioli FG, O'Brien S, Tang W, Reis LM, Ryan S, et al.. Repression of osteocyte Wnt/ β -catenin signaling is an early event in the progression of renal osteodystrophy. *J Bone Miner Res*. 2012; 27(8):1757-1772.

Salusky, I.B. Bone and mineral metabolism in childhood end-stage renal disease. *Pediatr Clin North Am*. 1995; 42:1531-1547.

Schiavi SC. Sclerostin and CKD-MBD. *Curr Osteoporos Rep*. 2015; 13:159-165.

Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann CM Jr, Spitzer A: A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics*. 1976; 58:259-263.

Seeherunvong W, Abitbol CL, Chandar J, Rusconi P, Zilleruelo GE, Freundlich M. Fibroblast growth factor 23 and left ventricular hypertrophy in children on dialysis. *Pediatr Nephrol*. 2012; 27:2129-2136.

Shanahan CM, Crouthamel MH, Kapustin A, Giachelli CM. Arterial calcification in chronic kidney disease: key roles for calcium and phosphate. *Circ Res*. 2011; 109:697-711.

Shimada T, Yamazaki Y, Takahashi M, Hasegawa H, Urakawa I, Oshima T, et al.. Vitamin D receptor-independent FGF23 actions in regulating phosphate and vitamin D metabolism. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005; 289:F1088-F1095.

Siomou E, Challa A, Printza N, Giapros V, Petropoulou F, Mitsioni A, et al.. Serum osteoprotegerin, RANKL and fibroblast growth factor-23 in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol*. 2011; 26:1105-1114.

Srivaths PR, Goldstein SL, Krishnamurthy R, Silverstein DM. High serum phosphorus and FGF 23 levels are associated with progression of coronary calcifications. *Pediatr Nephrol*. 2014; 29:103-109.

Tamai K, Semenov M, Kato Y. LDL-receptor-related proteins in Wnt signal transduction. *Nature*. 2000; 407:530-535.

Upadhyay A, Larson MG, Guo CY, Vasan RS, Lipinska I, O'Donnell CJ, et al.. Inflammation, kidney function and albuminuria in the Framingham offspring cohort. *Nephrol Dial Transplant*. 2011; 26:920-926.

Urena P, de Vernejoul MC. Circulating biochemical markers of bone remodeling in uremic patients. *Kidney Int*. 1999; 55:2141-2156.

US Renal Data System 1999 USRDS 1999 Annual Data Report. Bethesda Maryland, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases.

US renal data system, USRDS 2004 Annual data report: Atlas of end-stage Renal Disease in the United States, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD. 2004.

Van Husen M, Fischer AK, Lehnhardt A, Klaassen I, Möller K, Müller-Wiefel DE, et al.. Fibroblast growth factor 23 and bone metabolism in children with chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2010; 78:200-206.

Wang L, Wang Y, Han Y, Henderson SC, Majeska RJ, Weinbaum S, et al.. In situ measurement of solute transport in the bone lacunar-canalicular system. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102(33):11911-11916.

Warady BA, Chadha V. Chronic kidney disease in children: the global perspective. *Pediatr Nephrol*. 2007; 22:1999-2009.

Weaver DJ Jr, Somers MJG, Martz K, Mitsnefes M. Clinical outcomes and survival in pediatric patients initiating chronic dialysis: a report of the NAPRTCS registry. *Pediatr Nephrol*. 2017; 32:2319-2330.

Wesseling K, Bakkaloglu S, Salusky I. Chronic kidney disease mineral and bone disorder in children. *Pediatr Nephrol*. 2008; 23:195-207.

Wesseling-Perry K, Salusky IB. Diagnosis and Management of renal osteodystrophy in children. In: Warady BA, Schaefer F, Alexander SR, editors. *Pediatric Dialysis*. 2nd ed, New York: Springer; 2012.p.483-503.

Wessling-Perry K, Salusky IB. Chronic kidney disease bone and mineral disorder. In: Kher KK, Schnaper HW, Greenbaum LA, editors. *Clinical Pediatric Nephrology* 3rd ed, Boca Raton: Taylor & Francis; 2017. p.639-663.

Wingen AM, Fabian-Bach C, Schaefer F, Mehls O. Randomised multicenter study of a low-protein diet on the progression of chronic renal failure in children. *Lancet*. 1997; 349:1117-1123.

Wolf M, White KE. Coupling fibroblast growth factor 23 production and cleavage: iron deficiency, rickets, and kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2014; 23:411-419.

World Health Organization. WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for length, weight-for-height and body mass index-for-age. Methods and development. WHO (non serial publication). Geneva, Switzerland: WHO, 2006.

Wühl E, Schaefer F. Therapeutic strategies to slow chronic kidney disease progression. *Pediatr Nephrol*. 2008; 23:705-716.

Wühl E, Trivelli A, Picca S, Litwin M, Peco-Antic A, Zurowska A, et al.. Strict blood pressure control and progression of renal failure in children. The ESCAPE Trial Group. *N Engl J Med*. 2009; 361:1639-1650.

Yilmaz MI, Sonmez A, Saglam M, Yaman H, Kilic S, Demirkaya E, et al.. FGF-23 and vascular dysfunction in patients with stage 3 and 4 chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2010; 78:679-685.

Zaher MM, Abdel-Salam M, Abdel-Salam R, Sabour R, Morsy AAEA, Gamal D. Serum magnesium level and vascular stiffness in children with chronic kidney disease on regular hemodialysis. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2016; 27(2):233-240.

Anexo: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



São Paulo, 18 de maio de 2012
CEP Nº: 2130/11

Ilmo(a) Sr(a)

Pesquisador(a): Ana Lucia Cardoso Santos Abreu

Disciplina/Departamento: Especialidades Pediátricas

Pesquisadores associados: Maria Cristina de Andrade, Aluizio Barbosa Carvalho, João Tomas de Abreu
Carvalhoes (orientador)

**Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo**

TÍTULO DO ESTUDO: Avaliação de Calcificação Cardiovascular em Crianças e Adolescentes com Doença Renal Crônica :

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Intervenção diagnóstica

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: Risco mínimo, envolvendo coleta de sangue e realização de tomografia computadorizada.

OBJETIVO DO ESTUDO: Avaliar a prevalência de calcificação de artérias coronárias e de alterações na velocidade da onda de pulso em crianças e adolescentes com DRC, em tratamento conservador e diálise, e identificar fatores que potencialmente estejam relacionados a estas ocorrências.

RESUMO: Serão avaliados crianças e adolescentes portadores de DRC que fazem acompanhamento no Setor de Nefrologia Pediátrica da Disciplina de Especialidades Pediátricas do Departamento de Pediatria da UNIFESP – ambulatorio de tratamento conservador e diálise - por pelo menos 3 meses e crianças e adolescentes que acompanham o ambulatorio de pré transplante do Hospital do Rim e Hipertensão. Serão incluídas crianças com idade de 6 a 18 anos e Clearance de creatinina < 90 ml/min/1,73m2, ou seja, estágios II, III, IV e V de DRC segundo o K/DOQI. Será realizado ecocardiograma para avaliação de função e estrutura cardíaca, hipertrofia e contratilidade ventricular esquerda, por cardiologista pediátrico. Será realizada tomografia computadorizada para avaliação da calcificação das artérias coronárias e a velocidade da onda de pulso será calculada através das medidas do tempo de trânsito do pulso e da distância percorrida pelo pulso entre as artérias carótida e femoral. Serão avaliados os dados bioquímicos através da mensuração sérica da albumina, uréia, creatinina, gasometria venosa, cálcio, fósforo, magnésio, fosfatase alcalina, hemograma completo, paratormônio intacto, PCR, ácido úrico, colesterol total e frações, triglicérides, osteoprotegerina, 25OH vitamina D e FGF23.

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Alterações do metabolismo de cálcio e fósforo estão presentes desde estágios precoces da Doença Renal Crônica (DRC). Com o desenvolvimento da terapêutica dialítica nos pacientes pediátricos, o cuidado de crianças com DRC vem progredindo; entretanto a mortalidade nestas crianças ainda é significativamente maior que na população geral. Atualmente, a doença cardiovascular (DCV) é a principal causa de morte neste grupo de pacientes. Evidências epidemiológicas mostram associação de mortalidade com hiperfosfatemia e produto cálcio e fósforo elevado, o que, em tese, acarretaria calcificação vascular, principalmente no leito coronariano, em pacientes adultos com DRC. Tal associação poderia também estar presente na população pediátrica.

MATERIAL E MÉTODO: Estão descritos os procedimentos do estudo

TCLE: Apresenta TCLE e Termo de Assentimento para participação de menores de idade na pesquisa.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: FAPESP - R\$ 38494,00

CRONOGRAMA DO ESTUDO: 24 meses

PRIMEIROS RELATÓRIOS PARCIAIS PREVISTOS PARA : 13/05/2013 e 08/05/2014

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

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



Atenciosamente,

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

Anexo 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIMENTO

AValiação DA CALCIFICAÇÃO CARDIOVASCULAR EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA

Nome da criança/adolescente _____

A doença cardiovascular é a principal causa de morte atualmente entre os pacientes com Doença Renal Crônica.

É essencial que nefrologistas pediátricos possam aconselhar as famílias sobre o possível desenvolvimento de doenças cardiovasculares em crianças com doença renal crônica antes e durante o tratamento com diálise.

O objetivo deste estudo é descrever a presença ou não de calcificação nas artérias coronárias e enrijecimento das artérias carótidas e femorais em crianças e adolescentes portadores de Doença Renal Crônica do Hospital São Paulo da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP/EPM) como marcador de doença cardiovascular, isto é, utilizaremos um exame de tomografia e um exame de velocidade de pulso para tentar encontrar alterações que possam sugerir um risco maior ou não de no futuro ter doença do coração.

Procedimentos utilizados:

- Medida do Peso e Estatura: realizada no dia do exame, com a criança despida em jejum com a utilização de balança e de uma régua de madeira ou fita métrica
- Medida da pressão arterial;
- Exame físico;
- Coleta de exames laboratoriais (exames de sangue) em jejum;
- Realização de Ecocardiograma com Doppler colorido;
- Realização de Tomografia de artérias coronárias.
- Realização da Velocidade da Onda de Pulso entre as artérias carótidas e artérias femorais.

A coleta de sangue em geral é um procedimento rápido e será realizado por enfermeiros treinados para realização em crianças. O exame de Velocidade da Onda de Pulso e o Ecocardiograma são indolores e sem exposição à radiação. A Tomografia é indolor mas com exposição à radiação.

Você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a médica Ana Lucia Cardoso Santos Abreu, que pode ser encontrada à Rua Leonardo Nunes nº 115, Vila Clementino, São Paulo - SP, Telefone: 50839826.

Se você tiver alguma dúvida ou consideração sobre a pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Botucatu, 572 - 1º andar, Telefones: 5571-1062, 5539-7162.

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo a continuidade do seu tratamento na Instituição. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente, exceto a você no término da pesquisa.

Será mantido atualizado sobre os resultados parciais da pesquisa, quando os resultados sejam do conhecimento do pesquisador.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamento proposto neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem o direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

Existe o compromisso do pesquisador (Ana Lucia Cardoso Santos Abreu) de utilizar os dados e o material coletado somente para pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo *Avaliação de calcificação cardiovascular em crianças e adolescentes com Doença Renal Crônica*.

Eu discuti com a médica Ana Lucia Cardoso Santos Abreu, sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimento permanentes. Ficou claro também que a participação de meu (minha) filho (a) é isenta de despesas e que ele (a) tem garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concorde voluntariamente em deixar meu filho (a) participar deste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que meu filho (a) possa ter adquirido, ou no atendimento de meu filho (a) neste Serviço.

Assinatura do paciente/ Representante Legal

Data ____/____/____

Assinatura da testemunha

Data ____/____/____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste representante legal para a participação neste estudo.

Anexo 3: Termo de Assentimento Informado

TERMO DE ASSENTIMENTO INFORMADO
AValiação de Calcificação Cardiovascular em Crianças e
Adolescentes com Doença Renal Crônica

Nome da criança/adolescente _____

Este formulário de assentimento informado é para crianças/adolescentes entre as idades de 0 até 18 anos de idade e que estamos convidando para a pesquisa escrita acima.

Introdução

Meu nome é Ana Lucia Cardoso Santos Abreu, sou médica nefrologista pediatra da Pós Graduação da Universidade Federal de São Paulo e sou responsável por essa pesquisa para verificar o risco de doença cardiovascular através de um exame que pode mostrar alteração que sugira início de doença nas artérias em pacientes menores de idade com doença renal antes e durante o tratamento com diálise. Para isso precisamos fazer a comparação com pacientes de mesma idade com ou sem doença renal, como você. Queremos ver a gravidade dessa doença e o quanto ela afeta a vida desses pacientes, e queremos melhorar a qualidade de vida deles, que são como você. Você pode escolher se participa dessa pesquisa ou não. Falei com seus pais/responsáveis e preciso da aceitação deles, assim como a sua. Mas se você não desejar fazer parte na pesquisa, não é obrigado, até mesmo se seus pais concordarem.

Você pode discutir qualquer coisa deste formulário com seus pais, amigos ou qualquer um com quem você se sentir a vontade de conversar. Você pode decidir se quer participar ou não depois de ter conversado sobre a pesquisa e não é preciso decidir imediatamente. Pode haver algumas palavras que não entenda ou coisas que você quer que eu explique mais detalhadamente porque você ficou mais interessado ou preocupado. Por favor, peça que eu pare a qualquer momento e eu explicarei.

Objetivos

Queremos avaliar se existe doença nas artérias em crianças e adolescentes com doença renal. Isso pode melhorar a qualidade de vida de pacientes como você, ajudando a tratar de forma melhor essa doença e permitindo que esses pacientes vivam mais. Porém, para ter certeza que essa doença nas artérias realmente existe, precisamos fazer essa pesquisa.

Escolha dos participantes

Estamos procurando a doença das artérias em crianças e adolescentes que estão dentro da sua idade de até 18 anos, que tem doença renal ou não.

Voluntariedade de Participação

Você não precisa participar desta pesquisa se não quiser. É você quem decide. Se decidir não participar da pesquisa, é seu direito e nada mudará no seu tratamento de saúde. Mesmo assim, este serviço de saúde estará disponível para você. Até mesmo se disser "sim" agora, poderá mudar de idéia depois, sem nenhum problema.

Procedimentos

Nós vamos pesar e medir você, da mesma forma como é feito normalmente na consulta e nós vamos coletar um pouco de sangue para realizar exames, pra saber se está tudo

bem com você. Depois disso faremos um exame no coração chamado ECOCARDIOGRAMA, que não dói e não faz mal nenhum a você. Além disso faremos outros exames, que são os principais, que são uma TOMOGRAFIA DE CORONÁRIAS (que são as artérias do coração) e a VELOCIDADE DA ONDA DE PULSO (velocidade do sangue entre as artérias pescoço e da perna), também sem dor e esses resultados serão enviados a você caso você queira.

Riscos

A coleta de sangue será feita por enfermeiro treinado com experiência em crianças, como nas outras vezes em que você teve que fazer esse exame durante o tratamento, portanto o risco será mínimo. A Tomografia tem radiação, porém o tempo de exposição a radiação é muito pequeno. Os outros dois exames não têm radiação, por isso o risco de participar dessa pesquisa é muito pequeno.

Desconfortos

Para coletar o sangue o desconforto será mínimo, você pode sentir uma dor leve com a picada. Nos exames você não sentirá dor. Porém, caso sinta qualquer incômodo você pode nos contar que iremos ajudar.

Conferir se a criança/adolescente entendeu os riscos e desconfortos da pesquisa:

____ sim ____ não.

Benefícios

Nós realmente acreditamos que nada irá acontecer a você. Mas esta pesquisa poderá nos ajudar a achar alterações em pacientes com problema renal que poderemos tratar em outras crianças agora ou mais tarde.

Confidencialidade

Não falaremos para outras pessoas que você está nesta pesquisa e também não daremos informação sobre você para qualquer um que não trabalha na pesquisa. Depois que a pesquisa acabar, os resultados serão informados para você e para seus pais. As informações sobre você serão coletadas na pesquisa e ninguém, exceto os investigadores poderão ter acesso a elas. Elas não serão compartilhadas com quem quer que seja exceto, alguém que tenha permissão de acesso à informação, tais como o seu médico.

Compensação

Se você ficar doente durante a pesquisa por causa da pesquisa, cuidaremos de você. Informamos aos seus pais sobre o que fazer se você adoecer durante a pesquisa.

Divulgação dos resultados

Quando terminarmos a pesquisa, falaremos para você e seus pais sobre o que aprendemos com a pesquisa. Eu também lhe darei um papel com os resultados por escrito. Depois, iremos falar com mais pessoas, cientistas e médicos, sobre a pesquisa. Faremos isto escrevendo e compartilhando relatórios e indo para as reuniões com pessoas que estão interessadas no trabalho que fazemos.

Direito de recusa ou retirada do assentimento informado

Você não tem que estar nesta pesquisa. Ninguém ficará furioso ou desapontado com você se você disser não, a escolha é sua. Você pode pensar nisto e falar depois se você quiser. Você pode dizer "sim" agora e mudar de idéia depois e tudo continuará bem.

Contato

Você pode me perguntar agora qualquer dúvida ou me perguntar depois. Eu te dou meu número de telefone e endereço (Rua Leonardo Nunes 115 fone 50839826), onde você pode nos localizar ou, se você estiver por perto, você poderá vir e nos ver. Se você quiser falar com outra pessoa tal como o seu professor ou doutor ou tia, não tem problema.

Parte II - Certificado do Assentimento

Eu entendi que a pesquisa é sobre um teste para ver o risco de ter doença cardiovascular em pacientes com doença renal que estão em diálise ou não. Eu entendi que eu serei pesado e medido, farei exame de sangue e 3 outros exames, dois do coração e outro nas artérias carótidas e femoral, que não sentirei dor por isso e que os riscos disso são muito pequenos. Entendi que posso contar com os pesquisadores para qualquer dúvida e que receberei os resultados desse meu exame.

Assinatura da criança/adolescente: _____

Assinatura dos pais/responsáveis: _____

Ass. Pesquisador: _____

Dia/mês/ano: _____