

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA**

CAROLINA NERIS CARDOSO

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES RELACIONADOS AO
METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO EM PACIENTES ADULTOS
TRANSPLANTADOS RENAIIS: RELAÇÃO COM POLIMORFISMOS
*XbaI e PvuII DO GENE ESR1***

Belo Horizonte
2018

CAROLINA NERIS CARDOSO

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES RELACIONADOS AO
METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO EM PACIENTES ADULTOS
TRANSPLANTADOS RENAIIS: RELAÇÃO COM POLIMORFISMOS**

Xbal e Pvull DO GENE ESR1

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestra em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Área de concentração: Análises Clínicas e Toxicológicas

Orientadora: Prof^a Dr^a. Ana Paula Lucas Mota - UFMG

Coorientadora: Prof^a Dr^a. Patrícia Nessralla Alpoim - UFMG

Belo Horizonte
2018

C268a Cardoso, Carolina Neris.
Avaliação de biomarcadores relacionados ao metabolismo mineral e ósseo em pacientes adultos transplantados renais: relação com polimorfismos *XbaI* e *PvuII* do gene *ESR1* / Carolina Neris Cardoso. – 2018.
93 f. : il.

Orientadora: Ana Paula Lucas Mota.
Coorientadora: Patrícia Nessralla Alpoim.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas.

1. Distúrbio mineral e ósseo da doença renal crônica. 2. Rins – Transplante – Teses. 3. Hiperparatireoidismo secundário. 4. Biomarcadores. 5. Polimorfismo (Genética) – Teses. I. Mota, Ana Paula Lucas. II. Alpoim, Patrícia Nessralla. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD:617.461



FOLHA DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES RELACIONADOS AO METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO EM PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAI: RELAÇÃO COM POLIMORFISMOS DO GENE ESR1

CAROLINA NERIS CARDOSO

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS, área de concentração ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS.

Aprovada em 25 de abril de 2018, pela banca constituída pelos membros:

Profa. Ana Paula Lucas Mota - Orientadora
Faculdade de Farmácia - UFMG

Profa. Patricia Nessler Alpoim
Faculdade de Farmácia - UFMG

Prof. Marcelo Rizzatti Luzon
Instituto de Ciências Biológicas - UFMG

Prof. Leonardo de Souza Vasconcelos
Faculdade de Medicina - UFMG

Belo Horizonte, 25 de abril de 2018.

Colaboradores

- Dr. Fernando das Mêrces de Lucas Júnior – Médico Nefrologista do Hospital das Clínicas da UFMG;
- Dr^a. Fabíola Paes Leme – Laboratório de Patologia Clínica da Escola de Veterinária da UFMG.
- Dr^a Iêda de Fátima Oliveira Silva - Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da UFMG;

Instituições Participantes

- Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG;
- Laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Farmácia da UFMG;
- Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da UFMG;
- Laboratório de Nefrologia Pediátrica da Faculdade de Medicina da UFMG;
- Ambulatório de Transplantes da Unidade Bias Fortes do Hospital das Clínicas da UFMG;
- Laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da UFMG.

Apoio Financeiro

- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES;
- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq;
- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG;
- Quibasa/Bioclin Química Básica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me dar forças ao longo desta caminhada;

Aos meus pais, Eliana e Wilton, minha irmã, Débora, e meu namorado, Tales, por todo amor, compreensão e incentivo;

À Minha orientadora, Ana Paula Lucas Mota, e co-orientadora Patrícia Nessralla Alpoim, pelo carinho, conselhos, aprendizado, por compartilharem do meu objetivo e me proporcionarem a oportunidade de me desenvolver, como profissional e pessoalmente;

Aos amigos e funcionários do Laboratório de Bioquímica Clínica, pela amizade e colaboração, especialmente, à Alessandra, por sempre me ouvir e me lembrar que, no final, tudo fica bem. À Lorraine, Suellen, Letícia e Aline, pelo companheirismo e por participarem de cada etapa deste trabalho;

À Pâmela e Maira, pela disponibilidade e presteza em me auxiliarem durante as análises;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG, que tanto contribuíram para a minha formação;

Aos colaboradores e instituições participantes, por viabilizarem a realização deste projeto;

Aos voluntários, sem os quais nada disso seria possível;

A todos que, de alguma maneira, fizeram parte desta jornada, meu sincero agradecimento!

RESUMO

O distúrbio-mineral e ósseo da doença renal crônica (DMO-DRC) é caracterizado por um quadro clínico que engloba anormalidades minerais, ósseas e cardiovasculares, resultante de complicações da doença renal crônica, e que pode permanecer mesmo após o transplante renal. O efeito protetor do estrogênio sobre os rins e sobre o metabolismo mineral e ósseo já foi demonstrado, bem como a associação de polimorfismos do gene do receptor de estrogênio 1 (*ESR1*) com desfechos relacionados ao DMO-DRC, sendo oportuno avaliá-los no pós-transplante renal. O objetivo deste estudo foi avaliar os níveis de cálcio, fósforo, paratormônio (PTH) e 25-hidróxi-vitamina D em transplantados renais e relacioná-los com marcadores da função renal e com os polimorfismos *Xbal* (rs9340799) e *Pvull* (rs2234693) do gene *ESR1*. A coorte foi composta por 164 receptores do transplante renal, para os quais foram determinados os níveis de biomarcadores do metabolismo mineral e ósseo e os polimorfismos *Xbal* e *Pvull*. Para as análises, os indivíduos foram categorizados de acordo com os níveis séricos de creatinina, ritmo de filtração glomerular estimado, tempo pós-transplante, níveis de PTH e vitamina D. Observou-se que maiores concentrações de PTH associaram-se a maior nível de creatinina sérica e menor ritmo de filtração glomerular estimado. A pior função renal, avaliada pelo ritmo de filtração glomerular estimado, também se relacionou com maiores níveis séricos de fósforo. Maiores concentrações de cálcio foram encontradas entre os indivíduos com menor tempo pós-transplante. O PTH variou significativamente em função das avaliações genéticas, sendo o genótipo CC do polimorfismo *Pvull* encontrado com maior frequência entre os indivíduos com menores níveis do hormônio. O polimorfismo *Xbal* não influenciou as concentrações de nenhum dos biomarcadores. A persistência de níveis elevados de PTH no pós-transplante renal foi o achado mais relevante e, apesar das variações observadas para os demais biomarcadores, os receptores do transplante renal, neste estudo, estão sob controle adequado das variações do metabolismo mineral e ósseo as quais estão sujeitos.

Palavras-chave: Distúrbio Mineral e Ósseo da Doença Renal Crônica; Hiperparatireoidismo secundário; Polimorfismo genético; Transplante Renal.

ABSTRACT

The mineral and bone disorder of chronic kidney disease (CKD-MBD) is characterized by a clinical condition which encompasses mineral, bone and cardiovascular abnormalities resulting from complications of chronic kidney disease, which may remain even after renal transplantation. The protective effect of estrogen on kidney and mineral and bone metabolism has been demonstrated, as well as the association of estrogen receptor 1 (*ESR1*) gene polymorphism with outcomes related to CKD-MBD, so it is opportune to evaluate them in the post - renal transplantation. The objective of this study was to evaluate the levels of calcium, phosphorus, parathyroid hormone (PTH) and 25-hydroxy-vitamin D in renal transplant recipients and to correlate them with renal function markers and the *XbaI* (rs9340799) and *PvuII* (rs2234693) polymorphisms of the *ESR1* gene. The cohort was composed of 164 renal transplant recipients, for which the biomarkers of mineral and bone metabolism and the *XbaI* and *PvuII* polymorphisms were determined. For the analyzes, subjects were categorized according to serum creatinine levels, estimated glomerular filtration rate, post-transplant time, PTH and vitamin D levels. It was observed that higher concentrations of PTH were associated with a higher serum creatinine level and a lower estimated glomerular filtration rate. The worse renal function, evaluated by the estimated glomerular filtration rate, was also related to higher serum levels of phosphorus. Higher calcium concentrations were found among individuals with shorter time after transplantation. PTH varied significantly according to genetic evaluations, with the CC genotype of the *PvuII* polymorphism being found more frequently among individuals with lower levels of the hormone. *XbaI* polymorphism did not influence the concentrations of any of the biomarkers. The persistence of elevated levels of PTH in the post-renal transplantation was the most relevant finding and, despite the variations observed for the other biomarkers, renal transplant recipients in this study appeared are under adequate control of the variations of the mineral and bone metabolism which they are submitted to.

Key-words: Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder; Genetic polymorphisms; Kidney Transplantation; Secondary hyperparathyroidism.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Metabolismo da vitamina D | 23 |
| Figura 2 – Homeostase do cálcio e fósforo e sua regulação pelo PTH..... | 26 |
| Figura 3 – Estrutura, domínios funcionais e polimorfismos descritos para o gene ESR1 | 33 |
| Figura 4 – Mecanismo molecular do receptor nuclear de estrogênio | 34 |
| Figura 5 – Perfil de bandas para os polimorfismos <i>XbaI</i> e <i>PvuII</i> em eletroforese em gel de poliacrilamida..... | 47 |
| Figura 6 – Comparação dos níveis de marcadores bioquímicos do metabolismo mineral e ósseo entre grupos de acordo com o ritmo de filtração glomerular | 52 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Estágios da Doença Renal Crônica de acordo com ritmo de filtração glomerular | 17 |
| Tabela 2- Número absoluto total e por tipo de doador de transplantes de rim realizados no Brasil entre 2010 e 2016 | 20 |
| Tabela 3 - Condição de eluição em gradiente para a quantificação dos metabólitos da vitamina D por CLAE | 44 |
| Tabela 4 - Características clínicas e demográficas e parâmetros bioquímicos de transplantados renais assistidos no HC-UFMG, entre 2015 e 2016, apresentados de acordo com o sexo | 48 |
| Tabela 5 - Níveis de marcadores bioquímicos do metabolismo mineral e ósseo em função da creatinina sérica..... | 51 |
| Tabela 6 - Níveis de marcadores bioquímicos do metabolismo mineral e ósseo em função do ritmo de filtração glomerular | 51 |
| Tabela 7 - Níveis de marcadores bioquímicos do metabolismo mineral e ósseo e de função renal em função do tempo pós-transplante | 53 |
| Tabela 8 - Frequências alélicas e genóticas dos polimorfismos <i>XbaI</i> e <i>PvuII</i> | 54 |
| Tabela 9 - Distribuição das frequências genóticas dos polimorfismos <i>XbaI</i> e <i>PvuII</i> em função da persistência do hiperparatireoidismo secundário em receptores do transplante renal..... | 55 |
| Tabela 10 - Distribuição das frequências genóticas dos polimorfismos <i>XbaI</i> e <i>PvuII</i> em função dos níveis de vitamina D em receptores do transplante renal | 55 |
| Tabela 11 - Concentrações de biomarcadores do metabolismo mineral e ósseo em função dos genótipos AA e AG do polimorfismo <i>XbaI</i> | 56 |
| Tabela 12 - Concentrações de biomarcadores do metabolismo mineral e ósseo em função dos genótipos CC, CT e TT do polimorfismo <i>PvuII</i> | 56 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------------------|--|
| 1,25(OH) ₂ D | 1,25-dihidróxi-vitamina D |
| 25(OH)D | 25-hidróxi-vitamina D |
| ABTO | Associação Brasileira de Transplante de Órgãos |
| CaHPO ₄ | Fosfato ácido de cálcio |
| CKD-EPI | <i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation</i> |
| CLAE | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |
| DBP | <i>Vitamin D binding protein</i> (Proteína ligadora de vitamina D) |
| DMO | Densidade mineral óssea |
| DMO-DRC | Distúrbio Mineral e Ósseo da Doença Renal Crônica |
| DNA | <i>Deoxyribonucleic acid</i> (Ácido desoxirribonucléico) |
| DRC | Doença Renal Crônica |
| EDTA | <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i> (ácido etilenodiamino tetra acético) |
| eRFG | Ritmo de filtração glomerular estimado |
| ER α | <i>Estrogen receptor alpha</i> (Receptor de estrogênio alfa) |
| ER β | <i>Estrogen receptor beta</i> (Receptor de estrogênio beta) |
| <i>ESR1</i> | <i>Estrogen receptor 1</i> (Receptor de estrogênio 1) |
| FGF-23 | Fator de crescimento de fibroblasto 23 |
| HC | Hospital das Clínicas |
| HDL-c | HDL do colesterol |
| IgA | Imunoglobulina A |
| LDL-c | LDL colesterol |
| MDRD | <i>Modification of Diet in Renal Disease</i> |
| mTORM | <i>Mammalian target of Rapamycin</i> |
| P.A. | Padrão analítico |
| PCR-RFLP | <i>Polymerase chain reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism</i> (Reação em cadeia da polimerase – polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição) |
| PTH | Paratormônio |
| q.s.p | quantidade suficiente para |
| RFG | Ritmo de Filtração Glomerular |
| RLUs | <i>Relative light units</i> (Unidades de luz relativa) |

| | |
|-------|--|
| SNP's | <i>Single nucleotide polymorphism</i> (polimorfismos de nucleotídeo único) |
| TRS | Terapia Renal Substitutiva |
| UFMG | Universidade Federal de Minas Gerais |
| UV | Ultravioleta |
| VDR | <i>Vitamin D receptors</i> (Receptores de vitamina D) |
| VS | Versus |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 15 |
| 2 | REVISÃO DA LITERATURA | 17 |
| 2.1 | DOENÇA RENAL CRÔNICA | 17 |
| 2.1.1 | Definição | 17 |
| 2.1.2 | Epidemiologia da Doença Renal Crônica | 18 |
| 2.1.3 | Fatores de Risco para Doença Renal Crônica | 18 |
| 2.1.4 | Terapia Renal Substitutiva | 19 |
| 2.2 | ALTERAÇÕES DO METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO EM DOENTES RENAIIS CRÔNICOS E TRANSPLANTADOS RENAIIS..... | 20 |
| 2.2.1 | Distúrbio Mineral e Ósseo da Doença Renal Crônica (DMO-DRC) | 20 |
| 2.2.2 | Vitamina D e Doença Renal Crônica..... | 22 |
| 2.2.3 | Hiperparatireoidismo Secundário na Doença Renal Crônica e Pós-Transplante Renal..... | 25 |
| 2.3 | EFEITO DO ESTROGÊNIO SOBRE OS RINS | 28 |
| 2.4 | RELAÇÃO ENTRE ESTROGÊNIO, VITAMINA D, PARATORMÔNIO E METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO | 30 |
| 2.5 | RECEPTOR ALFA DE ESTROGÊNIO E SEUS POLIMORFISMOS..... | 32 |
| 2.6 | POLIMORFISMOS DO GENE <i>ESR1</i> NA AVALIAÇÃO DO METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO..... | 35 |
| 3 | OBJETIVOS | 37 |
| 3.1 | OBJETIVO GERAL..... | 37 |
| 3.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS:..... | 37 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 38 |
| 4.1 | DELINEAMENTO EXPERIMENTAL..... | 38 |
| 4.2 | CASUÍSTICA | 39 |
| 4.3 | CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO | 41 |
| 4.4 | ASPECTOS ÉTICOS | 41 |
| 4.5 | AMOSTRAS BIOLÓGICAS..... | 41 |
| 4.6 | DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE CÁLCIO TOTAL | 42 |
| 4.7 | DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE FÓSFORO..... | 42 |
| 4.8 | DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE PARATORMÔNIO | 43 |
| 4.9 | DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE 25-HIDRÓXI-VITAMINA D | 43 |
| 4.10 | DETERMINAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO | 45 |
| 4.11 | ANÁLISE MOLECULAR DOS POLIMORFISMOS DO GENE DO RECEPTOR DE ESTROGÊNIO 1 (<i>ESR1</i>) | 46 |
| 4.12 | ANÁLISES ESTATÍSTICAS..... | 47 |
| 5 | RESULTADOS | 48 |
| 5.1 | CARACTERIZAÇÃO DEMOGRÁFICA E CLÍNICA DOS TRANSPLANTADOS RENAIIS | 48 |

| | |
|--|----|
| 5.2 AVALIAÇÃO DOS MARCADORES BIOQUÍMICOS DO METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO EM FUNÇÃO DOS MARCADORES DE FUNÇÃO RENAL EM TRANSPLANTADOS RENAI | 50 |
| 5.2.1 Associação dos níveis de creatinina com marcadores bioquímicos do metabolismo mineral e ósseo | 50 |
| 5.2.2 Associação do ritmo de filtração glomerular estimado com marcadores bioquímicos do metabolismo mineral e ósseo | 51 |
| 5.3 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO TEMPO PÓS-TRANSPLANTE SOBRE MARCADORES BIOQUÍMICOS DO METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO EM TRANSPLANTADOS RENAI | 53 |
| 5.4 AVALIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DO GENE <i>ESR1</i> EM RECEPTORES DO TRANSPLANTE RENAL E SUA RELAÇÃO COM OS BIOMARCADORES DO METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO | 53 |
| 5.4.1 Polimorfismos do gene <i>ESR1</i> em receptores do transplante renal | 53 |
| 5.4.2 Avaliação da persistência de hiperparatiroidismo secundário e deficiência de vitamina D no pós-transplante renal em função dos polimorfismos do gene <i>ESR1</i> | 54 |
| 5.4.3 Avaliação das concentrações de biomarcadores do metabolismo mineral e ósseo no pós-transplante renal em função dos polimorfismos do gene <i>ESR1</i> | 56 |
| 6 DISCUSSÃO | 58 |
| 6.1 CARACTERIZAÇÃO DEMOGRÁFICA E CLÍNICA DOS TRANSPLANTADOS RENAI | 58 |
| 6.2 O PTH COMO PRINCIPAL FERRAMENTA DE AVALIAÇÃO DO DISTÚRBO MINERAL E ÓSSEO NO PÓS-TRANSPLANTE RENAL | 62 |
| 6.3 VARIAÇÕES NOS NÍVEIS DE CÁLCIO E FÓSFORO NO PÓS-TRANSPLANTE RENAL RECENTE | 66 |
| 6.4 POLIMORFISMOS DO GENE <i>ESR1</i> PODERIAM INFLUENCIAR OS NÍVEIS DE BIOMARCADORES DO METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO? | 69 |
| 7 CONCLUSÕES | 72 |
| 8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO | 73 |
| 9 PERSPECTIVAS DE ESTUDO | 74 |
| REFERÊNCIAS | 75 |

1 INTRODUÇÃO

A Doença Renal Crônica (DRC) consiste em lesão renal com perda progressiva e irreversível da função dos rins (glomerular, tubular e endócrina) (ROMÃO Jr., 2004). No último estágio da doença, se verifica um estado de insuficiência renal e o emprego de terapia renal substitutiva (TRS) torna-se necessário (AMERICAN KIDNEY FUND¹, 2016). Uma das alternativas é o transplante de rim. No Brasil, em 2017, foram realizados 5.929 transplantes renais (ABTO-RBT, 2017). Em Minas Gerais, foram 617 em 2017, observando-se um aumento de aproximadamente 35% em relação ao número de transplantes realizados em 2010 (ABTO-RBT, 2017).

Entre os pacientes com DRC, as alterações do metabolismo mineral e ósseo são comuns e se relacionam com a ocorrência de complicações cardiovasculares e com o aumento da mortalidade dos indivíduos. Observa-se comumente um quadro de hiperfosfatemia, com conseqüente deficiência de vitamina D. A hipocalcemia resultante deste desequilíbrio está associada com a osteodistrofia renal, em que se verificam anormalidades na homeostase óssea com aumento de sua fragilidade e fraturas (BASTOS; KIRSZTAJN, 2011). Os níveis reduzidos de cálcio plasmático também são um dos fatores desencadeantes do hiperparatireoidismo secundário, observado entre os indivíduos com DRC e em receptores de transplante renal. A hiperfosfatemia, por sua vez, está associada com a calcificação vascular, uma das causas de complicações cardiovasculares que contribui para a mortalidade na DRC (HRUSKA *et al.*, 2008). Em conjunto, estas alterações configuram o Distúrbio Mineral e Ósseo da Doença Renal Crônica (DMO-DRC). É desejável que este DMO-DRC seja corrigido após a realização do transplante renal, entretanto as anormalidades podem permanecer e contribuir para complicações relacionadas à função do enxerto tanto no pós-transplante recente quanto no tardio.

Sabe-se que as características genéticas também desempenham um papel importante em pacientes transplantados renais. Diversos polimorfismos já foram estudados e relacionados a esta população de transplantados renais, entretanto a influência de polimorfismos gênicos sobre a função do enxerto ainda não está totalmente esclarecida (CHAND; MCKNIGHT; BORROWS, 2014; WANG *et al.*,

¹ Fonte: <http://www.kidneyfund.org/kidney-disease/kidney-failure/>. Acesso em 15 mai 2016.

2017; MARTINS, 2017). Neste contexto, a investigação dos polimorfismos *PvuII* e *XbaI* do gene *estrogen receptor 1 (ESR1)* torna-se relevante, uma vez que há evidências da associação destes polimorfismos em populações específicas, com fatores de risco e desfechos associados ao desequilíbrio do metabolismo mineral e ósseo. No entanto, a associação entre estes polimorfismos gênicos e marcadores bioquímicos úteis no monitoramento do DMO-DRC permanece como um assunto controverso e ainda pouco explorado em pacientes transplantados renais.

Assim, torna-se bastante oportuno avaliar biomarcadores do metabolismo mineral e ósseo em pacientes transplantados renais, associando-os aos dados obtidos sobre os polimorfismos *PvuII* e *XbaI* do gene *ESR1*, bem como com a função renal desses pacientes, a fim de se determinar variáveis com perspectivas de aplicação prognóstica.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DOENÇA RENAL CRÔNICA

2.1.1 Definição

A DRC é uma doença crônico-degenerativa decorrente de múltiplas etiologias, que leva à perda progressiva da função dos rins (CÔBO, 2015). De acordo com as Diretrizes de Prática Clínica para Avaliação e Gerenciamento da DRC propostas em 2012 pela *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO), a DRC é definida como anormalidades da estrutura e/ou função dos rins, presentes por mais de três meses, com implicações para a saúde. Assim, sob um aspecto fisiopatológico, um indivíduo é diagnosticado com DRC quando apresenta Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) $< 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ com ou sem lesão renal por um período igual ou superior a três meses e/ou lesão do parênquima renal, evidenciada por anormalidades histopatológicas, exames de imagem ou por marcadores bioquímicos, com ou sem diminuição do RFG, por período igual ou superior a três meses.

Ainda segundo as diretrizes do KDIGO, a DRC é classificada com base na causa, categoria de RFG e categoria de albuminúria. Na **tabela 1** é possível verificar o estadiamento da DRC de acordo com o RFG.

Tabela 1 - Estágios da Doença Renal Crônica de acordo com ritmo de filtração glomerular

| CATEGORIA | DESCRIÇÃO | RFG (mL/min/1,73m ²) |
|-----------|--|----------------------------------|
| G1 | Normal ou aumentado | ≥ 90 |
| G2 | Ligeiramente diminuído | 60-89 |
| G3a | Ligeiramente a moderadamente diminuído | 45-59 |
| G3b | Moderadamente a severamente diminuído | 30-44 |
| G4 | Severamente diminuído | 15-29 |
| G5 | Falência renal | <15 |

Fonte: Adaptado de KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease, 2012, p.5.

2.1.2 Epidemiologia da Doença Renal Crônica

A DRC afeta aproximadamente 10% da população mundial adulta, figurando entre as 20 primeiras causas de morte em todo o mundo (PICCOLI *et al.*, 2018). Nos últimos 10 anos, a incidência de DRC aumentou 3-7%, sendo considerada hoje um problema de saúde pública. Este aumento é relacionado ao rápido crescimento populacional, envelhecimento da população com associação aos fatores de risco para DRC e fatores ambientais (YAO *et al.*, 2018).

Em 2012, segundo a Sociedade Brasileira de Nefrologia, estimava-se que, no Brasil, cerca de 10 milhões de indivíduos apresentavam algum grau de DRC, sendo a prevalência de 50/100.000 habitantes (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2012). Considerando-se uma prevalência de 8 a 16% em muitos países, estimada pela *Global Kidney Disease 3*, a faixa de prevalência para o Brasil seria de 11 a 22 milhões de habitantes adultos com algum grau de disfunção renal em 2014 (DRAIBE, 2014). Em revisão sistemática, Marinho e colaboradores (2017) verificaram que, de acordo com estimativas populacionais com base na doença renal autorreferida, de 3 a 6 milhões de adultos brasileiros teriam DRC. Estes dados apontam para a importância de se estabelecer políticas de prevenção e controle da doença em nosso meio.

2.1.3 Fatores de Risco para Doença Renal Crônica

Os principais fatores de risco para a DRC são hipertensão arterial sistêmica (HAS) e diabetes mellitus (DM) (BASTOS; KIRSZTAJN, 2011; BORTOLOTTI, 2008). Nos Estados Unidos, um estudo recente apontou que cerca de 50% dos indivíduos com DRC também apresentavam diabetes e/ou auto reportaram possuírem alguma doença cardiovascular, entre elas, hipertensão (UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM, 2015). No Brasil, o último censo da Sociedade Brasileira de Nefrologia indicou que, em 2016, 41% dos pacientes inseridos nos serviços de diálise tinham doença renal supostamente devido ao diabetes. Entre os pacientes prevalentes, nefropatia hipertensiva (34%) e diabetes (30%) foram as principais doenças de base, seguidas por glomerulonefrite crônica (9%), rins policísticos (4%), outros diagnósticos (12%) e diagnóstico indefinido (11%) (SESSO *et al.*, 2017). As malformações congênitas, infecções urinárias e litíases de repetição, rins

policísticos, história familiar de DRC, extremos de idade (idosos e crianças), doenças auto-imunes, como lúpus, e uso de medicamentos nefrotóxicos também são exemplos de patologias e condições que provocam lesão renal ou representam risco para desenvolvimento da DRC (ROMÃO Jr., 2004).

2.1.4 Terapia Renal Substitutiva

Algumas complicações resultantes da DRC (anemia, acidose metabólica, alteração do metabolismo mineral, desnutrição, doenças cardiovasculares) geralmente ocorrem durante um longo período de tempo e contribuem para que a doença progrida até o estágio de insuficiência renal crônica terminal, fase mais avançada da DRC, em que os rins não conseguem manter a normalidade do meio interno do indivíduo. Nestes casos, a alternativa é a TRS, que consiste na diálise e transplante renal (BASTOS; BREGMAN; KIRSTAJN, 2010; BASTOS; KIRSZTAJN, 2011). De acordo com o Censo Brasileiro de Diálise Crônica, em julho de 2016, havia aproximadamente 122.800 pacientes em diálise, sendo que, entre os pacientes prevalentes, 92% estavam em hemodiálise e 8% em diálise peritoneal. Em 5 anos, verificou-se um aumento anual médio no número de pacientes igual a 6,3%, sendo que, só em 2016, mais de 39.000 iniciaram diálise (SESSO *et al.*, 2017).

O transplante renal é o tratamento de escolha para um número significativo de pacientes com DRC. Este procedimento está associado à melhoria da qualidade de vida e maior sobrevida dos pacientes com nefropatias em comparação à diálise, tanto do ponto de vista clínico, quanto social ou econômico (TONELLI *et al.*, 2011).

Segundo dados do Registro Brasileiro de Transplantes da Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO-RBT), durante o ano de 2017, 1.176 pacientes morreram enquanto aguardavam por um transplante renal, e até dezembro do mesmo ano, ainda havia 21.059 pacientes ativos na lista de espera. Por outro lado, foram realizados 5.929 transplantes renais no ano de 2017, sendo o rim doado, em sua maioria, proveniente de doador falecido. Este número representa cerca de 70% do total de transplantes de órgãos sólidos realizados no país (ABTO-RBT, 2017). Em 2016, o Brasil ficou em segunda posição em número absoluto de transplantes renais em levantamento realizado com 30 países, ficando atrás apenas dos Estados Unidos (ABTO-RBT, 2017). Na **tabela 2** estão demonstrados o total anual de transplantes de rim realizados no Brasil nos anos de 2010 a 2017.

Tabela 2- Número absoluto total e por tipo de doador de transplantes de rim realizados no Brasil entre 2010 e 2016

| Número absoluto de transplantes de rim | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Total | 4.656 | 4.982 | 5.431 | 5.464 | 5.661 | 5.589 | 5.514 | 5.929 |
| Doador vivo | 1.655 | 1.652 | 1.501 | 1.386 | 1.385 | 1.189 | 1.217 | 1.136 |
| Doador falecido | 3.011 | 3.330 | 3.930 | 4.078 | 4.276 | 4.400 | 4.297 | 4.793 |

Fonte: Adaptado de ABTO- RBT., Associação Brasileira de Transplante de Órgãos – Registro Brasileiro de Transplantes. Dimensionamento dos Transplantes no Brasil e em cada estado (2010-2017)., Ano 23, n. 4, 2017

Estas estatísticas demonstram os avanços alcançados no tratamento da DRC. No entanto, está é uma doença cada vez mais prevalente, de difícil manejo e com inúmeros fatores envolvidos, que requer ainda muito investimento, principalmente no que se refere às pesquisas de novos biomarcadores de diagnóstico e monitoramento.

2.2 ALTERAÇÕES DO METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO EM DOENTES RENAIIS CRÔNICOS E TRANSPLANTADOS RENAIIS

As desordens do metabolismo mineral e ósseo são comuns entre pacientes com DRC. As alterações mais comuns vão se estabelecendo ao longo do processo de evolução da doença e da diálise e podem permanecer mesmo após o transplante (D'MARCO *et al.*, 2015). Neste processo, ocorre desequilíbrio dos níveis séricos de cálcio, fósforo, paratormônio (PTH) e vitamina D devido ao declínio da função renal, com desenvolvimento de comorbidades associadas à DRC (NITTA; YAJIMA; TSUCHIYA, 2017; KOCHANNEK; SAID; LARMA, 2015).

2.2.1 *Distúrbio Mineral e Ósseo da Doença Renal Crônica (DMO-DRC)*

Os pacientes com DRC são afetados por alterações minerais e ósseas devido a anormalidades nas concentrações séricas de cálcio, fósforo e PTH, levando ao desenvolvimento do DMO-DRC (COZZOLINO, 2018). Há o desenvolvimento da osteodistrofia renal, caracterizada por um espectro de doenças ósseas que afetam

pacientes que permanecem por longos períodos nos estágios finais da DRC e caracteriza-se, mais comumente, por um aumento do *turnover* ósseo devido à hipocalcemia crônica (LAWAL *et al.*, 2017). No entanto, é possível também que ocorra o surgimento de doença óssea adinâmica, com diminuição da formação óssea (FRAUSCHER *et al.*, 2018). Assim, no DMO-DRC, verifica-se o comprometimento do remodelamento ósseo, da mineralização, da força, do crescimento linear e surgimento de outras anormalidades ósseas, como osteíte óssea, osteomalácia, osteopenia, osteoporose ou uma combinação destas condições (BERNUY; GONZALES, 2015).

Outra complicação do DMO-DRC é a calcificação de tecidos moles, incluindo a calcificação vascular, um possível fator de risco para o surgimento de complicações cardiovasculares (MOYSÉS; SCHIAVI, 2015). Com a calcificação vascular, promoção de vasoconstrição e calcificação túbulo-intersticial, a hipercalcemia pode levar a perda do enxerto (D'MARCO *et al.*, 2015; BERNUY; GONZALES, 2015).

Nos pacientes com DRC, o DMO-DRC se desenvolve em associação com hiperparatireoidismo secundário devido ao acúmulo de fósforo no plasma e à hipocalcemia, provocando um quadro de perda óssea e um aumento do risco de fratura (FRAUSCHER *et al.*, 2017). O hiperparatireoidismo também pode ser secundário à deficiência de 1,25-dihidróxi-vitamina D [$1,25(\text{OH})_2\text{D}$], achado comum entre pacientes em hemodiálise (COZZOLINO, 2018).

Contudo, o metabolismo mineral e ósseo, o DMO-DRC e seus desfechos são mais comumente avaliados na DRC, sendo este controle realizado com menos frequência no pós-transplante renal.

Sabe-se que entre os pacientes que realizaram o transplante, as alterações mais comumente observadas são a hipofosfatemia e hipercalcemia: após o transplante renal, o hiperparatireoidismo secundário pode permanecer (a hiperplasia da paratireoide é um dos fatores) fazendo com que o excesso de paratormônio liberado leve ao aumento da reabsorção de cálcio e da excreção de fosfato (WOLF *et al.*, 2016). Níveis elevados do fator de crescimento de fibroblasto 23 (FGF-23) que, entre outras funções, diminui a produção de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, também induzem o hiperparatireoidismo e, conseqüentemente, hipofosfatemia pós-transplante renal (PRAKOBUSUK *et al.*, 2017). Em um estudo retrospectivo em que foi avaliada a relação dos marcadores do DMO-DRC em pacientes em hemodiálise, a

hipercalcemia (10,9-11,9 mg/dL) e hipofosfatemia (<2,0 mg/dL) se associaram a um risco aumentado de mortalidade por todas as causas e mortalidade cardiovascular (ZHU *et al.*, 2017). Assim, é pode-se presumir que tais anormalidades do metabolismo mineral sejam prejudiciais também após o transplante renal.

Considerando-se o exposto, a recomendação é que os pacientes com DMO-DRC e mesmo os pacientes submetidos ao transplante renal sejam avaliados em relação ao metabolismo mineral e ósseo e as decisões clínicas sejam tomadas a partir da avaliação periódica das concentrações séricas de cálcio, fósforo e PTH (KETTELER *et al.*, 2018).

2.2.2 Vitamina D e Doença Renal Crônica

Vitamina D₃ ou colecalciferol é uma molécula orgânica produzida endogenamente a partir do substrato 7-deidrocolesterol via exposição à radiação ultravioleta B (UVB) ou adquirida através da dieta a partir de diversos alimentos. No organismo, a vitamina D atua como um hormônio esteróide em diversas vias metabólicas, sendo especialmente reconhecida pelo seu papel sobre o metabolismo do cálcio e fósforo (PÉREZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016).

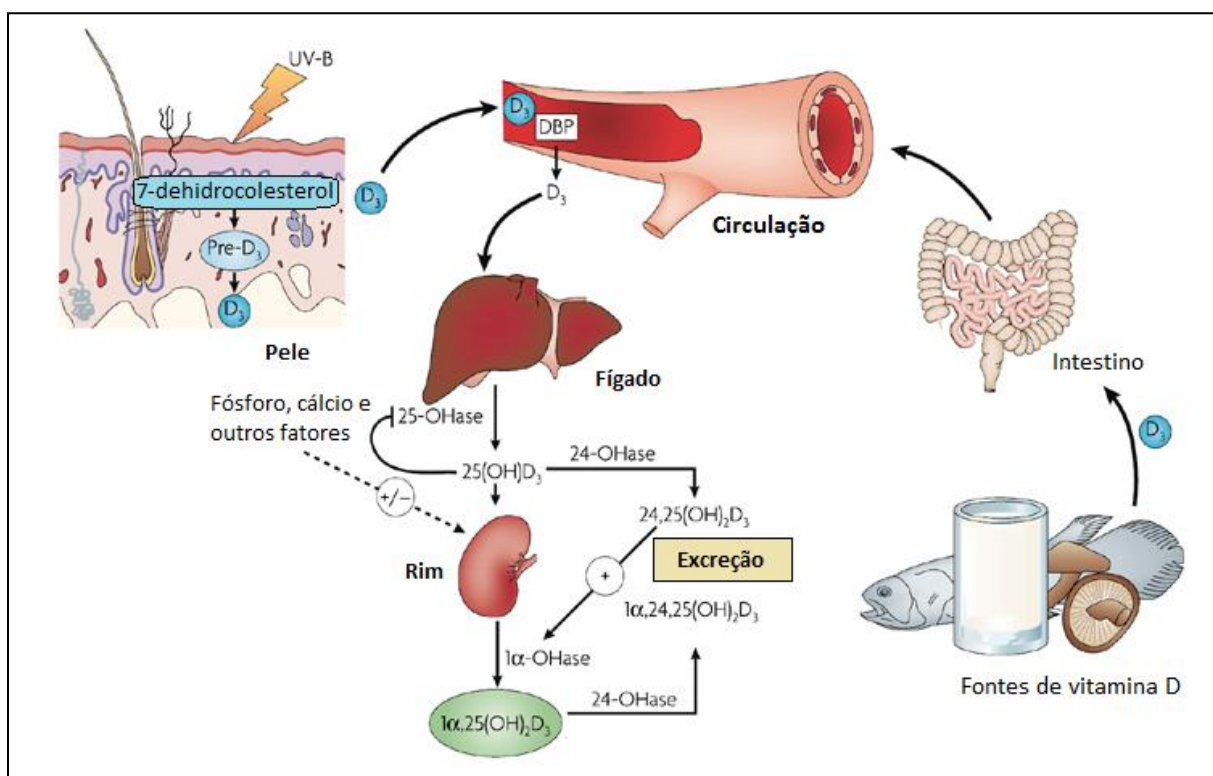
A vitamina D₃ possui vários metabólitos, sendo 25-hidróxi-vitamina D [25(OH)D] o mais abundante na circulação. No entanto, a forma biologicamente ativa e que tem influência sobre o metabolismo mineral e ósseo é a 1,25(OH)₂D (WACKER; HOLICK, 2013). A vitamina D exerce suas funções através da ligação aos receptores de vitamina D (VDR), que pertencem à superfamília dos receptores nucleares do tipo 1 e estão presentes em mais de 36 tecidos, incluindo o renal (MANUCHA; JUNCOS, 2016). Este tipo de receptor funciona como um fator de transcrição, modulando a expressão de genes que respondem à vitamina D (SOBEIH *et al.*, 2016). A vitamina D também pode exercer suas funções a partir de ações “não-genômicas” modulando o balanço de cálcio intracelular e ativando vias com participação de fosfato quinases e fosfatases no citoplasma (MORRIS, 2014).

Na epiderme, a radiação solar UVB (280-315 nm) é absorvida pelo 7-deidrocolesterol, que sofre um rearranjo estrutural dando origem à pré-vitamina D₃. A estrutura planar da pré-vitamina D₃ é altamente instável e é rapidamente convertida em vitamina D₃ (WACKER; HOLICK, 2013). A vitamina D₃ é transportada até o fígado ligada à proteína ligadora de vitamina D (DBP) onde sofre a

carboxilação do C-25 originado a 25(OH)D pela ação, principalmente, da enzima 25-hidroxilase (VELDURTHY *et al.*, 2016). A 25(OH)D formada é transportada novamente pela DBP até os túbulos contorcidos proximais nos rins e é convertida em sua forma ativa, a 1,25(OH)₂D, ao sofrer uma hidroxilação no C-1 pela ação da enzima 1α-hidroxilase (WACKER; HOLICK, 2013; VELDURTHY *et al.*, 2016).

Após exercer suas funções fisiológicas, a 1,25(OH)₂D é metabolizada nos rins e o produto final, o ácido calcitrólico, é excretado na urina (PÉREZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016) (**Figura1**).

Figura 1 – Metabolismo da vitamina D



Fonte: Adaptado de Deeb, Trump e Johnson, 2007 UV-B=radiação ultravioleta B; D₃=colecalciferol; DBP=proteína ligadora de vitamina D; 25-OHase=25-hidroxilase; 25(OH)D₃=25-hidróxi-vitamina D; 1α-OHase=1-α-hidroxilase; 1α,25(OH)₂D₃=1,25-dihidróxi-vitamina D; 24-OHase=24-hidroxilase; 1α,24,25(OH)₂D₃=1,24,25-trihidróxi-vitamina D; 24,25(OH)₂D₃=ácido calcitrólico.

Os intervalos de referência para 25(OH)D foram recentemente redefinidos pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) em associação com Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM), levando-se em consideração a idade e características clínicas dos indivíduos. Valores superiores a 20 ng/mL são desejáveis para a população adulta saudável.

Para grupos de risco como idosos, gestantes, pacientes com raquitismo/osteomalácia, osteoporose, hiperparatireoidismo e doença renal crônica, por exemplo, os valores recomendados estão entre 30 e 60 ng/mL. Níveis superiores a 100 ng/mL foram associados ao risco de toxicidade e hipercalcemia (SBPC/ML; SBEM, 2017).

Deficiência de vitamina D é comumente encontrada em pacientes com DRC, em todos os estágios, sendo a diminuição da filtração glomerular um dos mecanismos envolvidos, pois limita o fornecimento de 25(OH)D para a enzima 1 α -hidroxilase no túbulo renal proximal e, assim, diminui a capacidade do rim em produzir a 1,25(OH)₂D (INDA FILHO; MELAMED, 2013). Níveis de vitamina D inferiores aos valores considerados normais já foram estabelecidos como preditores independentes para morte e progressão da doença em pacientes com DRC (MOLINA *et al.*, 2016). De forma inversa, a redução do risco de incidência de doença renal em estágio final se associa a altos níveis de vitamina D e baixos níveis plasmáticos de DBP, pois, nesta condição, a vitamina D tem sua biodisponibilidade aumentada (REBHOLZ *et al.*, 2016).

A relação dos níveis de vitamina D com a função renal parece ocorrer de forma direta, uma vez que a prevalência de deficiência e insuficiência de vitamina D é maior entre os pacientes nos estágios mais avançados da doença (3-5) em comparação aos estágios iniciais (UREÑA-TORRES *et al.*, 2011; RAVANI *et al.*, 2009). Essa alta prevalência de deficiência de vitamina D persiste mesmo após o transplante renal pela influência de fatores como a terapia imunossupressora, uremia persistente, redução da exposição ao sol e da ingestão dessa vitamina na dieta destes pacientes (FILIPOV *et al.*, 2016). Em uma avaliação sequencial dos níveis de vitamina D pós transplante renal, Lee e colaboradores observaram que os níveis de vitamina D passaram a aumentar gradualmente somente 6 meses após o transplante e, transcorridos 12 meses, 40% dos pacientes analisados apresentavam níveis de vitamina D inferiores a 10 ng/mL, ou seja, deficiência (LEE *et al.*, 2016). Em outro estudo, no qual se buscou avaliar as alterações no metabolismo ósseo de pacientes submetidos ao transplante renal no momento peri-transplante e 6 meses após, não foram observados aumentos significativos nos níveis de 25(OH)D, sendo que aproximadamente 50% dos indivíduos avaliados ainda apresentavam deficiência (25(OH)D \geq 10 e $<$ 20 ng/mL). No entanto, os níveis do metabólito ativo 1,25(OH)₂D

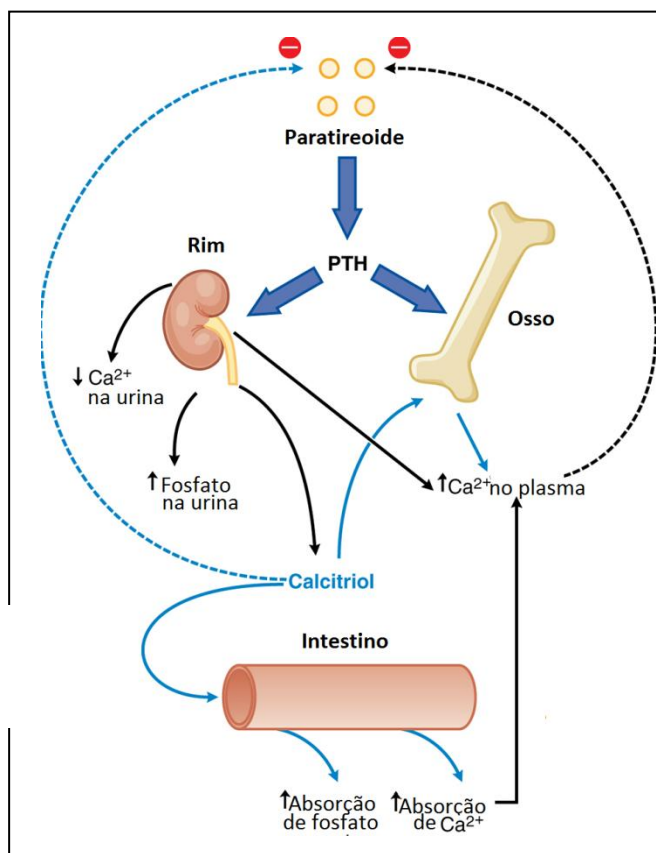
mostraram-se significativamente aumentados no pós-transplante renal (SCHREIBER *et al.*, 2018).

Algumas evidências têm indicado o potencial renoprotetor da vitamina D como supressora do sistema renina-angiotensina (LI *et al.*, 2002; YUAN *et al.*, 2007). De fato, receptores de enxerto renal podem se beneficiar da manutenção de níveis de vitamina D igual ou superior ao considerado normal (≥ 20 ng/mL), uma vez que maiores concentrações de vitamina D se correlacionaram com menor proteinúria (LOMONTE, 2005). Conseqüentemente, o RFG de pacientes renais crônicos e receptores de enxerto renal também é influenciado pelos níveis de vitamina D.

2.2.3 Hiperparatireoidismo Secundário na Doença Renal Crônica e Pós-Transplante Renal

Hiperparatireoidismo secundário é a uma condição na qual os níveis de PTH estão aumentados e é uma complicação comum entre doentes renais crônicos e transplantados renais, sendo, portanto, reconhecida como hiperparatireoidismo renal (NOAH *et al.*, 2016). Fisiologicamente, o PTH é liberado pela paratireoide em resposta a baixos níveis plasmáticos de cálcio e atua aumentando os níveis de cálcio por meio de diversos mecanismos. Nos ossos, o PTH atua sobre os osteoblastos, os quais por sua vez, estimulam a liberação de fósforo e cálcio pelos osteoclastos em um processo de osteólise. Quando ocorre ativação de receptores renais, o PTH estimula a reabsorção de cálcio nos túbulos distais, inibe a reabsorção urinária de fósforo no túbulo proximal e estimula a enzima 1α -hidroxilase a converter a 25(OH)D em sua forma ativa $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, a qual atua no intestino aumentando a absorção de cálcio e fósforo (NOAH *et al.*, 2016; ROSZKO, 2016)(**Figura 2**).

Figura 2 – Homeostase do cálcio e fósforo e sua regulação pelo PTH



Fonte: Adaptado de Brunton, Chabner e Knowlmann, 2012,p.1277. PTH = paratormônio.

Nos pacientes renais crônicos, o controle da homeostasia dos hormônios reguladores, como PTH, e de metabólitos do metabolismo mineral e ósseo, como cálcio, fósforo e vitamina D está comprometido (TAWEESED, 2015).

Assim, nestes pacientes, o hiperparatireoidismo pode ocorrer como um mecanismo compensatório à hipocalcemia induzida por aumento dos níveis de fósforo (hiperparatireoidismo secundário) ou pela produção autônoma de PTH pela glândula paratireoide (hiperparatireoidismo terciário) decorrente da persistência do hiperparatireoidismo secundário (NOAH *et al.*, 2016). Nos pacientes com DRC, RFG abaixo de 60 mL/min/1,73m² já se correlaciona com altos níveis de PTH. O que ocorre é que com a função renal prejudicada, o fósforo já não é adequadamente excretado e, em excesso, se liga ao cálcio formando fosfato ácido de cálcio (CaHPO₄.) A hipocalcemia resultante induz o aumento compensatório de PTH (NOAH *et al.*, 2016). Além disso, na DRC, a partir do estágio 3, há o

comprometimento da conversão de 25(OH)D em 1,25(OH)₂D mediada pela 1 α -hidroxilase, uma vez que a diminuição da função renal diminui a atividade dessa enzima, levando à redução da absorção intestinal de cálcio e consequente hiperparatireoidismo. Evidências também apontam para redução dos receptores de vitamina D e resistência ao PTH em nível tecidual em pacientes com DRC (KDIGO, 2009). Além destes fatores, a má absorção intestinal de cálcio, redução dos receptores de vitamina D e receptores sensíveis ao cálcio nas glândulas paratireoidianas e alterações nas atividades de proteínas que se ligam ao mRNA modulando a transcrição do gene do PTH, observadas nos pacientes com DRC, contribuem com o desenvolvimento do hiperparatireoidismo secundário (KUMAR; THOMPSON, 2011). Nos pacientes com DRC e DRC em estágio final, o hiperparatireoidismo se correlaciona com aumento na incidência de fraturas e de mortalidade (KUMAR; THOMPSON, 2011).

Após o transplante renal, a tendência é que os níveis de PTH diminuam logo nos primeiros meses (TAWEESEDT, 2015). Em avaliação sequencial de pacientes antes do transplante renal e 6 meses após, Schreiber e colaboradores (2018) observaram uma redução significativa das concentrações médias de PTH [208.7 pg/mL *versus* (vs) 66.0 pg/mL, $p < 0,001$. No entanto, a persistência do hiperparatireoidismo é comumente observada, com cerca de 30-75% dos pacientes exibindo altos níveis de PTH de três a 12 meses após o transplante (GOMES *et al.*, 2016; TAWEESEDT, 2015; WAŻNA-JABŁOŃSKA *et al.*, 2016; PERRIN *et al.*, 2013; LOMONTE *et al.*, 2005).

O hiperparatireoidismo pode estar presente mesmo em pacientes com enxerto adequadamente funcionante e, entre os fatores de risco predisponentes para a persistência, estão os altos níveis de PTH antes do transplante, tempo de diálise, tempo de diagnóstico da DRC, hiperplasia monoclonal das glândulas paratireoidianas, que exibem menos receptores para cálcio e vitamina D, função do enxerto renal num estado subótimo e deficiência nativa de vitamina D (GOMES *et al.*, 2016; TAWEESEDT, 2015; PERRIN *et al.*, 2013).

O excesso de PTH liberado leva ao aumento da reabsorção de cálcio e da excreção de fosfato e como consequência, as alterações mais comumente observadas entre pacientes que realizaram transplante renal são hipofosfatemia e a hipercalcemia (GOMES *et al.*, 2016; D'MARCO *et al.*, 2015). Níveis elevados do fator de FGF-23 que, entre outras funções, diminui a produção de 1,25(OH)₂D, podem ser

encontrados nos primeiros três a 12 meses pós transplante renal e também podem induzir o hiperparatireoidismo e, conseqüentemente, hipofosfatemia pós-transplante renal em alguns pacientes (TAWEESED, 2015).

A persistência de hiperparatireoidismo secundário após o transplante renal, em sua forma mais grave, pode levar a algumas complicações, como piora da função renal residual causada por hipercalcemia, calcificação vascular e calcificação túbulo-intersticial, doença neuromuscular, perturbações, perda do enxerto e morte (KDIGO, 2009; D'MARCO *et al.*, 2015).

Diferentemente da DRC em estágio final, em que há recomendações sobre o monitoramento de níveis de PTH dos pacientes, o manejo do hiperparatireoidismo em pacientes transplantados é dificultado pela falta de *guidelines* sobre os níveis ótimos de PTH (PERRIN, 2013). Apesar desta limitação, somada ao fato que o PTH reflete a atividade das glândulas paratireóides e não do metabolismo ósseo, o nível sérico de PTH ainda é utilizado como um dos principais marcadores de remodelação óssea (ABENSUR, 2011). Níveis de PTH abaixo de 100 pg/mL estão associados à doença de baixa remodelação, enquanto níveis acima de 450 pg/mL são mais frequentemente associados a estados de alta remodelação óssea. Valores dentro do intervalo 100-450 pg/mL podem ser encontrados em ambas as patologias ou até mesmo em indivíduos com taxa de formação óssea normal (ABENSUR, 2011).

Segundo atualizações de diretrizes propostas pelo KDIGO, em 2017, para o diagnóstico, avaliação, prevenção e tratamento do DMO-DRC, o diagnóstico, classificação e decisões terapêuticas sobre osteodistrofia renal devem se basear nas tendências de níveis séricos de PTH em dosagens seriadas, sendo recomendada a biópsia apenas quando as alterações nas concentrações de PTH forem inconsistentes (KETTELER *et al.*, 2018). Isto exemplifica a importância deste hormônio como biomarcador de monitoramento, com aplicações no pré e pós-transplante renal.

2.3 EFEITO DO ESTROGÊNIO SOBRE OS RINS

A ação do estrogênio no organismo se dá pela ligação aos receptores alfa ($ER\alpha$) e beta ($ER\beta$). Ambos os receptores se encontram expressos em vários tecidos do organismo humano, onde exercem suas funções reguladoras. A distribuição dos receptores no organismo é variável, bem como sua ação. No útero,

glândula mamária e sistema imune, por exemplo, o receptor alfa promove proliferação enquanto o receptor beta possui funções pró-diferenciação e pró-proliferação (MORANI; WARNER; GUSTAFSSON, 2008)

O receptor alfa de estrogênio encontra-se expresso com maior frequência no trato genital feminino, mas também é expresso no fígado, coração, na maior parte das células do sistema imune e também nos rins (SVENSON *et al.*, 2014). No epitélio renal, tanto no complexo glomerular quanto tubular, o receptor exerce importante efeito modulador sobre os processos metabólicos e funcionais (GLUHOVSCHI *et al.*, 2012).

Os estrógenos exercem papel importante na progressão de algumas doenças renais crônicas, exibindo um efeito protetor sobre os rins. Sob este aspecto, a relação entre gênero e desenvolvimento de DRC já foi estabelecida, sendo a progressão da doença em homens mais acelerada e com maior gravidade do que em mulheres (COGGINS *et al.*, 1998; GLUHOVSCHI *et al.*, 2012).

Foi demonstrado em modelos animais que os estrógenos endógenos possuem efeitos anti-apoptóticos e anti-fibróticos nos rins (STRINGER, *et al.*, 2005). Através da administração de estrógenos exógenos em ratas ovariectomizadas, Maric e colaboradores também evidenciaram o efeito renoprotetor dos hormônios femininos por meio da atenuação de glomeruloesclerose e fibrose túbulo intersticial (MARIC; SANDBERG; HINOJOSA-LABORDE, 2004). Em metanálise, na qual 68 diferentes estudos foram revisados, com mais de 11.000 pacientes, ao se comparar homens e mulheres portadores de doenças como rim policístico, nefropatia por IgA, glomerulopatia membranosa e DRC com etiologia desconhecida, foi evidenciado que a progressão das doenças ocorre com uma taxa menos acelerada nas mulheres (NEUGARTEN; ACHARYA; SILBINGER, 2000).

Estudos sugerem que as diferenças observadas entre homens e mulheres na progressão da DRC se devem a interações dos estrógenos circulantes com receptores renais específicos, como os relacionados aos sistemas renina-angiotensina e óxido-nítrico (BAIARDI *et al.*, 2005). Ao analisar vários estudos, Silbiger e Neugarten levantaram diferentes mecanismos pelos quais os hormônios sexuais femininos estão envolvidos na patogênese e progressão da doença renal, como a inibição ou estimulação da síntese de várias citocinas, fatores de crescimento e agentes vasoativos, efeitos sobre a proliferação de células

mesangiais e sobre a hemodinâmica glomerular e redução de síntese de colágeno mesangial (SILBIGER; NEUGARTEN, 2008).

2.4 RELAÇÃO ENTRE ESTROGÊNIO, VITAMINA D, PARATORMÔNIO E METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO

O estrogênio tem um papel fundamental no processo de mineralização e formação óssea, influenciando, conseqüentemente, o metabolismo mineral e os níveis plasmáticos de cálcio e fósforo. O hormônio atenua a perda óssea pela estimulação de osteoblastos e inibição dos osteoclastos, exercendo, portanto, um efeito ósseo protetor (McROBB *et al.*, 2017). De forma inversa, a deficiência de estrogênio é o principal fator determinante da perda óssea relacionada com o avanço da idade, sendo bem estabelecido que os níveis extremamente baixos em mulheres pós-menopausa se relacionam com fragilidade óssea e osteoporose (GAMBACCIANI; LEVANCINI, 2014)

Estudos em modelo animal demonstraram que o estrogênio promove o fornecimento de cálcio necessário ao remodelamento ósseo. Nos túbulos contorcidos distais nos rins de ratas, houve estimulação dos receptores apicais de cálcio, levando à sua reabsorção (Van ABEL *et al.*, 2002). Além disso, é bem estabelecida a ação do estrogênio sob o processo de absorção de cálcio mediante sua ligação aos ER α localizados no intestino (FLEET; SCHOCH, 2010). De modo inverso, foi demonstrado em ratas ovariectomizadas tratadas com estrogênio, que o hormônio provoca uma subregulação dos receptores de fosfato inorgânico (NaPi-II) localizados nas células do túbulo proximal renal. Como consequência, verifica-se perda urinária deste íon com hipofosfatemia significativa (WEBSTER *et al.*, 2015). Finalmente, estudos clínicos demonstraram que maiores níveis de estrogênio associaram-se com hipofosfatemia tanto em homens quanto em mulheres (MENG *et al.*, 2010; UEMURA *et al.*, 2000).

O estrogênio atua sobre o PTH reduzindo seus níveis plasmáticos e inibindo a reabsorção óssea mediada por esse hormônio. O mecanismo pelo qual essa regulação ocorre ainda não está indubitavelmente esclarecido. Foi sugerida a atuação indireta do estrogênio, secundária à sua ação sobre os níveis de cálcio, fósforo e do FGF-23, não tendo sido demonstrada a expressão de ER α e ER β em

células da paratireoide e, portanto, a ação direta do estrogênio (CARRILLO-LOPEZ *et al.*, 2009).

É sabido que níveis aumentados de fósforo induzem a síntese e secreção de PTH. Através da subregulação do receptor NaPi-II, o estrogênio provoca hiperfosfatúria com conseqüente redução dos níveis de PTH (WEBSTER *et al.*, 2016).

O efeito do estrogênio sobre o PTH mediado pelo FGF-23 resulta da estimulação deste fator pelo estrogênio de maneira dependente da concentração. Os níveis aumentados de FGF-23, por sua vez, podem provocar a diminuição de PTH devido 1) seu efeito sobre o cotransportador Na-Pi-II nos túbulos proximais, provocando hipofosfatemia; 2) redução dos níveis de 1,25(OH)₂D ao inibir a atividade da 1 α -hidroxilase, responsável pela síntese da forma ativa da vitamina D, e ao aumentar da atividade da 24-hidroxilase, responsável por seu catabolismo e 3) atuação na via mitogênica, ao ativar a via das proteínas quinases nas células da paratireoide, diminuindo a síntese e secreção de PTH (RODRÍGUEZ-ORTIS; RODRÍGUEZ, 2015; CARRILLO-LOPEZ *et al.*, 2009).

De forma contrária, o PTH também é capaz de influenciar o metabolismo do estrogênio. Foi demonstrado em um experimento *in vitro* com células de rim de macaco e células de linhagem pré-osteoblástica que o PTH interfere na atividade do ER α por meio de um mecanismo dual: na presença do ligante 17- β estradiol, o PTH induz a diminuição da atividade do receptor e, na ausência do ligante, estimula ativação transcricional do ER α , aumentando sua atividade (MONIKA *et.al*, 2014).

O estrogênio também tem influência sobre o metabolismo da vitamina D. Baixos níveis de vitamina D se correlacionam com baixos níveis de estrogênio, devido à correção da síntese do hormônio sexual pela 1,25(OH)₂D, em parte por sua ligação ao seu receptor nuclear (ZHAO *et al.*, 2017). Os níveis séricos de vitamina D na sua forma total e livre também podem sofrer alteração por influência do estrogênio, devido ao efeito estimulador do hormônio sexual sobre a síntese hepática de DBP (MØLLER *et al.*, 2013). Em estudo realizado por Pope colaboradores (2015) em que foi avaliada a relação entre as concentrações de estrogênio e de DBP em mulheres pré e pós-menopausa, verificou-se uma correlação positiva entre as concentrações dos dois hormônios, sendo o estrogênio, portanto, um preditor dos níveis de DBP e de vitamina D e seus metabólitos (POP *et al.*, 2015).

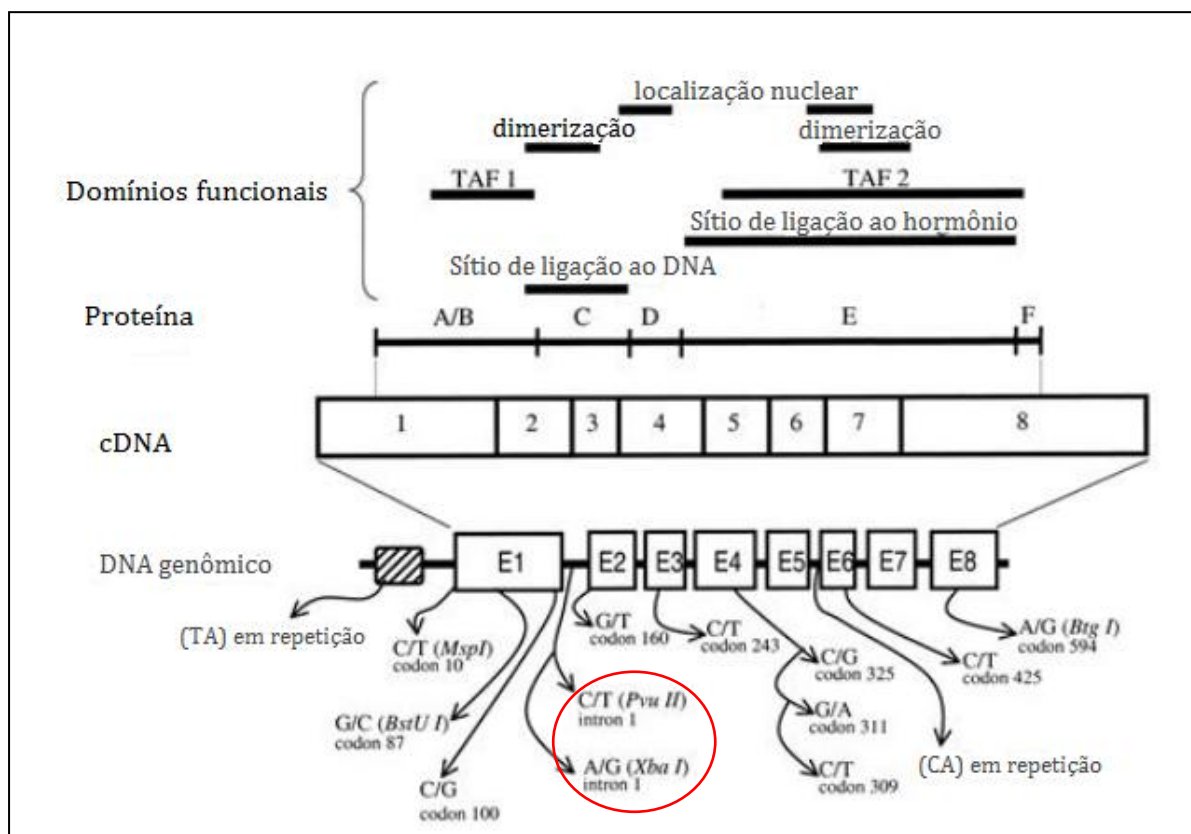
Estudos em modelo animal evidenciaram uma subregulação de VDR intestinais, com subsequente redução na absorção de cálcio, em ratas ovariectomizadas. Em contrapartida, a terapia estrogênica preveniu a diminuição do número de VDR e aumentou a expressão desse receptor, modulando a ação da vitamina D no intestino (LIEL *et al.*, 1999). Estudo *in vitro* com condrócitos de ratos machos e fêmeas observou que a 1,25(OH)₂D regulou a produção de 17-β estradiol nessas células de uma maneira gênero dependente, sendo essa produção maior nas células provenientes das fêmeas. Concentrações baixas de 1,25(OH)₂D nas células dos machos não produziram efeitos sobre a produção de 17-β estradiol, enquanto que nas fêmeas, observou-se estimulação da produção do hormônio mesmo em baixas concentrações de 1,25(OH)₂D, verificando-se ainda um efeito dose-dependente (SYLVIA *et al.*, 2002).

A relação entre os níveis de estrogênio e vitamina D pode ainda ser evidenciada pelo efeito regulador da 1,25(OH)₂D sobre a P450 aromatase, a qual medeia a conversão de androgênios em estrogênios nos tecidos periféricos (TAKAYANAGI *et al.*, 2002).

2.5 RECEPTOR ALFA DE ESTROGÊNIO E SEUS POLIMORFISMOS

O ER α pertence a uma família de receptores nucleares, sendo especificamente um fator de transcrição. É formado por 595 aminoácidos e tem um peso molecular de aproximadamente 66 kD. Em sua estrutura, expressa seis domínios funcionais (A-F) (**Figura 3**), sendo dois deles evolutivamente conservados nas sequências primárias dos membros da superfamília de receptores hormonais nucleares: domínio de ligação ao ácido desoxirribonucleico (DNA) (domínio C) e domínio de ligação dependente de ligante (domínio E/F), o qual promove a dimerização e transativação do receptor mediada pelo domínio AF-2. O domínio D, frequentemente chamado de “região da dobradiça”, contém o sinal de localização nuclear e acredita-se que ele confira flexibilidade à estrutura tridimensional entre os domínios E e C. Na extremidade N terminal do receptor encontra-se o domínio A/B, o qual contém o domínio com função de ativação I (AF-1), responsável pela ativação transitória do promotor independente da presença do ligando (MORANI; WARNER; GUSTAFSSON, 2008; GOLDSTEIN e SITES, 2002).

Figura 3 – Estrutura, domínios funcionais e polimorfismos descritos para o gene ESR1



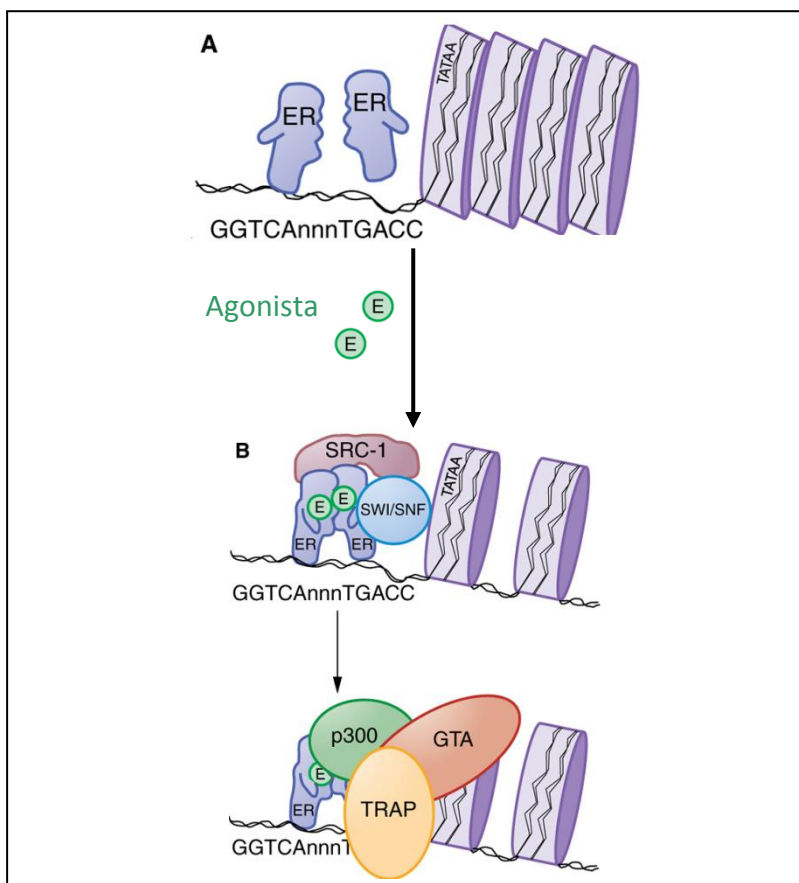
Fonte: Adaptado de Gennari *et al.*, 2015. Os polimorfismos intrônicos – E α -351 XbaI A/G e E α -397 PvuII estão destacados. ESR1 = Estrogen receptor 1 (receptor de estrogênio 1); T= timina, C=citosina, G=guanina e A= adenina; TAF= *transcriptional activating function*.

O gene *ESR1*, que codifica o receptor alfa de estrogênio, está localizado no braço longo do cromossomo 6 (6q24.1) e contém 8 éxons (HERRINGTON *et al.*, 2002; BOJAR *et al.*, 2015) (Figura 3). Vários polimorfismos genéticos já foram descritos para o gene *ESR1*, sendo em sua maioria, e clinicamente mais significativos, os *single nucleotide polymorphism* (SNPs), ou polimorfismos de nucleotídeo único. Conceitualmente, polimorfismos genéticos são definidos como a ocorrência de múltiplos alelos em um locus, onde pelo menos dois alelos ocorrem com uma frequência maior que 1% na população (FORRESTER *et al.*, 2016). Entre os SNPs do gene *ESR1*, destacam-se os polimorfismos identificados pelo uso das enzimas de restrição para regiões específicas *PvuII*, que reconhece a substituição C>T localizada no íntron 1 e corresponde ao polimorfismo rs2234693 (-397 C/T), e a enzima *XbaI*, específica para a substituição A>G, correspondendo ao polimorfismo

rs9340799 (-351A/G), localizado a aproximadamente 50 pb do sítio *PvuII* (TANAKA *et al.*, 2003).

O receptor exerce sua ação via mecanismos clássicos, como ativação por um ligante, translocação nuclear e ligação a elementos responsivos ao estrogênio em regiões promotoras do gene ou recrutando co-reguladores adicionais ao processo transcricional, pela ligação a outros fatores de transcrição e ativadores de proteína (**Figura 4**). Pode atuar também através de mecanismos não clássicos, como a ligação do receptor em membrana e participação de receptores citoplasmáticos em vias de sinalização intracelular (SVENSON *et al.*, 2014).

Figura 4 – Mecanismo molecular do receptor nuclear de estrogênio



Fonte: Adaptado de Brunton, Chabner e Knowlmann, 2012, p.1172. A. O receptor de estrogênio (ER) sem ligante existe como um monômero no interior do núcleo. **B.** A ligação do agonista provoca a dimerização do receptor e a interação com as sequências específicas do elemento de resposta dos estrogênios (ERE) no DNA. O complexo ER-DNA recruta co-ativadores como SWI/SNF e o coativador-1 do receptor de esteroide (SRC-1), que modificam a estrutura da cromatina. Essa remodelagem facilita a ligação de outros coativadores (p.ex., p300 e o complexo TRAP) ao promotor do gene alvo, culminando com o recrutamento de

proteínas do aparelho geral de transcrição (GTA) e síntese subsequente de mRNA.

2.6 POLIMORFISMOS DO GENE *ESR1* NA AVALIAÇÃO DO METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO

Os estrogênios exercem um efeito benéfico sobre os ossos. O ER α parece ser o principal receptor a mediar esse efeito, por meio da regulação do *turnover* ósseo, manutenção da massa óssea, maturação e fechamentos das epífises durante o crescimento longitudinal, inibição da perda óssea entre outros efeitos (GENNARI *et al.*, 2005).

O componente genético tem influência significativa sobre a densidade mineral óssea (DMO), a qual está associada a doenças como a osteoporose e osteoartrite, ambas fortemente relacionadas com o risco de fraturas (CHRISTIAN *et al.*, 1989; KOLLER *et al.*, 2013). Neste contexto, os polimorfismos *PvuII* e *XbaI* do gene *ESR1* têm sido avaliados a fim de se estabelecer possíveis associações com tais condições. No entanto, essas avaliações têm demonstrado resultados conflitantes e os mecanismos moleculares de como estes polimorfismos influenciam a expressão e atividade do receptor ainda não foram totalmente estabelecidos, sendo os polimorfismos *PvuII* e *XbaI* associados tanto ao aumento quanto à diminuição do risco de desenvolvimento de doenças (GENNARI *et al.*, 2002).

Em metanálise envolvendo mais de cinco mil indivíduos, Ioannidis e colaboradores (2002) evidenciaram o papel protetor do genótipo GG do polimorfismo *XbaI* A>G para a DMO, com menor risco de fratura (IOANNIDIS *et al.*, 2002). Em meta-análise que avaliou o risco de osteoartrite relacionada aos polimorfismos do gene *ESR1*, o alelo G do polimorfismo *XbaI* 351 A>G também exibiu um efeito protetor (MA *et al.*, 2015). Kim *et al.* (2011) também observaram uma associação positiva entre este alelo e maior DMO femoral (KIM *et al.* 2001).

Em contrapartida, outro estudo envolvendo oito centros Europeus e mais de 1.800 indivíduos, verificou-se redução de 19% no risco de ocorrência de qualquer fratura e redução de 35% no risco de fratura vertebral, de forma independente com a DMO, em indivíduos com ausência do sítio de restrição reconhecido pela enzima *XbaI*, ou seja, com genótipo AA. Apesar dos mecanismos envolvidos não terem sido elucidados, as possibilidades incluem os efeitos sobre a qualidade óssea, geometria

óssea, remodelamento ósseo ou outros fatores de risco de fratura, como diminuição da cognição ou da força muscular (IOANNIDIS *et al.*, 2004).

Existem ainda estudos em que a influência dos polimorfismos *PvuII* e *XbaI* sobre a DMO não foi verificada, indicando que este é um assunto controverso, em que as conclusões divergentes parecem depender das características e peculiaridades de cada população estudada (ZHANG *et al.*, 2003; RAPURI *et al.*, 2006).

Em relação às concentrações plasmáticas de marcadores do metabolismo mineral e ósseo, também não há uma definição sobre a influência dos polimorfismos do gene *ESR1*. Em estudo que buscou avaliar a influência dos polimorfismos *PvuII* e *XbaI* sobre um estado de restrição energética, Chang e colaboradores (2015) não observaram qualquer efeitos dos haplótipos e genótipos de ambos polimorfismos sobre as variações no perfil de absorção de cálcio (CHANG *et al.*, 2015). Também não foi verificada associação dos polimorfismos *PvuII* com concentrações basais de PTH e vitamina D, bem como com a densidade mineral óssea, em estudo longitudinal realizado com mulheres pós-menopausa em terapia de reposição hormonal (RAPURI *et al.*, 2006). Em contrapartida, outros estudos demonstraram a influência dos polimorfismos do gene *ESR1* sobre estes marcadores, tendo sido as altas concentrações de PTH associadas ao haplótipo CG, as de magnésio ao genótipo TT do polimorfismo *PvuII* e melhores repostas à suplementação com cálcio ao genótipo CC (SAPIR-KOREN *et al.*, 2003; SHUE *et al.*, 2009; YANG *et al.*, 2009)

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar biomarcadores do metabolismo mineral e ósseo em pacientes submetidos ao transplante renal e associá-los aos polimorfismos *PvuII* e *XbaI* do gene *ESR1*.

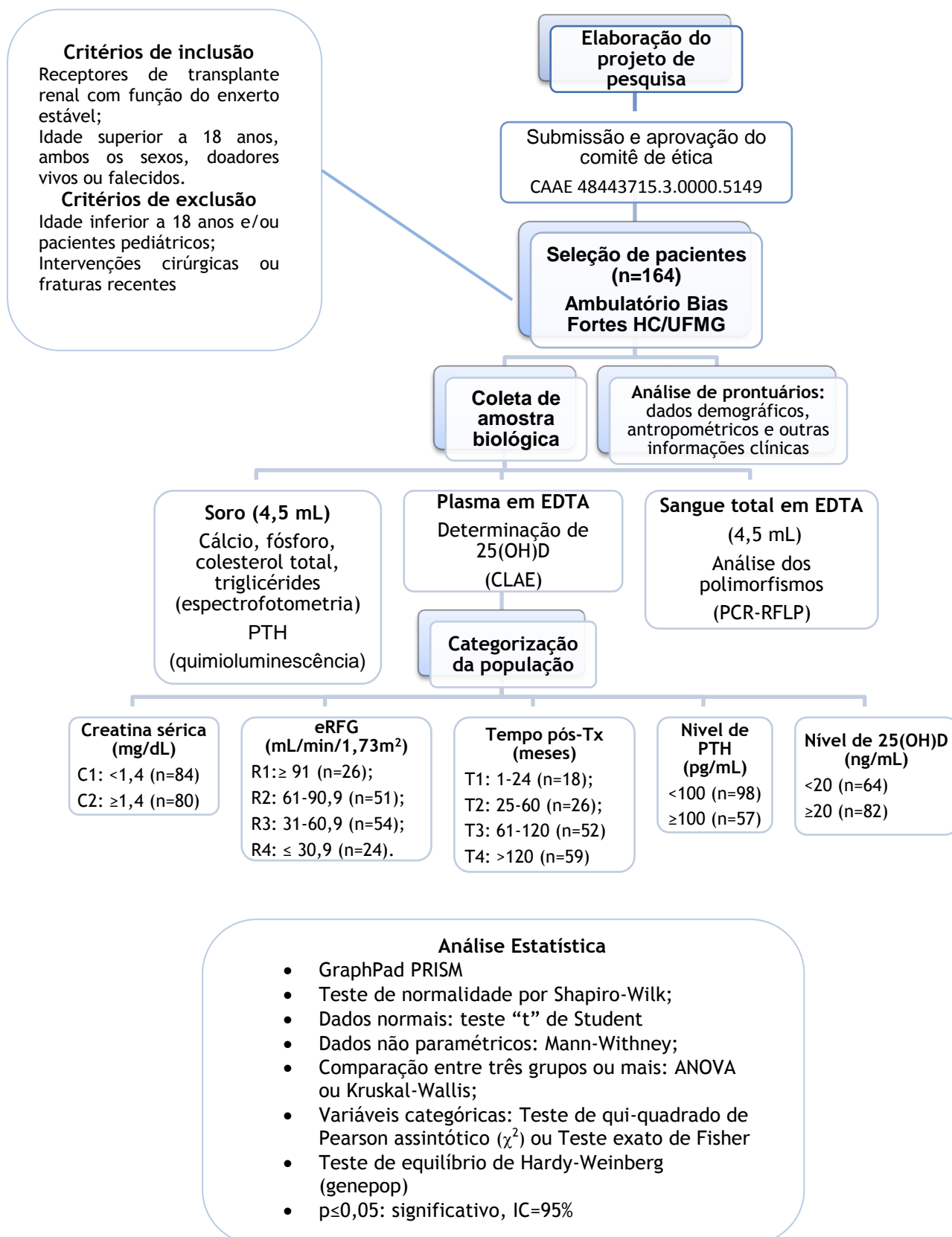
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Nos transplantados renais:

- Avaliar os níveis séricos de cálcio, fósforo, PTH e plasmático de 25(OH)D;
- Avaliar as frequências alélicas e genotípicas para os polimorfismos *PvuII* e *XbaI* do gene *ESR1*;
- Relacionar os polimorfismos do gene *ESR1* com os níveis séricos de cálcio, fósforo, PTH e plasmático de 25(OH)D;
- Avaliar a relação entre os biomarcadores do metabolismo mineral e ósseo, os polimorfismos genéticos e a função renal desses pacientes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL



4.2 CASUÍSTICA

Foram avaliados 165 voluntários (101 homens e 64 mulheres), receptores de transplante renal, em controle pós-transplante no Ambulatório de Transplantes da Unidade Bias Fortes, do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC/UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais. Os voluntários foram selecionados entre agosto de 2015 e outubro de 2016 durante a realização dos exames de rotina para controle ambulatorial. Foram obtidas amostras de sangue venoso de cada paciente em uma única ocasião. Dados demográficos, antropométricos e outras informações clínicas relevantes foram obtidos após consulta aos prontuários arquivados no Serviço de Arquivo Médico e Estatística (SAME) do HC/UFMG. Os dados laboratoriais foram obtidos a partir dos prontuários, do sistema de interface de resultados do Laboratório de Patologia Clínica do HC/UFMG e das análises realizadas no Laboratório de Bioquímica Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG.

Os receptores do transplante renal foram estratificados em dois grupos de acordo com os níveis de creatinina conforme os seguintes valores de corte:

C1: Creatinina inferior ou igual a 1,4 mg/dL (n= 84);

C2: Creatinina superior a 1,4 mg/dL (n= 80).

Os pacientes também foram categorizados com base no ritmo de filtração glomerular estimado (eRFG), calculado pela fórmula CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation*) (LEVEY *et al.*, 2009):

$$eRFG = 141 \times \min(S_{cr}/\kappa, 1)^\alpha \times \max(S_{cr}/\kappa, 1)^{-1.209} \times 0,993^{idade} \times 1,018 [\text{se mulher}] \times 1,159 [\text{se negro}]$$

Onde:

S_{cr} = concentração sérica de creatinina (mg/dL)

κ = 0,7 para mulheres e 0,9 para homens

α = -0,329 para mulheres e -0,411 para homens

min= indica o mínimo de S_{cr}/k ou 1

max= indica o máximo de S_{cr}/k ou 1

Idade = anos

As categorias de eRFG foram definidas de acordo com as faixas de valores adotados para estadiamento da DRC propostas pela KDIGO, com a ressalva de que os estágios G4 e G5 foram reunidos em um único grupo (R4):

- R1: eRFG ≥ 91 mL/min/1,73m² (n=26);
- R2: eRFG entre 61 e 90,9 mL/min/1,73m² (n=51);
- R3: eRFG entre 31 e 60,9 mL/min/1,73m² (n=54);
- R4: eRFG $\leq 30,9$ mL/min/1,73m² (n=24).

A última estratificação dos receptores de transplante renal ocorreu de acordo com o tempo pós-transplante, em quatro grupos:

- T1: 1 a 24 meses (n=18);
- T2: 25 a 60 meses (n=26);
- T3: 61 a 120 meses (n=52);
- T4: acima de 120 meses pós-transplante (n=59).

As avaliações das concentrações de cálcio, fósforo, PTH e 25(OH)D foram realizadas em função dos níveis de creatinina sérica, eRFG e tempo pós-transplante.

A partir da análise dos polimorfismos do gene *ESR1*, as frequências alélicas e genóticas para ambos os polimorfismos foram determinadas e avaliadas de acordo com estratificação em função dos níveis de PTH (<100pg/mL; n=98 e ≥ 100 pg/mL; n=57) e 25(OH)D (<20ng/mL; n=64 e ≥ 20 ng/mL; n=82). As concentrações de cálcio, fósforo, PTH e 25(OH)D foram comparadas em função dos genótipos dos polimorfismos *XbaI* e *PvuII*.

4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os critérios de inclusão para os pacientes transplantados renais adotados durante a captação dos voluntários para a pesquisa foram: idade superior a 18 anos, ambos os sexos, enxerto proveniente de doadores vivos ou falecidos, pacientes com função renal estável estabelecida clinicamente (enxerto funcionante) pela equipe de nefrologia colaboradora deste estudo e por meio de consulta aos dados clínicos e laboratoriais disponíveis nos prontuários.

Os critérios de exclusão foram: idade inferior a 18 anos e/ou pacientes pediátricos, pacientes que haviam realizado cirurgia recente e/ou que haviam sofrido fraturas recentes considerando-se o momento da abordagem.

4.4 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo compõe o projeto “Avaliação de Marcadores Genéticos, Inflamatórios e Hemostáticos no Transplante Renal”, CAAE 48443715.3.0000.5149, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa - COEP, da UFMG (ANEXO A).

Todos os voluntários foram esclarecidos no momento da abordagem quanto aos aspectos envolvidos na sua participação na pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B).

Foi formulada uma ficha clínica preenchida com informações obtidas dos prontuários dos pacientes para a produção de banco de dados geral (ANEXO C)

4.5 AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Foram coletados 9 mL de sangue venoso a vácuo, sendo 4,5 mL em tubos contendo anticoagulante K3 - ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 1,8 mg/mL (VACUETTE®) e 4,5 mL em tubos sem anticoagulante e sem gel (VACUETTE®). As amostras coletadas em EDTA foram utilizadas para extração de DNA genômico. Amostras de plasma também foram obtidas a partir do sangue coletado neste anticoagulante, após centrifugação a 4°C, 2.500 rpm, por 20 minutos (Jouan® modelo BR4i), e empregadas na determinação das concentrações de 25(OH)D.

As alíquotas de soro para as dosagens bioquímicas foram obtidas a partir de sangue venoso coletado em tubos sem anticoagulante, centrifugado a 3.500 rpm por 10 minutos. As amostras foram coletadas no Ambulatório de Transplantes da

Unidade Bias Fortes do HC/UFMG, após jejum mínimo de 8 horas, e mantidas em caixa térmica com gelo até processamento.

A centrifugação das amostras e separação em alíquotas de 500 µL em microtubos de polipropileno foi realizada no prazo de até 3 horas após a coleta, no laboratório de Nefrologia Pediátrica da Faculdade de Medicina da UFMG. As alíquotas foram organizadas em caixas de fibra de papelão para amostras biológicas e mantidas a -20°C até serem transferidas, em caixa de isopor com gelo seco, para a Faculdade de Farmácia da UFMG. As alíquotas de sangue total foram armazenadas a -20°C em freezer vertical (Eletrolux® modelo FE26) e as alíquotas de soro a -80°C em freezer vertical (Jouan® modelo VX380) até o momento de uso.

4.6 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE CÁLCIO TOTAL

As concentrações séricas de cálcio total (mg/dL) (n= 121) foram obtidas, em sua totalidade, a partir de consulta ao sistema informatizado de interfaceamento de resultados do Laboratório de Patologia Clínica do HC/UFMG.

4.7 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE FÓSFORO

As concentrações séricas de fósforo (mg/dL) foram obtidas a partir de consulta ao sistema informatizado de interfaceamento de resultados do Laboratório de Patologia Clínica do HC/UFMG (n= 82) (análises realizadas com amostras coletadas na mesma ocasião da abordagem para participação na pesquisa) ou determinadas experimentalmente pela pesquisadora (n= 75). Os resultados obtidos a partir dos dois meios foram considerados em conjunto para análise final, após análise estatística que indicou não haver diferenças significativas entre eles.

Considerando-se a segunda alternativa, utilizou-se o conjunto diagnóstico BioTécinca® FÓSFORO UV, cujo princípio analítico é o ensaio colorimétrico de ponto final – fosfomolibdato. Neste método, o fosfato inorgânico presente na amostra reage com o molibdato de amônio, em meio ácido, formando o complexo fosfomolibdato, cuja absorvância, mediada em comprimento de onda igual a 340 nm, é proporcional à concentração de fósforo inorgânico.

Os ensaios foram realizados seguindo-se rigorosamente as instruções do fabricante e as absorvâncias foram determinadas no analisador bioquímico Cobas

Mira Plus CC®(Roche Diagnostics, Suíça), no Laboratório de Patologia Clínica do Departamento de Clínicas e Cirurgias Veterinárias da Escola de Veterinária da UFMG. Para validação dos ensaios, empregaram-se amostras controle em dois níveis, consistindo em valores normais e patológicos (Biocontrol N e Biocontrol P, Bioclin/Quibasa®, Brasil, respectivamente). O intervalo de referência para as concentrações de fósforo inorgânico em adultos, com emprego da referida metodologia, é 2,5 a 4,5 mg/dL.

4.8 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE PARATORMÔNIO

Para a determinação dos níveis séricos de PTH intacto (n=155) nos receptores de transplante renal, empregou-se o método de imunoenensaio de micropartículas quimioluminescentes (ARCHITECT®, Abbott, Alemanha). O teste consiste em um imunoenensaio do tipo sanduíche, no qual o PTH intacto presente na amostra liga-se às micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo anti-PTH (anticorpo de bode, policlonal). Após lavagem do imunocomplexo, um anticorpo conjugado anti-PTH marcado com acridina é adicionado para criar a mistura de reação. Após incubação e segunda etapa de lavagem, a adição de solução contendo peróxido de hidrogênio provoca a oxidação da acridina, em meio alcalino, numa reação quimioluminescente, cujo sinal é medido em unidades de luz relativa (RLUs). A quantidade de RLUs detectadas pelo sistema óptico do equipamento (ARCHITECT® i1000 SR, Abbott, Alemanha), mantém uma relação direta com a concentração de PTH intacto, em pg/mL, presente na amostra. Foram empregadas soluções calibradoras (A-F, 8K25-01 ARCHITECT Intact PTH Calibrators) e controle (níveis baixo, médio e alto, 8K25-10 ARCHITECT Intact PTH Controls) para validação dos ensaios. A faixa de referência de normalidade para este teste é 10 a 69 pg/mL, estabelecido pelo Laboratório de Patologia Clínica do HC/UFMG, onde as análises foram realizadas.

4.9 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE 25-HIDRÓXI-VITAMINA D

A determinação de 25(OH)D foi realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector ultravioleta (UV), cujo princípio analítico consiste

na separação do analito da amostra em função do seu tempo de eluição, dependente da diferença de partição do mesmo entre uma fase estacionária (sólido inerte finamente dividido) e uma fase móvel (líquida), sob alta pressão.

Primeiramente, as amostras foram submetidas ao processo de extração líquido-líquido para obtenção da vitamina D presente no plasma, em meio alcalino, após procedimento de saponificação. A fase orgânica (heptano), que continha a vitamina D, foi levada a extrato após secagem sob fluxo de ar comprimido e aquecimento e o extrato obtido foi, posteriormente, retomado com fase móvel (metanol P.A. 85%) e submetido à análise por CLAE-UV.

As análises foram realizadas utilizando-se o cromatógrafo de alta eficiência (HPLC Thermo com detector UV) do Laboratório de Toxicologia do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFMG. Alíquotas de 50 µL de extrato contendo metabólitos da vitamina D foram injetados em coluna cromatográfica preenchida por sílica de elevada pureza (coluna Purospher® STAR RP-18 endcapped, (5µm), LiChroCART® 150 mm x 4,6 mm, de fase reversa, Merck Millipore, EUA) e a fase móvel foi composta de metanol-água 85% v/v (MeOH85) e etanol P.A. Adotou-se o processo de eluição em gradiente de fase móvel conforme **Tabela 3**.

Tabela 3 - Condição de eluição em gradiente para a quantificação dos metabólitos da vitamina D por CLAE

| Tempo (min) | MeOH85 (%) | Etanol (%) | Fluxo (mL/min) |
|--------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|
| 0 | 95 | 5 | 1 |
| 12 | 95 | 5 | 1 |
| 15 | 60 | 40 | 1 |
| 25 | 60 | 40 | 1 |
| 30 | 95 | 5 | 1 |
| 35 | 95 | 5 | 1 |

CLAE= Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Em cada corrida analítica foi empregada solução padrão de 1 α - hidróxi-vitamina D (200 ng/mL) como padrão interno a fim de se certificar da eficiência do

processo de separação, além de solução padrão de 25-hidróxi-vitamina D (10 µg/mL) para identificação do pico correspondente a fração de interesse contida na amostra.

A detecção do sinal correspondente ao analito foi realizada com detector UV, em comprimento de onda igual a 256 nm. A concentração de 25(OH)D (ng/mL) foi determinada, a partir do cromatograma gerado, em função da área sob a curva após correção para vitamina D. Para tanto, as áreas obtidas foram inseridas em equação da reta, determinada a partir de curva de calibração validada e em uso no Laboratório de Toxicologia.

4.10 DETERMINAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO

Valores de concentração, em mg/dL, para colesterol total (n=146) e triglicérides (n=143) foram determinados por ensaio enzimático-colorimétrico de ponto final.

Para a determinação de colesterol, utilizou-se o conjunto de reagentes Bioclin® COLESTEROL MONOREAGENTE (Bioclin/Quibasa®, Brasil), no qual a o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), o fenol e a 4-aminoantipirina formados a partir da degradação dos ésteres de colesterol, na presença de peroxidase, originam composto de cor cereja. A intensidade de cor do cromógeno gerado, determinada em 505 nm, é proporcional à concentração de colesterol na amostra. Para adultos, o valor desejável para esse parâmetro é <200 mg/dL e valores ≥240 mg/mL são considerados elevados.

As concentrações de triglicérides foram obtidas com a utilização do conjunto de reagentes Bioclin® TRIGLICÉRIDES MONOREAGENTE (Bioclin/Quibasa®, Brasil), cujo princípio analítico é a conversão do H₂O₂, do p-clorofenol e da 4-aminoantipirina, na presença de peroxidase, em composto colorido. A absorvância do composto, determinada em 505 nm, é proporcional à concentração de triglicérides na amostra. O valor de triglicérides desejável, após jejum, para adultos com idade >20 anos, é inferior a 150 mg/dL. Para ambos os ensaios, utilizaram-se amostras controle com concentrações normais e patológicas dos analitos (Biocontrol N e Biocontrol P, Bioclin/Quibasa®, Brasil, respectivamente). As análises foram realizadas em espectrofotômetro Biotron®, modelo BTR-811 (Brasil), no Laboratório

de Bioquímica Clínica do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFMG.

Os valores para fração LDL do colesterol (LDL-c)(n=104) e fração HDL do colesterol (HDL-c) (n=101) foram obtidos dos prontuários.

Os resultados de perfil lipídico foram utilizados para caracterização dos voluntários em função do sexo.

4.11 ANÁLISE MOLECULAR DOS POLIMORFISMOS DO GENE DO RECEPTOR DE ESTROGÊNIO 1 (*ESR1*)

Alíquotas de 500 µL de sangue total foram submetidas à extração de DNA genômico utilizando-se o conjunto de reagentes Biopur Mini Spin®, (Biometrix, Brasil), segundo instruções do fabricante.

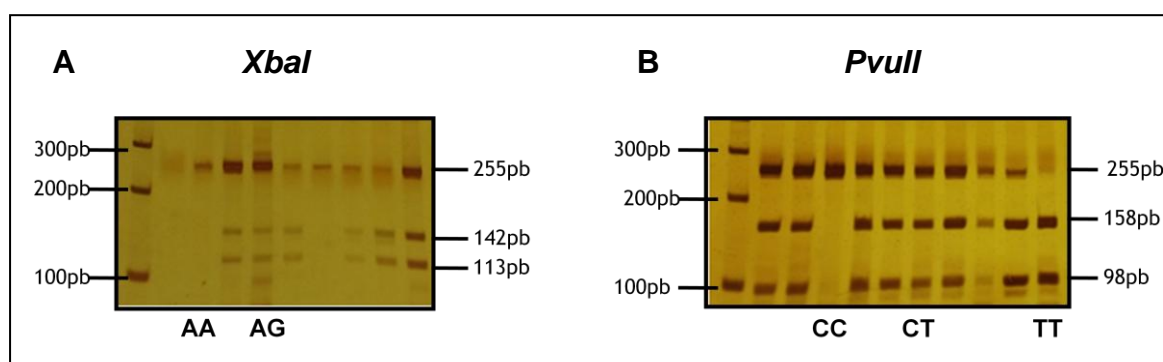
As genotipagens dos SNP's do gene *ESR1* foram realizadas através da técnica de Reação em cadeia da polimerase – polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (PCR-RFLP). Foram utilizadas as enzimas de restrição *PvuII* C/T e *XbaI* A/G (Thermo Scientific®), que reconhecem a substituição de uma citosina por uma timina no códon 397 e de uma adenina por guanina no códon 351, respectivamente, e clivam o fragmento de DNA inicial gerando fragmentos polimórficos em tamanho.

Para obtenção do fragmento inicial de 255 pb correspondente ao gene *ESR1* pela reação de PCR, foram utilizados os oligonucleotídeos iniciadores (IDT®) 5'CAGGGTTATGTGGCAATGAC3' (óligo senso) e 5' TACCTATAAAAATGACAAAATGAAAT 3' (óligo antisenso). As reações de amplificação foram realizadas em volume final de 30 µL contendo 3,0 µL de DNA (35 ng/L), 3,0µL desoxinucleotídeos trifosfato (400mM/mL)(Fermentas®), 3µL de Tampão 10X (Phoneutria®), 2,5 µL de oligonucleotídeos senso e antisenso (10µM), 0,9 µL de MgCl₂ (50 mM), 0,3 µL de Taq polimerase (5U/µL) (Phoneutria®) e água ultra pura para completar o volume de reação. As reações foram realizadas em termociclador (Applied Biosystems® modelo 2720, EUA) e consistiram em etapa inicial de desnaturação a 94°C por 4 min, seguida de 40 ciclos de amplificação a 60°C por 30 segundos (anelamento), 72°C por 30 segundos (extensão) e 94°C for 30 segundos (desnaturação) e, então, etapa final a 72°C por 10 minutos. O amplificado obtido foi então submetido à ação das enzimas de restrição *XbaI* e

PvuII, separadamente, em reação contendo 10µL do produto de PCR, 2,0 µL de tampão de reação 10X (Invitrogen®), 1,0 µL de enzima *XbaI* ou *PvuII* (10 U/µL) (Thermo Scientific®) e água ultra pura q.s.p., incubada a 37°C *overnight* em banho seco.

A detecção dos fragmentos obtidos após o processo de digestão foi realizada por eletroforese em gel de poliacrilamida 6%. Para o SNP -351 A/G foram observados fragmentos de 255 pb, os quais não sofreram ação da enzima *XbaI*, correspondentes aos indivíduos carreadores do alelo A em homozigose; fragmentos de 113 pb e 142 pb, resultantes da clivagem do fragmento inicial devido a presença do alelo G em homozigose; e fragmentos de 113 pb, 142 pb e 255 pb correspondentes aos indivíduos com genótipo AG (**Figura 5A**). Para o SNP -397 C/T observaram-se fragmentos de 255 pb para o genótipo CC; fragmentos de 98 pb e 158 pb para o alelo mutante T em homozigose e fragmentos de 98 pb, 158 pb e 255 pb correspondentes aos indivíduos heterozigotos TC (**Figura 5B**).

Figura 5 – Perfil de bandas para os polimorfismos *XbaI* e *PvuII* em eletroforese em gel de poliacrilamida



4.12 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A normalidade dos dados foi testada utilizando-se o teste de Shapiro-Wilk. No caso de distribuição normal, os dados foram apresentados como média e desvio padrão e analisados pelo teste “t” de *Student* (comparação de dois grupos) ou por ANOVA (comparação de três ou mais grupos). As variáveis que não apresentaram distribuição normal foram apresentadas como mediana e intervalo interquartil e analisados por meio dos testes de Mann Whitney (comparação de dois grupos) ou por Kruskal Wallis (comparação de três ou mais grupos). As variáveis categóricas

foram comparadas pelo teste de qui-quadrado de Pearson assintótico (χ^2) ou teste exato de Fisher. As análises foram realizadas empregando-se o software *GraphPad PRISM* (versão 6.05). $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

Foi verificado se a população estava sob o equilíbrio de Hardy -Weinberg, utilizando-se o programa *genepop* (http://genepop.curtin.edu.au/genepop_op1.html).

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DEMOGRÁFICA E CLÍNICA DOS TRANSPLANTADOS RENAIIS

A coorte avaliada neste estudo compreendeu 164 voluntários receptores de transplante renal, sendo 100 pacientes do sexo masculino (60,9%) e 64 do sexo feminino (39,1%), com mediana de idade igual a 45 anos (34-56) e de tempo pós-transplante igual a 98 meses (8 anos e 2 meses). As principais características clínicas, demográficas e parâmetros bioquímicos avaliados estão apresentados na **Tabela 4**.

Tabela 4 - Características clínicas e demográficas e parâmetros bioquímicos de transplantados renais assistidos no HC-UFMG, entre 2015 e 2016, apresentados de acordo com o sexo

| Parâmetros | Masculino (n= 100) | Feminino (n= 64) | p | Total (n= 164) |
|-----------------------------------|-----------------------|---------------------|-------------------|---------------------|
| Idade (anos) | 46 (38-58) | 41 (31-54) | 0,027* | 45 (34-56) |
| Creatinina (mg/dL) | 1,5 (1,2-1,9) | 1,2 (0,9-1,7) | <0,001* | 1,4 (1,1-1,9) |
| Ureia (mg/dL) | 50 (37-66) | 42 (33-64) | 0,206 | 47 (36,3-65,8) |
| eRFG (mL/min/1,73m ²) | 58,21 ± 26,0 | 64,25± 31,9 | 0,207 | 60,56 ± 28,5 |
| Proteinúria | 258,8 (98,2-651,5) | 205,6 (136,1-690,9) | 0,664 | 208,4 (111,0-660,7) |
| Cálcio total (mg/dL) | 9,6 (9,1-9,9) | 9,7 (9,1-10,1) | 0,560 | 9,6 (9,1-10,0) |
| Fósforo (mg/dL) | 3,8 (3,4-4,2) | 3,7 (3,3-4,2) | 0,609 | 3,8 (3,4-4,2) |
| PTH (pg/mL) | 88,1 (54,6-138,9) | 80,4 (51,9-110,2) | 0,399 | 83,6 (53,2-120,0) |
| 25(OH)D (ng/mL) | 21,2 (10,0-55,7) | 33,9 (10,3-64,5) | 0,200 | 27,9 (10,3-60,1) |
| Colesterol total (mg/dL) | 169± 44 | 194± 42 | 0,018* | 181± 45 |
| HDL-c (mg/dL) | 47 (39-53) | 49 (40-71) | 0,237 | 49 (39-56) |
| LDL-c (mg/dL) | 99 ± 35 | 116± 30 | 0,045* | 102± 34 |

Tabela 4 - continuação

| | | | | |
|-----------------------------|--------------|-------------|---------------|-------------|
| Triglicérides (mg/dL) | 155± 65 | 165± 69 | 0,584 | 173± 90 |
| IMC (Kg/m ²) | 23,9 ± 3,5 | 25,3 ± 5,0 | 0,181 | 24,4 ± 4,2 |
| Tempo pós-Tx (meses) | 106 (60-178) | 92 (53-144) | 0,361 | 98 (55-157) |
| Glomerulopatias | 30 (30,0%) | 23 (35,9%) | 0,428 | 53 (32,3%) |
| Nefroesclerose hipertensiva | 21 (21,0%) | 05 (7,8%) | 0,028* | 26 (15,9%) |
| Nefropatia do diabetes | 05 (5,0%) | 10 (15,6%) | 0,027* | 15 (9,1%) |
| Outras causas | 10 (10,0%) | 10 (15,6%) | 0,283 | 20 (12,2%) |
| Etiologias desconhecidas | 22 (22,0%) | 10 (15,6%) | 0,315 | 32 (19,5%) |
| Não informado | 12 (12,0%) | 06 (9,4%) | 0,799 | 18 (11,0%) |
| Comorbidades | | | | |
| ITU de repetição | 00 (0,0%) | 03 (4,7%) | 0,029* | 03 (1,8%) |
| DM | 22 (22,0%) | 14 (21,9%) | 0,985 | 36 (22,0%) |
| HAS | 55 (55,0%) | 31 (48,4%) | 0,412 | 86 (52,4%) |
| Dislipidemias | 17 (17,0%) | 11(17,2%) | 0,975 | 28 (17,1%) |
| Outras | 41(41,0%) | 32 (50,0%) | 0,258 | 73 (44,5%) |
| Não apresentam/não relatado | 25 (25,0%) | 11 (17,2%) | 0,238 | 36 (22,0%) |
| Uso de medicamentos | | | | |
| Carbonato de cálcio | 12 (12,0%) | 13 (20,3%) | 0,149 | 25 (15,2%) |
| Diuréticos | 30 (30,0%) | 18 (28,1%) | 0,797 | 48 (29,3%) |
| Óxido de magnésio | 29 (29,0%) | 27 (42,2%) | 0,082 | 56 (34,1%) |
| Calciferol | 7 (7,0%) | 10 (15,6%) | 0,113 | 17 (10,4%) |

*p≤0,05=significativo; eRFG=ritmo de filtração glomerular estimado; PTH=paratormônio; 25(OH)D=25-hidróxi-vitamina D; HDL-c= HDL colesterol; LDL-c= LDL colesterol; IMC= índice de massa corporal; Tx=transplante; ITU=infecção do trato urinário; DM=diabetes mellitus; HAS=hipertensão arterial sistêmica.

Verificou-se diferença significativa entre os sexos em relação à idade (p=0,027) e concentrações séricas de creatinina (p<0,001), sendo encontrados maiores valores entre os homens. As mulheres apresentaram concentrações séricas significativamente maiores de colesterol total e LDL-c (p=0,018 e 0,045, respectivamente). Não foi observada diferença significativa para os outros marcadores bioquímicos, encontrando-se os níveis séricos de cálcio, fósforo, 25 (OH)D, HDL-c e triglicérides dentro dos valores de referência ou desejáveis. O mesmo não se pode afirmar em relação à média do eRFG e mediana de concentração sérica de PTH, que encontraram-se abaixo e acima dos valores recomendados, respectivamente, tanto no geral quanto em função do sexo.

Observou-se diferença significativa também em relação à doença de base (nefroesclerose hipertensiva e nefropatia do diabetes) e em relação às comorbidades, sendo a ITU de repetição prevalente apenas entre as mulheres.

Em geral, as glomerulopatias foram as causas primárias da DRC mais frequentes (32,3%) seguidas de DRC de etiologia desconhecida (19,5%) e nefroesclerose hipertensiva (15,9%). A nefropatia do diabetes foi a doença base menos frequente (9,1%), sendo superada por DRC secundária a outras causas (Lúpus, refluxo vésico-uretral, Síndrome de Alport, litíase, rins policísticos, atresia renal congênita, entre outras) e por DRC em que a causa primária não foi informada (11,0%).

Com exceção da ITU de repetição, não se verificou diferença significativa entre os sexos para as comorbidades. A hipertensão arterial foi a comorbidade mais prevalente, acometendo mais da metade da população estudada.

Numa avaliação global, os indivíduos avaliados mostraram-se eutróficos (IMC ≥ 18 e < 25 Kg/m²), apesar de verificar-se tendência ao sobrepeso entre as mulheres (IMC= 25,3 Kg/m²).

Não houve diferença significativa entre os sexos em relação ao uso de determinados medicamentos. Dentre as categorias analisadas, o óxido de magnésio foi o medicamento de uso mais frequente (34,1%) seguido pelos diuréticos (29,3%).

5.2 AVALIAÇÃO DOS MARCADORES BIOQUÍMICOS DO METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO EM FUNÇÃO DOS MARCADORES DE FUNÇÃO RENAL EM TRANSPLANTADOS RENAIIS

5.2.1 Associação dos níveis de creatinina com marcadores bioquímicos do metabolismo mineral e ósseo

A fim de se caracterizar a população estudada em relação aos marcadores do metabolismo mineral e ósseo e sua relação com a função renal, as concentrações séricas de cálcio, fósforo e PTH e a concentração plasmáticas de 25(OH)D foram determinadas em 164 receptores de transplante renal. As medianas para cada parâmetro foram analisadas em função dos níveis séricos de creatinina de acordo com a estratificação nos grupos C1 e C2, como verificado na **Tabela 5**.

Tabela 5 - Níveis de marcadores bioquímicos do metabolismo mineral e ósseo em função da creatinina sérica

| Biomarcador | C1 (n=84) | C2 (n= 80) | p |
|----------------|------------------|--------------------|-------------------|
| Cálcio | 9,6 (9,2-10,0) | 9,6 (8,9-9,9) | 0,306 |
| Fósforo | 3,7 (3,2-4,2) | 3,9 (3,5-4,4) | 0,081 |
| PTH | 70,7 (49,2-94,7) | 103,9 (65,1-200,5) | <0,001* |
| 25(OH)D | 26,7 (11,3-70,2) | 29,0 (9,6-49,1) | 0,417 |

Mann Whitney, *p≤0,05=significativo; C1= creatinina < 1,4 mg/dL; C2=creatinina ≥ 1,4 mg/dL; PTH=paratormônio; 25(OH)D=25-hidróxi-vitaminaD.

Observou-se diferença significativa entre os grupos para as concentrações de PTH, sendo que o grupo C2, com creatinina >1,4mg/dL, apresentou maiores níveis de PTH quando comparado ao grupo C1 (103,9 vs 70,7 pg/mL; p< 0,001).

5.2.2 Associação do ritmo de filtração glomerular estimado com marcadores bioquímicos do metabolismo mineral e ósseo

Ainda numa avaliação da relação de marcadores bioquímicos do metabolismo mineral e ósseo com a função renal, as medianas de concentração destes parâmetros foram comparadas entre os grupos de acordo com o eRFG (**Tabela 6**).

Tabela 6 - Níveis de marcadores bioquímicos do metabolismo mineral e ósseo em função do ritmo de filtração glomerular

| Biomarcador | R1 (n= 25) | R2 (n=53) | R3 (n=60) | R4 (n= 26) | p |
|----------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| Cálcio | 9,6 (9,2-9,9) | 9,7 (9,3-10,2) | 9,7 (9,2-10,0) | 9,0 (8,8-9,9) | 0,089 |
| Fósforo | 3,7 (3,2-4,3) | 3,9 (3,5-4,2) | 3,7 (3,3-4,1) | 4,6 (3,7-5,1) | 0,005* |
| PTH | 75,9 (46,0-105,6) | 72,2 (54,6-99,1) | 80,4 (51,3-115,8) | 190,2(111,8-254,4) | <0,001** |
| 25(OH)D | 17,3 (10,1-68,9) | 26,5 (10,1-64,3) | 32,6 (11,1-53,3) | 32,3 (9,4-52,9) | 0,799 |

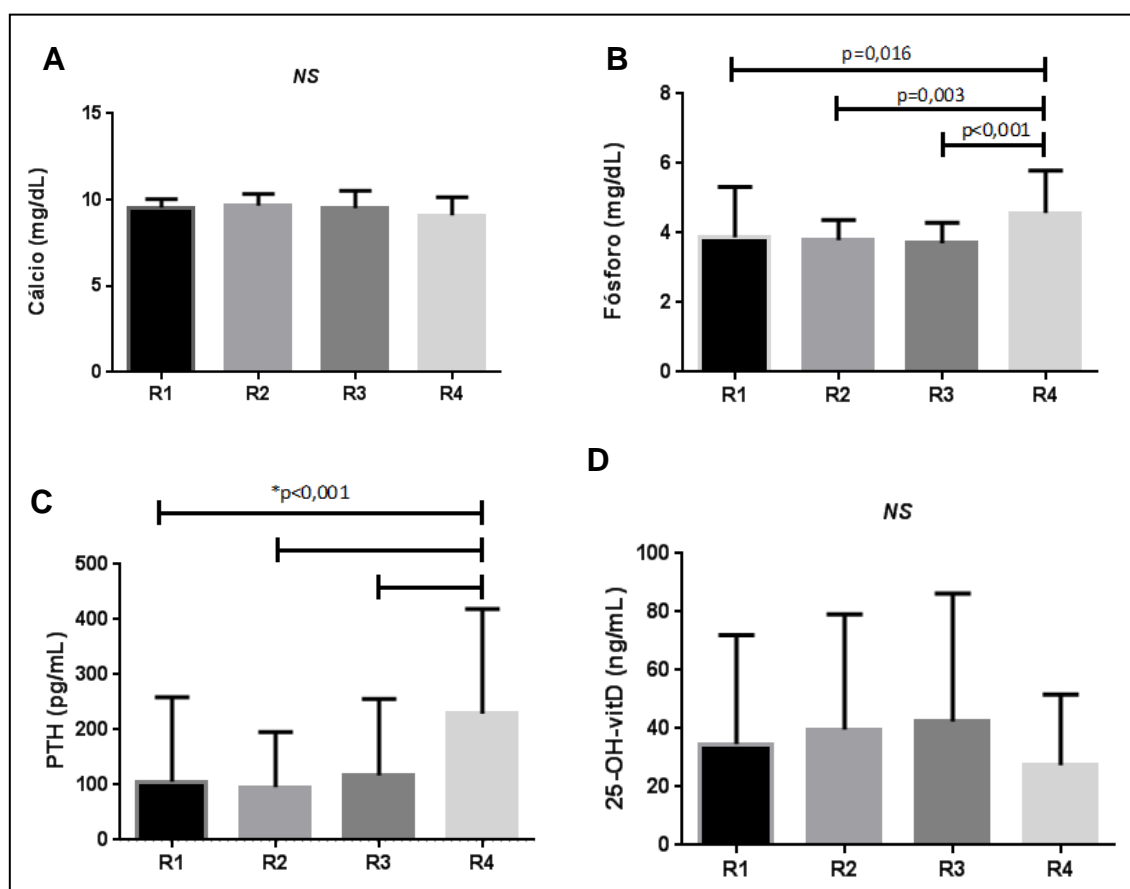
Kruskal Wallis. R1=ritmo de filtração glomerular estimado ≥ 91 mL/min/1,73m³; R2=ritmo de filtração glomerular estimado entre 61 e 90,9 mL/min/1,73m²; R3=ritmo de filtração glomerular estimado entre 31 e 60,9 mL/min/1,73m²; R4=ritmo de filtração glomerular estimado ≤ 30,9 mL/min/1,73m²; PTH=Paratormônio; 25(OH)D=25-hidróxi-vitamina D; *R1 vs R4 p=0,016; R2 vs R4 p=0,003; R3 vs R4 p<0,001; **R1 vs R4, R2 vs R4; R3 vs R4 p<0,001.

Nesta análise, os pacientes do grupo R4 (eRFG≤30,9mL/min/1,73m³) apresentaram maior concentração sérica de fósforo quando comparados aos

pacientes dos grupos R1 (4,6 vs 3,7; $p=0,016$), R2 (4,6 vs 3,9; $p=0,003$) e R3 (4,6 vs 3,7; $p<0,001$) (**Figura 6B**). A mediana da concentração sérica de PTH do grupo R4 também foi superior às verificadas para os grupos R1, R2 e R3, com $p<0,001$ para todas as comparações (**Figura 6C**).

Não foram observadas diferenças nas medianas dos demais biomarcadores em função eRFG.

Figura 6 – Comparação dos níveis de marcadores bioquímicos do metabolismo mineral e ósseo entre grupos de acordo com o ritmo de filtração glomerular



PTH=Paratormônio; 25-OH-vitD=25-hidróxi-vitaminaD; NS=não significativo. Eixo das abscissas: R1=ritmo de filtração glomerular estimado ≥ 91 mL/min/1,73m³; R2=ritmo de filtração glomerular estimado entre 90,9 e 61 mL/min/1,73m²; R3=ritmo de filtração glomerular estimado entre 60,9 e 31mL/min/1,73m²; R4=ritmo de filtração glomerular estimado $\leq 30,9$ mL/min/1,73m²; Eixo das ordenadas: concentrações séricas de cálcio (mg/dL), fósforo (mg/dL) e PTH (pg/mL) e concentração plasmática de 25-OH-vitD (ng/mL); As hastes verticais sobre as barras representam o limite superior do intervalo interquartil. **A.** Concentração de cálcio em função do eRFG; **B.** Concentração de fósforo em função do eRFG. As hastes horizontais sobre as barras correspondem, de cima para baixo, às diferenças significativas entre as medianas de concentração de R1vs R4 ($p=0,016$), R2 vs R4 ($p=0,003$) e R3 vs R4 ($p<0,001$); **C.** Concentração de PTH em função do eRFG. As hastes horizontais sobre as barras correspondem, de cima para baixo, às diferenças significativas entre as medianas de concentração de R1 vs R4, R2 vs R4 e R3 vs R4, com $p<0,001$ para todas as comparações. **D.** Concentração de 25-OH-vitD em função do eRFG.

5.3 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO TEMPO PÓS-TRANSPLANTE SOBRE MARCADORES BIOQUÍMICOS DO METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO EM TRANSPLANTADOS RENAIIS

A fim de se avaliar se os biomarcadores estudados são influenciados significativamente pelo tempo, comparou-se as medianas de concentração de cada um deles em função do tempo pós transplante, conforme estratificação nos grupos T1 (1 a 24 meses; n=18); T2 (25 a 60 meses; n=26); T3 (61 a 120 meses (n=52) e T4 (acima de 120 meses pós-transplante; n=59) (**Tabela 7**). Foram incluídos 155 receptores de transplante renal nesta análise, uma vez que, para 9 deles, o dado de tempo pós-transplante não estava disponível.

Tabela 7 – Níveis de marcadores bioquímicos do metabolismo mineral e ósseo e de função renal em função do tempo pós-transplante

| Biomarcador | T1 (n= 18) | T2 (n= 26) | T3 (n= 52) | T4 (n= 59) | p |
|----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---------------|
| Cálcio | 10,0 (9,5-10,4 | 9,6 (9,1-9,9) | 9,7 (9,1-10,1) | 9,4 (9,0-9,7) | 0,016* |
| Fósforo | 3,6 (3,3-4,4) | 3,8 (3,0-4,3) | 3,9 (3,5-4,2) | 3,9 (3,4-4,3) | 0,881 |
| PTH | 99,9 (48,9- 185,9) | 83,9 (64,1- 140,6) | 80,4 (44,1- 109,8) | 79,7 (55,9- 117,9) | 0,344 |
| 25(OH)D | 18,3 (5,3-41,9) | 30,4 (12,4- 72,6) | 29,2 (10,4- 59,9) | 29,15 (10,0- 61,9) | 0,705 |

Kruskal Wallis. T1=tempo pós-transplante entre 1 e 24 meses; T2= tempo pós-transplante entre 25 e 60 meses; T3=tempo pós-transplante entre 61 e 120 meses; T4= tempo pós-transplante acima de 120 meses; PTH=Paratormônio; 25(OH)D=25-hidróxi-vitamina D; * T1 vs T4 p=0,001.

Apenas a concentração sérica de cálcio variou significativamente em função do tempo pós-transplante, sendo a mediana de concentração de cálcio do grupo T1 significativamente superior à observada para o grupo T4 (10,0 vs 9,4 mg/dL; p=0,001). Para os demais biomarcadores não houve diferenças.

5.4 AVALIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DO GENE *ESR1* EM RECEPTORES DO TRANSPLANTE RENAL E SUA RELAÇÃO COM OS BIOMARCADORES DO METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO

5.4.1 Polimorfismos do gene *ESR1* em receptores do transplante renal

No total, 164 receptores de transplante renal foram avaliados para o polimorfismo -397 C/T (*PvuII*) e 163 para o polimorfismo -351 A/G (*XbaI*) do gene

ESR1. Na **Tabela 8** estão demonstradas as frequências alélicas e genotípicas para ambos os polimorfismos.

Tabela 8 - Frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos *XbaI* e *PvuII*

| Polimorfismos | Frequências alélicas e genotípicas |
|------------------------------|------------------------------------|
| <i>XbaI</i> -351 A/G | n=163 |
| A | 218 (66,9%) |
| G | 108 (33,1%) |
| AA | 55 (33,7%) |
| AG | 108 (66,3%) |
| GG | 00 (0,0%) |
| <i>PvuII</i> -397 C/T | n= 164 |
| C | 164 (50,0%) |
| T | 164 (50,0%) |
| CC | 36 (22,0%) |
| CT | 92 (56,0%) |
| TT | 36 (22,0%) |

O alelo A e o genótipo AG foram os mais frequentes para o polimorfismo *XbaI*. Nenhum dos indivíduos apresentou genótipo GG para este polimorfismo. Em relação ao polimorfismo *PvuII*, os alelos C e T apresentaram a mesma distribuição na população, bem como os genótipos CC e TT, os quais foram menos frequentes que o genótipo CT. A população não se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

5.4.2 Avaliação da persistência de hiperparatireoidismo secundário e deficiência de vitamina D no pós-transplante renal em função dos polimorfismos do gene ESR1

A possível associação entre os marcadores de metabolismo mineral e ósseo e os polimorfismos *PvuII* e *XbaI* foi avaliada em função da persistência de hiperparatireoidismo secundário e de deficiência de vitamina D.

Para a primeira análise, a concentração sérica de PTH igual ou superior a 100 pg/mL foi adotada como ponto de corte para a persistência do hiperparatireoidismo secundário pós-transplante renal. Dados de concentração de PTH não foram obtidos para 9 voluntários. Assim, 155 receptores de transplante renal foram distribuídos em

dois grupos (PTH<100 e PTH \geq 100 pg/mL) e as frequências genóticas de ambos os polimorfismos foram comparadas em cada grupo (**Tabela 9**).

Tabela 9 - Distribuição das frequências genóticas dos polimorfismos *XbaI* e *PvuII* em função da persistência do hiperparatireoidismo secundário em receptores do transplante renal

| Genótipo | PTH (pg/mL) | | p |
|-----------------------------|--------------|-------------------|---------------|
| | <100 (n=98) | \geq 100 (n=57) | |
| <i>XbaI</i>-351 A/G | | | |
| AA | 32(32,7%) | 21 (36,8%) | 0,603 |
| AG | 66 (67,3%) | 36 (63,2%) | |
| <i>PvuII</i>-397 C/T | | | |
| CC | 27 (27,6%)** | 6 (10,5%) | 0,035* |
| CT | 49 (50,0%) | 38 (66,7%) | |
| TT | 22 (22,4%) | 13 (22,8%) | |

PTH=paratormônio; Teste Qui-Quadrado de Pearson Assintótico. * $p \leq 0,05$; **<-1,96, mais freqüente. Análise de resíduo ajustado.

Houve diferença significativa em relação à frequência genotípica do polimorfismo *PvuII* em relação aos níveis de PTH, sendo a frequência do genótipo CC maior no grupo com PTH <100 pg/mL. Por outro lado, as frequências genóticas de ambos os grupos para o polimorfismo *XbaI* foram semelhantes ($p=0,603$).

Para a análise de deficiência de vitamina D, os receptores de transplante renal foram alocados em dois grupos [25(OH)D <20 e 25(OH)D \geq 20 ng/mL]. Considerou-se concentração de 25(OH)D inferior a 20 ng/mL compatível com o estado de deficiência. As frequências genóticas de ambos os polimorfismos foram comparadas em cada grupo, sendo avaliados, no total, 146 indivíduos (**Tabela 10**).

Tabela 10 - Distribuição das frequências genóticas dos polimorfismos *XbaI* e *PvuII* em função dos níveis de vitamina D em receptores do transplante renal

| Genótipo | 25(OH)D (ng/mL) | | p |
|-----------------------------|-----------------|------------------|-------|
| | <20 (n=64) | \geq 20 (n=82) | |
| <i>XbaI</i>-351 A/G | | | |
| AA | 16 (25,0%) | 32 (39,0%) | 0,079 |
| AG | 48 (75,0%) | 50 (61,0%) | |
| <i>PvuII</i>-397 C/T | | | |
| CC | 17 (26,6%) | 14 (17,1%) | 0,568 |
| CT | 36 (56,2%) | 47 (57,3%) | |
| TT | 11 (17,2%) | 21 (25,6%) | |

Teste Qui-Quadrado de Pearson Assintótico. 25(OH)D=25-hidróxi-vitamina D.

As frequências genóticas para ambos os polimorfismos não variaram significativamente em função das concentrações de 25(OH)D, embora o valor de “p” para a distribuição dos genótipos de *Xbal* seja considerado *borderline*.

5.4.3 Avaliação das concentrações de biomarcadores do metabolismo mineral e ósseo no pós-transplante renal em função dos polimorfismos do gene ESR1

As medianas de concentração de cálcio, fósforo, PTH e 25(OH)D foram avaliadas de acordo com os genótipos dos polimorfismos *Xbal* e *Pvull*. Os resultados das comparações estão apresentados nas **Tabelas 11 e 12**.

Tabela 11 - Concentrações de biomarcadores do metabolismo mineral e ósseo em função dos genótipos AA e AG do polimorfismo *Xbal*

| Biomarcador | Genótipo AA (n=55) | Genótipo AG (n=108) | p |
|--------------------|---------------------------|----------------------------|----------|
| Cálcio | 9,70 (9,18 -9,93) | 9,70 (9,00-10,08) | 0,969 |
| Fósforo | 3,70 (3,15-4,00) | 3,80 (3,45-4,30) | 0,097 |
| PTH | 90,30 (63,45-115,10) | 87,30 (49,25-133,70) | 0,710 |
| 25(OH)D | 22,80 (12,15-51,50) | 14,10 (5,75-40,83) | 0,143 |

Mann-Whitney.PTH=paratormônio; 25(OH)D=25-hidróxi-vitaminaD

As medianas de concentração dos parâmetros avaliados não variaram significativamente na comparação entre os genótipos AA e AG do polimorfismo *Xbal*.

Tabela 12 - Concentrações de biomarcadores do metabolismo mineral e ósseo em função dos genótipos CC, CT e TT do polimorfismo *Pvull*

| Biomarcador | Genótipo CC (n=36) | Genótipo CT (n=92) | Genótipo TT (n=36) | p |
|--------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------|
| Cálcio | 9,6 (9,1-10,1) | 9,6 (9,1-9,9) | 9,7 (9,3 -10,0) | 0,695 |
| Fósforo | 3,7 (3,4-4,2) | 3,8 (3,4-4,2) | 3,9 (3,4-4,3) | 0,776 |
| PTH | 65,1 (47,2-96,5) | 91,0 (64,0-140,4) | 80,4 (50,8-114,1) | 0,039* |
| 25(OH)D | 16,8 (9,4-68,7) | 29,2 (10,4-59,0) | 31,7 (11,9-61,7) | 0,972 |

Kruskal Wallis.PTH=paratormônio; 25(OH)D=25-hidróxi-vitaminaD; * CT vs CC p=0,014.

A mediana de concentração de PTH variou significativamente em função dos genótipos do polimorfismo *Pvull*. O genótipo CT se associou a maiores

concentrações de PTH quando comparado ao genótipo CC (91,0 vs 65,1 pg/mL; $p=0,014$). Para os demais parâmetros, não houve diferenças significativas.

6 DISCUSSÃO

6.1 CARACTERIZAÇÃO DEMOGRÁFICA E CLÍNICA DOS TRANSPLANTADOS RENAIIS

O presente estudo consistiu numa avaliação transversal de 164 pacientes brasileiros receptores de transplante renal (100 homens e 64 mulheres). De modo geral, estudos de base populacional indicam que a epidemiologia da DRC varia em função do sexo, afetando principalmente as mulheres (CARRERO *et al.*, 2018). Esta diferença pode ser explicada pela maior expectativa de vida entre as mulheres combinada com o declínio natural da função renal com o envelhecimento.

No presente estudo, pacientes do sexo masculino corresponderam a pouco mais de 60% da coorte avaliada. É bem estabelecido que a realização de transplante renal é menor entre as mulheres (KJELLSTRAND, 1988; HELD *et al.*, 1998; JINDAL *et al.*, 2005; LIU *et al.*, 2013). Este fato pode ser explicado pela menor incidência de mulheres iniciando diálise e menor propensão das mulheres em estar na lista de espera de transplante (CARRERO *et al.*, 2018). De forma geral as mulheres tendem a ser mais doadoras vivas de enxerto renal do que receptoras de enxerto renal provenientes de doador vivo (CARRERO *et al.*, 2018).

Em um estudo americano de análise retrospectiva de transplantes de rim, realizados entre 1964 e 2002 em determinado centro transplantador, verificou-se que a disparidade de gêneros, desfavorecendo as mulheres, em relação ao transplante com doadores vivos, foi devido à maior proporção de doação de esposas para seus maridos e menor incidência de doação de homens para mulheres entre doadores não parentes – não cônjuges (KAYLER *et al.*, 2002).

No Brasil, os dados sobre transplante renal apresentados no último ABTO-RBT (2017) não leva em consideração as análises realizadas em função do sexo.

A idade também é um fator a se considerar, com maior prevalência de DRC entre indivíduos idosos. Na coorte avaliada, a mediana de idade foi igual a 45 anos, havendo diferença significativa entre os gêneros. No Brasil, em 2016, o percentual de pacientes em diálise com idade superior a 65 anos foi igual a 33% e o maior percentual (65,7%) correspondeu a indivíduos entre 20 e 64 anos (SESSO *et al.*, 2017). O Relatório de 2013 do *United States Renal Data System* (USRDS), que avaliou a população norte-americana, indicou que a incidência de DRC aumenta de

quatro a oito vezes em indivíduos com mais de 70 anos, apontando para o caráter da DRC como doença do idoso (DRAIBE, 2014). Esses achados são consistentes com o fato de que, com o avanço da idade, há uma redução da função renal. Neste estudo, apenas três dos 164 voluntários recrutados possuíam 60 anos ou mais à época da abordagem.

Apesar de não significativa, a avaliação da função renal entre homens e mulheres em função dos níveis séricos de ureia, do eRFG e da proteinúria apontam para uma pior função renal entre pacientes do sexo masculino em relação aos parâmetros considerados. Em uma metanálise prévia, em que o risco de progressão da DRC foi avaliado em 68 coortes de pacientes não-diabéticos com DRC, concluiu-se que os homens progridem mais rapidamente que as mulheres para a DRC em estágio final (NEUGARTEN *et al.*, 2000). O declínio da função renal é muito influenciado por fatores ambientais, estilo de vida e fatores biológicos, que parecem estar mais comprometidos e serem menos favoráveis na população masculina (menor expectativa de vida, efeito deletério da testosterona sobre os rins, pior adesão às dietas restritivas, por exemplo) (CARRERO *et al.*, 2018).

Em relação aos níveis de creatinina sérica, a diferença significativa entre homens e mulheres já era esperada. A creatinina sérica é um metabólito do fosfato de creatina, encontrado principalmente no músculo esquelético. A concentração de creatinina é influenciada pela massa muscular, naturalmente mais desenvolvida no sexo masculino (HUH *et al.*, 2015). Na avaliação geral, a mediana de concentração sérica de creatinina foi igual a 1,4 mg/dL, semelhante ao valor encontrado em outros estudos em que a função renal foi avaliada em receptores de transplante renal, mas superior ao observado na população saudável (RACZYŃSKA *et al.*, 2018; SALVADOR *et al.*, 2017).

A fórmula escolhida para o cálculo do ritmo de filtração glomerular neste estudo foi a CKD-EPI, a qual tem demonstrado maior acurácia em estimar o RFG quando comparada à *Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) study equation*, apesar de ambas considerarem as mesmas variáveis (idade, sexo, etnia) (KARGER *et al.*, 2017). O menor viés verificado para a equação CKD-EPI poderia levar a um número menor de diagnósticos falso negativos de DRC. Em uma comparação entre as duas fórmulas, a prevalência de DRC foi de 11,6% para CKD-EPI versus 13,1%, para a MDRD (LEVEY; STEVENS, 2010). No entanto, a fórmula

CKD também apresenta limitações ao utilizar unicamente nos níveis de creatinina sérica como marcador de filtração renal (KARGER *et al.*, 2017).

As dislipidemias são um distúrbio comumente observado entre pacientes que receberam o enxerto, com prevalência entre 40% a 80% (RIELLA; GABARDI; CHANDRAKER, 2012). Em estudo no qual marcadores do metabolismo lipídico foram avaliados no momento pré-transplante e ao longo de cinco anos após transplante renal, verificou-se aumento considerável de hiperlipidemia associado à elevação do colesterol total, de LDL-c, HDL-c e triglicérides, apesar do uso de estatinas (FERNÁNDEZ CASTILLO *et al.*, 2015). Alguns fatores de risco para o desenvolvimento de dislipidemias em receptores de transplante renal, como dieta e idade, já foram descritos. Além dessas, as intervenções terapêuticas pós-transplante renal como o uso de imunossupressores, incluindo esteróides, Ciclosporina A e inibidor do mTOR aumentam o risco para dislipidemias (NUMAKURA *et al.*, 2015).

Observando-se a interpretação proposta pelo Consenso Brasileiro para a Normatização da Determinação Laboratorial do Perfil Lipídico, na análise total, os resultados dos pacientes do presente estudo encontraram-se de acordo com os valores referenciais desejáveis para adultos para colesterol total (181mg/dL vs 190 mg/dL) e HDL-c (49 mg/dL vs >40 mg/dL). Em contrapartida, observando-se o referido critério, os receptores de transplante renal apresentaram hipertrigliceridemia. Ao se considerar que estes pacientes encontram-se sobre risco cardiovascular intermediário a alto, as concentrações séricas de LDL-c também se mostraram elevadas em relação aos valores desejáveis, de acordo com as categorias de risco (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2017).

As alterações observadas possuem interesse clínico considerando-se a população estudada, não apenas pela elevada incidências de eventos cardiovasculares como uma das principais comorbidades observadas, mas também pela possível contribuição das dislipidemias no desenvolvimento de nefropatia crônica do enxerto (FERNÁNDEZ CASTILLO *et al.*, 2015).

Na análise estratificada por sexo, verificaram-se diferenças significativas entre as medianas de colesterol total e LDL-c, com maiores valores entre as mulheres. Em estudo realizado com pacientes com doença coronariana da Europa, Ásia e Oriente Médio, as mulheres também se mostraram menos propensas a atingirem os valores desejáveis para colesterol total e LDL-c (ZHAO *et al.*, 2017). Em outro estudo com quase 70.000 indivíduos, dentre as várias dislipidemias

avaliadas em homem e mulheres, a prevalência de níveis superiores aos recomendados para colesterol total e LDL-c foram maiores entre as mulheres (36,4% vs 25,4% e 35,0% vs 28,1%, respectivamente) (GUPTA *et al.*, 2016).

Em relação à doença de base, as glomerulopatias foram as causas primárias de DRC mais prevalentes. Em geral, as principais doenças bases da DRC reportadas são a hipertensão e o diabetes mellitus (BANACH *et al.*, 2015). Usualmente, o diagnóstico de nefrosclerose hipertensiva é realizado com base nas manifestações clínicas, de acordo com a progressão da doença, níveis pressóricos, alterações dos níveis de creatinina e do RFG, proteinúria e doença cardiovascular concomitante (LIU *et al.*, 2018). Porém, o ideal é que o paciente seja submetido à biópsia a fim de se alcançar um diagnóstico inequívoco e diferencial entre nefrosclerose hipertensiva e glomerulonefrite primária com hipertensão (FREEDMAN; COHEN, 2016; LIANG *et al.*, 2016). Infelizmente, o diagnóstico da DRC de acordo com sua causa primária foi possível para um número mínimo de pacientes desta coorte, o que pode ter contribuído para uma subestimação da prevalência de nefrosclerose, uma das principais doenças base.

Junto com a hipertensão, o diabetes mellitus aparece como causa da DRC em mais de 60% dos casos. De acordo com dados da literatura, cerca de 20 a 30% dos pacientes com diabetes desenvolvem nefropatia, sendo que nos Estados Unidos e Europa, a nefropatia do diabetes é a principal causa da doença renal crônica em estágio final e de hemodiálise (BANACH *et al.*, 2015). Contudo, um ponto a ser destacado é que, os países desenvolvidos possuem elevada prevalência de hipertensão e diabetes, enquanto os países em desenvolvimento possuem doenças infecciosas e glomerulonefrites como principais causas de DRC (DRAIBE, 2014).

Além disso, as prevalências de DRC com etiologia desconhecida e não informada somaram juntas 30,5%, o que pode ter contribuído para a subestimação dos casos de nefropatia hipertensiva e nefropatia do diabetes.

A mediana de IMC na população estudada foi igual a 24,4 Kg/m². Assim, os indivíduos apresentaram-se dentro da faixa de normalidade para este parâmetro ($\geq 18,5$ e < 25 kg/m²), no entanto, muito próximos ao limite superior. Geralmente, o transplante renal leva ao aumento do peso corporal e alteração da composição do organismo (LOPES *et al.*, 1998). De maneira geral, sobrepeso e obesidade são associados à pior função renal, avaliada pelo eRFG, e também a piores desfechos no pós-transplante como mortalidade e perda do enxerto, principalmente em

pacientes com comorbidades (FERNÁNDEZ CASTILLO *et al.*, 2016; ATEŞ;CEBECI, 2018).

A comorbidade mais prevalente foi a hipertensão arterial, presente em mais da metade dos indivíduos (52,4%), embora não tenha havido diferenças significativas entre os gêneros. Essa é uma condição bastante frequente entre pacientes que passaram por transplante renal, com prevalência estimada entre 60% a 90% (VILLANEGO *et al.*, 2018). Nesta população, a hipertensão é uma doença multifatorial, que envolve características do doador e do receptor, função do enxerto, complicações do transplante, uso de imunossupressores, pré-disposição genética, entre outros fatores (THOMAS; TABER;SRINIVAS, 2013). No pós-transplante renal, a hipertensão tem significado muito relevante, uma vez que está envolvida na patogênese da disfunção crônica do enxerto e diminuição da sobrevida dos indivíduos afetados. Além disso, é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular, causa principal de morte entre a população transplantada (LIEFELDT;BUDDE, 2010). Esta forte associação entre as comorbidades se deve às interações existentes entre os sistemas circulatório e renal, de modo que a redução da função dos rins também piora a função cardíaca e vice-versa (DRAIBE, 2014).

6.2 O PTH COMO PRINCIPAL FERRAMENTA DE AVALIAÇÃO DO DISTÚRBO MINERAL E ÓSSEO NO PÓS-TRANSPLANTE RENAL

Os marcadores do metabolismo mineral e ósseo foram avaliados em função da concentração sérica de creatinina e do eRFG. Pacientes do grupo C2 (creatinina >1,4 mg/dL) apresentaram maior mediana de concentração sérica de PTH quando comparados aos do grupo C1 (creatinina \leq 1,4 mg/dL). De modo semelhante, pacientes do grupo R4 (RFG \leq 30,9 mL/min/1,73m²), ou seja, com pior função de filtração, avaliada pelo eRFG, apresentaram maior mediana de concentração sérica de fósforo e PTH quando comparados aos grupos R1 (eRFG >91mL/min/1,73m²), R2 (eRFG entre 61 e 90,9mL/min/1,73m²) e R3 (eRFG entre 31 e 60,9mL/min/1,73m²).

De maneira geral, mesmo com o enxerto funcionante, os receptores do transplante renal estão suscetíveis a anormalidades do metabolismo mineral e ósseo e ao hiperparatireoidismo secundário, que acomete aproximadamente 45% dos

pacientes em diálise e pode persistir em 25% a 50% dos receptores do transplante renal (LEHMANN *et al.*,2007). É sabido que as alterações de parâmetros laboratoriais relacionados ao DMO-DRC tendem a iniciar no estágio 3 da DRC (KDIGO, 2009). O avanço da doença para além do estágio G3 compromete a excreção urinária de fósforo de forma que o declínio da eliminação não pode ser compensado pelo efeito fosfatúrico do fator de crescimento de fibroblasto-23 FGF-23 secretado pelos ossos, resultando no acúmulo de fósforo e consequente aumento dos níveis séricos de PTH (NITTA; YAJIMA;TSUCHIYA, 2017). Os resultados encontrados neste estudo estão de acordo com o esperado.

O DMO-DRC é um desfecho comum após o transplante. Nestes casos, reflete os efeitos da imunossupressão, persistência de doença prévia após a cirurgia e de novo DMO-DRC (EVENEPOEL, 2013). Transplantados renais podem exibir função renal abaixo do ideal, como é o caso dos pacientes dos grupos C2 e R4, e desenvolver o DMO-DRC como resultado desta pior função do rim. A idade, o tempo pós-transplante e o sexo também podem influenciar, tanto na função renal quanto no desequilíbrio mineral e ósseo pós-transplante, desses pacientes (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2018).

Em pacientes com DRC, o DMO-DRC se desenvolve em associação com o hiperparatireoidismo devido ao aumento das concentrações séricas de fósforo (NITTA;YAJIMA; TSUCHIYA, 2017). O hiperparatireoidismo, por sua vez, leva ao aumento do risco de fratura. Já foi relatado que pacientes do estágio G5 tem esse risco aumentado em 4,4 quando comparado à população em geral (ALEM *et al.*, 2000). Pacientes com DMO-DRC podem apresentar uma combinação de doenças ósseas, como osteopenia e osteoporose. A osteoporose e a osteopenia são uma grave complicação verificada no pós-transplante renal e afetam entre 50 e 80% de todos os receptores. Como consequência, entre 11% a 40% dos pacientes sofrem fraturas, sendo este risco aumentado nos primeiros 18 meses após o transplante (FERNÁNDEZ CASTILLO *et al.*, 2015). No entanto, apesar das alterações nos níveis de fósforo e PTH, estes desfechos não foram avaliados na população em estudo.

Além da influência sobre o DMO-DRC, níveis aumentados de PTH também já foram associados com doença cardiovascular, hipertensão, e mortalidade aumentada em pacientes com DRC (CHOI *et al.*,2018).Neste sentido, os níveis aumentados de fósforo, resultantes da perda óssea, além de exacerbarem o hiperparatireoidismo, podem exercer efeito danoso ao endotélio vascular com

indução de aterosclerose ou comprometimento funcional do rim, órgão altamente vascularizado (KURO-O, 2013).

Os resultados encontrados no presente estudo em relação ao PTH estão de acordo com os achados do estudo conduzido por Choi e colaboradores (2018), que verificaram que as concentrações de PTH aumentaram significativamente com redução do eRFG, sendo que no grupo com eRFG inferior a 30 mL/min/1,73m², a mediana de concentração de PTH (173,3 pg/mL) foi muito superior aos valores de referência, assim como observado no presente estudo para a mesma categoria de eRFG (190,2 pg/mL). Levin e colaboradores (2007), ao avaliarem a prevalência de anormalidades nos níveis séricos de cálcio, fósforo e PTH em 1.800 pacientes com DRC estágios 3-5 também verificaram a relação inversa entre os níveis de PTH e eRFG, com 60% dos pacientes com GFR < 60 mL/min/1,73m² apresentando elevação do PTH (LEVIN *et al.*, 2007).

O diagnóstico laboratorial e manejo do DMO-DRC nos pacientes DRC incluem a determinação dos níveis séricos de PTH, cálcio (mais frequentemente cálcio total) e fósforo (KDIGO, 2009). No entanto, são escassos os estudos para determinação de condutas para diagnóstico e tratamento do DMO após o transplante. Recomenda-se que no pós-transplante a densidade mineral e óssea seja determinada a cada dois anos. No entanto, os benefícios dessa conduta são mínimos se a função do enxerto se encontra comprometida, com eRFG inferior a 30 mL/min/1,73m² e, neste caso, o monitoramento periódico dos níveis séricos de cálcio, fósforo, vitamina D, fosfatase alcalina e PTH apresentam-se como uma ferramenta valiosa no manejo do DMO (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2018).

Na DRC, o hiperparatireoidismo é resultante do aumento dos níveis séricos de fósforo e declínio das concentrações de cálcio e 25(OH)D (SILVER; LEVI, 2005). Mesmo após o transplante renal, os indivíduos tendem a exibir níveis insuficientes de vitamina D, principalmente no pós-transplante recente. Neste período, os altos níveis de FGF-23 podem inibir a 1 α -hidroxilase, reduzindo a conversão de 25(OH)D em 1,25(OH)₂D, e aumentar a atividade da 24 α -hidroxilase, responsável pela conversão da 25(OH)D em produtos de excreção, reduzindo seus níveis (CIANCIOLO *et al.*, 2016).

Em longo prazo, um dos mecanismos de desenvolvimento de deficiência de vitamina D envolve o uso de imunossupressores. Os corticoesteroides estão associados com altos níveis de PTH e aumento do catabolismo de vitamina D, de

forma direta ou via ativação de FGF-23, enquanto os inibidores de calcineurina podem aumentar a atividade dos osteoclastos e induzir a resistência à vitamina D ao tornar os receptores da vitamina menos sensíveis à sua ação (CIANCIOLO *et al.*, 2016). Além disso, é comum a recomendação médica de evitar a exposição solar a fim de reduzir o risco de desenvolvimento de neoplasia cutânea, o que compromete a ativação da vitamina D via radiação ultravioleta (ZIFF *et al.*, 2017). A ingestão de quantidade insuficiente de vitamina D na dieta também é outro fator a ser considerado. Estudo realizado com 45 transplantados renais demonstrou que a totalidade dos pacientes consumia quantidade de vitamina D inferior a recomendada (JANKOWSKA *et al.*, 2016). A deficiência de vitamina D após o transplante renal já foi relacionada a piores desfechos, como rejeição ao enxerto, função retardada do enxerto e desenvolvimento de *de novo* neoplasias pós-transplante (KIM *et al.*, 2012; FALKIEWICZ *et al.*, 2009; MCGREGOR *et al.*, 2014).

Neste estudo, as maiores concentrações séricas de fósforo e PTH nos pacientes com pior função renal (grupos C2 e R4) não foram acompanhadas de níveis significativamente diminuídos de 25(OH)D na comparação com os grupos C1 e R1, R2 e R3. No geral, os receptores de transplante renal exibiram níveis de 25(OH)D muito próximos ou superiores, dependendo da estratificação utilizada, ao desejável (≥ 30 ng/mL), contrariando a tendência a alta prevalência de deficiência e insuficiência de vitamina D após transplante renal relatada na literatura (TAZIKI *et al.* 2011; PARK *et al.*, 2015).

Segundo o KDIGO, não há uma padronização adequada para os ensaios de determinação de vitamina D, o que reflete na ausência de uma definição de deficiência bem validada (KDIGO, 2009). Assim, níveis ótimos de vitamina D podem variar de acordo com o desfecho de interesse. Concentrações entre 30 e 60 ng/mL são recomendadas para grupo de risco como idosos, pacientes com raquitismo e osteomalácia, doenças autoimunes e renal crônica, por exemplo (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2016). De fato níveis superiores a 30 ng/mL mostraram-se necessários para prevenir hiperparatireoidismo secundário ou osteoporose (THACHER; CLARKE, 2011).

A manutenção de níveis de vitamina 25(OH)D de acordo com essas recomendações entre receptores de enxerto renal foram descritas após suplementação com colecalciferol (ZIFF *et al.*, 2017; COURBEBAISSE *et al.*, 2014). No entanto, na população avaliada, apenas 10% dos indivíduos faziam uso de

colecalfiferol e o impacto desta suplementação sobre os níveis de 25(OH)D encontrados não foi avaliada.

A hiperfosfatemia é um fator de risco associado à progressão da DRC, tendo sido associada a vários desfechos, como anormalidades do metabolismo mineral e ósseo, calcificação vascular e de tecidos moles devido à precipitação de fosfato de cálcio e morbidade e mortalidade cardiovascular (MARTIN;GONZÁLEZ, 2011). Uma vez que mais de 90% do fosfato sérico é livremente filtrado nos glomérulos, o declínio do ritmo de filtração glomerular leva à sua retenção. Outro efeito da diminuição da função renal é a resistência ao efeito fosfatúrico do FGF-23 devido ao comprometimento da expressão da proteína de membrana Klotho no rim, a qual atua como co-receptor do FGF-23 modulando a transdução do seu sinal (HU; KURO-O; MOE, 2013; MARTIN; GONZÁLEZ, 2011).

Estudos demonstraram a relação da função renal com os níveis de fósforo. Menor ritmo de filtração glomerular foi apontado como variável associada ao risco aumentado de hiperfosfatemia e o percentual de declínio anual do eRFG associou-se significativamente com os níveis de fósforo (IMTIAZ *et al.*, 2017; CHANG *et al.*, 2016). No presente estudo, maior mediana de concentração sérica de fósforo foi verificada no grupo com eRFG $\leq 30,9$ mL/min/1,73m², estando de acordo com o esperado. No entanto, apesar da diferença significativa entre o grupo R4 e os demais, o nível de fósforo neste grupo foi ligeiramente maior que o limite superior de referência para este biomarcador, igual 4,5 mg/dL.

6.3 VARIAÇÕES NOS NÍVEIS DE CÁLCIO E FÓSFORO NO PÓS-TRANSPLANTE RENAL RECENTE

Na avaliação da influência do tempo pós-transplante sobre os parâmetros bioquímicos avaliados, verificou-se que o menor tempo pós-transplante se associou com maiores concentrações séricas de cálcio. Para os demais marcadores [fósforo, PTH e 25-(OH)D] as variações observadas em função do tempo não foram significativas.

Os avanços terapêuticos, especialmente os novos imunossupressores, têm contribuído para o aumento da sobrevida do paciente e do enxerto, melhorando significativamente a qualidade de vida dos transplantados (GOMES *et al.*, 2016). Na

população estudada, 38,1% dos indivíduos foram submetidos ao transplante há mais de 10 anos (grupo T4).

Muitos estudos têm realizado a análise do efeito do tempo pós transplante renal sobre os marcadores do metabolismo mineral e ósseo (BONAREK *et al.*, 1999; LOU *et al.*, 2015; WOLF *et al.*, 2016; PRAKOBUSUK *et al.*, 2017). No entanto, os pacientes são frequentemente acompanhados durante o pós-transplante recente e as conclusões são baseadas em dados observados nos 12 primeiros meses após a realização da cirurgia.

Após o primeiro ano de um transplante renal bem-sucedido, é esperado que os níveis séricos de cálcio, fósforo, paratormônio, 25(OH)D e FGF23 retornem a níveis normais. Entretanto, muitos pacientes persistem com alterações do metabolismo mineral (GOMES *et al.*, 2016).

Durante o avanço da DRC, principalmente a partir dos estágios 4 e 5, a hiperfosfatemia resultante da pior função renal provoca o aumento considerável dos níveis de PTH e FGF23, os quais exercem seus efeitos maximizando a excreção de fósforo (KDIGO, 2009). Após o transplante renal, com o restabelecimento da função de filtração renal, muitos pacientes desenvolvem hipofosfatemia no pós-transplante recente devido ao efeito fosfatúrico do FGF-23, que se encontra em excesso. A presença do enxerto saudável capaz de responder ao efeito hormonal das elevações discretas de PTH e FGF-23 pode contribuir para o desenvolvimento da hipofosfatemia e de hipercalcemia. Os níveis séricos de fósforo tendem a retornar à normalidade após três a 12 meses (PRAKOBUSUK *et al.*, 2017). Além do mecanismo secundário à hipofosfatemia, alguns pacientes podem desenvolver hipercalcemia devido à persistência do hiperparatireoidismo e ao uso de corticóide (TORREGROSA; BARROS, 2013).

Em estudo que objetivou avaliar os parâmetros do metabolismo mineral e a persistência de hiperparatireoidismo 12 meses após o transplante renal, Gomes e colaboradores (2016) verificaram que os pacientes apresentaram uma redução significativa dos níveis séricos de fósforo, PTH, creatinina e aumento significativo no RFG e cálcio sérico na comparação com os valores pré-transplante.

Em outro estudo de caráter prospectivo, 246 receptores de transplante renal foram avaliados quanto à evolução do metabolismo mineral no momento pré-transplante e ao longo do primeiro ano após o procedimento. Como resultado, verificou-se a prevalência de 86,2% da persistência do hiperparatireoidismo 12

meses após o transplante. Na comparação com valores basais, foram observados níveis significativamente aumentados de cálcio no primeiro mês após o transplante e persistência de níveis superiores ao basal ao longo dos 12 meses, considerando-se hipercalcemia valores séricos de cálcio superiores a 10,2 mg/dL (WOLF *et al.*, 2016).

A hipercalcemia e a hipofosfatemia pós-transplante possuem relevante significado clínico e devem ser alvo de manejo, uma vez que podem estar envolvidos na patogênese da disfunção do enxerto, comprometer a saúde óssea e exacerbar a fratura e o risco cardiovascular (EVENEPOEL, 2016).

No presente estudo, os pacientes que haviam realizado o transplante renal há 12 meses ou menos corresponderam a aproximadamente 70% dos indivíduos incluídos no grupo T1 (tempo pós-transplante entre 1 e 24 meses). A mediana de concentração de cálcio sérico para este grupo foi igual a 10,0 mg/dL, o qual, apesar de não caracterizar um quadro de hipercalcemia, aproximou-se muito do valor de referência superior ($\geq 10,2$ mg/dL), além de ter sido significativamente maior que o observado para o grupo T4 (tempo pós-transplante superior a 120 meses). De fato, há evidência prévia de que a hipercalcemia pós-transplante tipicamente se resolve em 1 ano após procedimento bem sucedido, a qual serviu, inclusive, de base para conduta bem estabelecida de se considerar a paratireoidectomia apenas após transcorrido este tempo (LOU *et al.*, 2015). Assim, o achado de maior mediana de cálcio no grupo T1 versus T4 está de acordo com o esperado.

Em relação ao PTH, apesar das medianas de concentração na variarem significativamente entre os grupos T1 e T4, os indivíduos com menor tempo pós-transplante exibiram um valor alto para a mediana de concentração deste parâmetro (99,9 pg/mL), podendo-se assumir um quadro de persistência do hiperparatireoidismo após o transplante renal ($PTH \geq 100,0$ pg/dL) nestes pacientes.

A análise geral dos dados obtidos no presente estudo permitiu observar que níveis altos de PTH estão associados ao aumento de cálcio e diminuição de fósforo, embora este último parâmetro não tenha apresentado diferenças significativas em relação ao tempo pós-transplante. No grupo T1, as medianas para tais marcadores foram: PTH= 99,9 pg/mL; cálcio= 10,0 mg/dL e fósforo= 3,6 mg/dL, enquanto no grupo T4, verificou-se PTH= 79,9 mg/dL; cálcio= 9,4 mg/dL e fósforo= 3,9 mg/dL.

6.4 POLIMORFISMOS DO GENE *ESR1* PODERIAM INFLUENCIAR OS NÍVEIS DE BIOMARCADORES DO METABOLISMO MINERAL E ÓSSEO?

Os polimorfismos *PvuII* e *XbaI* do gene *ESR1* já foram avaliados em relação às mais diversas patologias, como doença de Alzheimer, câncer de próstata, câncer de mama, câncer renal, doença cardiovascular, pré-eclampsia, dislipidemias, doenças ósseas, entre tantas outras, contudo, sem uma conclusão definitiva sobre quais genótipos estariam associados com maior ou menor risco para o desenvolvimento destas condições. Os resultados são muitas vezes controversos para uma mesma doença e o efeito dos polimorfismos do gene *ESR1* sobre a atividade dos receptores não está totalmente elucidado (LEE; SONG, 2015; LI *et al.*, 2014; ATOUM; ALZOUGHLOO, 2017; TANAKA *et al.*, 2003; DING *et al.*, 2014; SALIMI *et al.*, 2017; GOMES-ROCHETTE *et al.*, 2017; ZHU *et al.* 2018; YAZDI *et al.* 2017).

Os estudos de avaliação dos polimorfismos *PvuII* e *XbaI* na DRC e transplante renal são escassos (KATO *et al.*, 2007; WEISINGER *et al.* 2003). Apesar de muitos estudos correlacionarem os polimorfismos do gene *ESR1* com desfechos relacionados ao metabolismo ósseo, como DMO e risco de fratura, poucos são, também, os que associaram tais polimorfismos com parâmetros bioquímicos de avaliação do metabolismo mineral e ósseo (KOSHIZUKA *et al.*, 2006; HAYAKAWA *et al.* 2001; ZHANG *et al.* 2004; SAPIR-KOREN; LIVSHITS; KOBLYANSKY, 2003). Pode-se assumir que a análise dos níveis de cálcio, fósforo, 25(OH)D e PTH em função dos polimorfismos *PvuII* e *XbaI* em receptores do transplante renal, realizada no presente estudo, é inédita.

A análise de equilíbrio de Hardy-Weinberg demonstrou que a população não se encontrava em equilíbrio para ambos os polimorfismos. Para o polimorfismo *XbaI*, foi observada ausência de indivíduos com genótipo GG. Em estudo retrospectivo realizado com mulheres menopausadas, Silva e colaboradores (2010) demonstraram que o genótipo GG está associado com alta incidência de aborto, o que sustentaria o fato de esse ser um genótipo raro, ao menos na população brasileira (SILVA *et al.*, 2010).

O hiperparatireoidismo secundário e a deficiência de vitamina D são comuns na DRC e podem persistir mesmo após o transplante renal, conforme já mencionado anteriormente (ARAUJO *et al.*, 2018; CRUZADO *et al.*, 2017; CIANCIOLO *et al.*,

2016). No presente estudo, os indivíduos foram estratificados conforme os níveis de PTH (<100 e ≥ 100 pg/mL) para avaliação da persistência do hiperparatireoidismo secundário e de acordo com os níveis de 25(OH)D (<20 e ≥ 20 pg/mL), a fim de se determinar deficiência desta vitamina. Tais condições foram associadas aos genótipos dos pacientes avaliados para os polimorfismos *PvuII* e *XbaI*.

Esta avaliação indicou que a deficiência de vitamina D ocorre de forma independente dos polimorfismos do gene *ESR1*, uma vez que não houve diferença nas frequências dos genótipos de acordo com a estratificação. O PTH, no entanto, variou significativamente de forma dependente do polimorfismo *PvuII*, dado confirmado na análise seguinte, em que as medianas dos parâmetros foram avaliadas em função dos polimorfismos, e o genótipo CC do polimorfismo *PvuII* se associou a níveis menores de PTH. Este resultado está em desacordo com o observado por Sapir-Korene colaboradores (2003), que analisaram se os efeitos genéticos dos polimorfismos *PvuII* e *XbaI* sobre a DMO poderiam ser mediados pelos níveis circulantes de PTH e 25(OH)D, e observaram que o alelo C do polimorfismo *PvuII*, mais especificamente, o haplótipo CG, estaria associado de forma significativa a maiores concentrações de PTH (SAPIR-KOREN; LIVSHITS; KOBLYANSKY, 2003). Estes resultados discrepantes exemplificam como as análises em relação aos polimorfismos do gene *ESR1* levam a resultados variados, em diferentes populações, dificultando o estabelecimento do real efeito sobre a atividade do receptor e como este possível efeito se traduz na fisiopatologia de várias doenças e desordens.

Para os demais marcadores avaliados (cálcio e fósforo) também não foi verificada a influência dos polimorfismos sobre suas concentrações séricas. Naturalmente, este resultado deveria ser esperado. O balanço de cálcio e fósforo no organismo é altamente interligado ao metabolismo do PTH e da vitamina D. Uma vez que os polimorfismos *PvuII* e *XbaI* não se correlacionaram com estes hormônios, a variação dos parâmetros bioquímicos em função dos diferentes genótipos também seria improvável. A associação dos polimorfismos do gene *ESR1* com estes parâmetros também não foi observada em outros estudos. Zhang e colaboradores (2004), ao investigarem a correlação entre tratamento com cálcio em mulheres pós-menopausa e os polimorfismos *PvuII* e *XbaI*, verificaram que, após 1 ano de tratamento, os níveis séricos de cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, PTH, 25 (OH)D e

osteocalcina não variaram significativamente em função dos genótipos destes polimorfismos (ZHANG *et al.*, 2004).

7 CONCLUSÕES

A persistência do hiperparatireoidismo secundário se mostrou um fator compatível com a pior função renal, avaliada pelos níveis séricos de creatinina e eRFG;

Apesar dos elevados níveis de PTH, os receptores de transplante renal não exibiram alterações significativas nos níveis de cálcio, fósforo e 25(OH)D, sugerindo adequado seguimento destes pacientes em relação à avaliação do metabolismo mineral e ósseo e manejo do hiperparatireoidismo secundário no pós-transplante renal;

Com exceção do PTH, os polimorfismos *XbaI* e *PvuII* do gene *ESR1* não se correlacionaram com os demais biomarcadores avaliados, demonstrando que, na população avaliada, outros fatores parecem influenciar mais significativamente o metabolismo mineral e ósseo no pós-transplante renal que a variável genética relacionada ao estrogênio.

8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

O estudo foi limitado pelo reduzido tamanho amostral para uma avaliação da influência de polimorfismo genético sobre desfechos biológicos. A população avaliada era pouco homogênea e os dados demográficos, bem como as concentrações séricas dos biomarcadores, não foram acessados para a totalidade dos receptores de transplante renal, o que pode ter contribuído para a ausência de diferenças significativas de acordo com as estratificações adotadas.

Além disso, a polifarmácia é uma condição frequente no pós-transplante renal, e o possível efeito das classes de medicamentos utilizados sobre os níveis dos biomarcadores não foi avaliado.

9 PERSPECTIVAS DE ESTUDO

Realizar uma avaliação longitudinal do metabolismo mineral e ósseo em transplantados renais, determinando-se as concentrações de biomarcadores no momento pré-transplante e avaliação periódica após a cirurgia a fim de se traçar o perfil de variação;

Avaliar o metabolismo mineral e ósseo no pós-transplante renal com o emprego de outros biomarcadores de remodelação óssea mais específicos, como fosfatase alcalina óssea, osteocalcina, pró-peptídeo aminoterminal do prócolágeno tipo 1 (P1NP) e fragmentos carbóxi-terminal e amino-terminal do colágeno (CTx e NTx, respectivamente);

Avaliar o metabolismo mineral e ósseo no pós-transplante renal em função de desfechos, como variações na densidade mineral óssea, fraturas, calcificações vasculares, por exemplo;

Avaliar o efeito dos polimorfismos do gene *ESR1* em coorte composta apenas por mulheres receptoras de transplante renal, aumentando o “n” amostral dessas pacientes, a fim de se determinar com maior acurácia o efeito destes polimorfismos e dos níveis de estrogênio sobre o metabolismo mineral e ósseo. Estratificar e caracterizar melhor a população feminina, a fim de avaliar a utilização de contraceptivos orais, terapia de reposição hormonal e outras terapias capazes de influenciar essa população específica. Avaliar a população feminina também em relação à idade.

REFERÊNCIAS

- ABTO- RBT., Associação Brasileira de Transplante de Órgãos – Registro Brasileiro de Transplantes. Dimensionamento dos Transplantes no Brasil e em cada estado (2010-2017)., Ano 23, n. 4, 2017.
- ABENSUR, HUGO. **Biomarcadores na Nefrologia**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Nefrologia, 2011. Disponível em: <<http://arquivos.sbn.org.br/pdf/biomarcadores.pdf>>
- ALEM, A.M.; SHERRARD, D.J.; GILLEN, D.L. *et al.* Increased risk of hip fracture among patients with end-stage renal disease. **Kidney Int.** v. 58, n.1, p. 396-399, 2000.
- AMERICAN KIDNEY FUND. Kidney Failure/ESRD, 2016. Disponível em: <<http://www.kidneyfund.org/kidney-disease/kidney-failure/>>. Acesso em 15 mai 2016.
- ARAUJO, M.J.C.L.N.; RAMALHO, J.A.M.; ELIAS, R.M. *et al.* Persistent hyperparathyroidism as a risk factor for long-term graft failure: the need to discuss indication for parathyroidectomy. **Surgery**. n. 17, p. 30880-30882, 2018.
- ATEŞ, D.; CEBECI, F. Obesity in the Kidney Transplant Process. **Exp Clin Transplant**. v. 16, p. 61-63, 2018.
- ATOUM, M.F.; ALZOUGHLOO, F. Reduction in breast cancer susceptibility due to *XbaI* gene polymorphism of alpha estrogen receptor gene in Jordanians. **Breast Cancer**. v. 9, p. 45-49, 2017.
- BAIARDI, G.; MACOVA, M.; ARMANDO, I. *et al.* Estrogen upregulates renal angiotensin II AT1 and AT2 receptors in the rat. **Regul Pept**. v. 124, n. 1-3, p. 7-17, jan. 2005.
- BANACH, M; ARONOW, W. S; 2, SERBAN, M. *et al.* Lipids, blood pressure and kidney update. **Lipids in Health and Disease**, v. 14, p. 167, 2015. 2015.
- BASTOS, M. G.; BREGMAN, R.; KIRSZTAJN, G. M. Doença renal crônica: frequente e grave, mas também prevenível e tratável. **Rev Assoc Med Bras**. v. 56, n. 2, p. 248-253, 2010.
- BASTOS, M. G.; KIRSZTAJN, G. M. Doença renal crônica: importância do diagnóstico precoce, encaminhamento imediato e abordagem interdisciplinar estruturada para melhora do desfecho em pacientes ainda não submetidos à diálise. **J. Bras. Nefrol**. v. 33, n.1, p. 93-108, jan./mar. 2011.
- BERNUY, J.; GONZALES G. F. Bone mineral metabolism in patients with chronic kidney disease: Review of its pathophysiology and morbimortality. **Rev Peru Med Exp Salud Publica**. v. 32, n. 2, abr./jun. 2015.

- BOJAR, I.; GUJSKI, M.; RACZKIEWICZ, D. *et al.* Estrogen receptor alpha polymorphisms, estradiol level, and occurrence of atherosclerosis risk factors in healthy postmenopausal women. **Med Sci Monit.** v. 21, p. 970-979, abr. 2015.
- BONAREK, H.; MERVILLE, P.; BONAREK, M. *et al.* Reduced parathyroid functional mass after successful kidney transplantation. **Kidney Int.** v. 56, n.2, p. 642-649, 1999.
- BORTOLOTTO, L.A. Hipertensão arterial e insuficiência renal crônica. **Rev Bras Hipertens.** v. 15, n. 3, p. 152-155, 2008.
- BRUNTON, L.L.; CHABNER, B.A.; KNOLLMANN, B.C. **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics.** 12. Ed. McGraw Hill, 2011, 2084 p.
- CARRERO, J.J.; HECKING, M.; CHESNAYE, N. C. *et al.* Sex and gender disparities in the epidemiology and outcomes of chronic kidney disease. **Nat Rev Nephrol.** v. 14, n. 3, p. 151-164, 2018.
- CARRILLO-LÓPEZ, N.; ROMÁN-GARCÍA, P.; RODRÍGUEZ-REBOLLAR, A. Indirect regulation of PTH by estrogens may require FGF23. **J Am Soc Nephrol.** v. 20, n. 9, 2009.
- CHAND, S.; MCKNIGHT, A.J.; BORROWS, R. Genetic polymorphisms and kidney transplant outcomes. **Curr Opin Nephrol Hypertens.** v. 23, n. 6, p. 605-610.
- CHANG, W.X.; ARAI, S.; TAMURA, Y. *et al.* Time-dependent risk factors associated with the decline of estimated GFR in CKD patients. **Clin Exp Nephrol.** 2016 Feb; v. 20, n. 1, p. 58-70, 2016.
- CHOI, S.W.; KWEON, S.S.; LEE, Y.H. *et al.* Parathyroid Hormone Levels Are Independently Associated with eGFR and Albuminuria: The Dong-gu Study. **J Nutr Sci Vitaminol.** 2018; v. 64, n. 1, p. 18-25, 2018.
- CHRISTIAN, J.C.; YU, P.L.; SLEMENDA, C.W. *et al.* JOHNSTON, C. JR. Heritability of bone mass: a longitudinal study in aging male twins. **Am J Hum Genet.** v 44, p. 429-433, 1989.
- CIANCIOLO, G.; GALASSI, A.; CAPELLI, I. *et al.* Vitamin D in Kidney Transplant Recipients: Mechanisms and Therapy. **Am J Nephrol.** 2016; v. 43, n. 6, p. 397-407, 2016.
- CÔBO, Elizângela C. Perfil clínico-epidemiológico, prevalência de agentes infecciosos e atualização dos diagnósticos de acordo com a deposição de C4d dos pacientes transplantados renais. 2015. 114 f. Tese (Doutorado em Patologia
- COGGINS, C.H.; BREYER LEWIS, J.; CAGGIULA, A.W. *et al.* Differences between women and men with chronic renal disease. **Nephrol Dial Transplant.** v.13, n. 6, p. 1430-1437, out. 1998.

COURBEBAISSSE, M.; ALBERTI, C.; COLAS, S. *et al.* Vitamin D supplementation in renal transplant recipients (VITALE): a prospective, multicentre, double-blind, randomized trial of vitamin D estimating the benefit and safety of vitamin D3 treatment at a dose of 100,000 UI compared with a dose of 12,000 UI in renal transplant recipients: study protocol for a double-blind, randomized, controlled trial. **Trials**. v. 15, p. 430, 2014.

COZZOLINO, M. CKD-MBD KDIGO guidelines: how difficult is reaching the 'target'?. **Clin Kidney J**. v. 11, n. 1, p. 70-72, 2018.

CRUZADO, J.M.; LAUZURICA, R.; PASCUAL, J. *et al.* Paricalcitol Versus Calcifediol for Treating Hyperparathyroidism in Kidney Transplant Recipients. **Kidney Int Rep**. v. 3, n. 1, p. 122-132, 2017.

DEEB, K.K.; TRUMP, D. L.; JOHNSON, C. S. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. **Nature Reviews Cancer**. v. 7, p. 684–700, 2007.

DING, J.; XU, H.; YIN, X. *et al.* Estrogen receptor α gene *PvuII* polymorphism and coronary artery disease: a meta-analysis of 21 studies. **J Zhejiang Univ Sci B**. v. 15, n. 3, p. 243–255, 2014.

D'MARCO, L.; BELLASI, A.; MAZZAFERRO, S. *et al.* RAGGI, P. Vascular calcification, bone and mineral metabolism after kidney transplantation. **World J Transplant**. v. 5, n. 4, p. 222-230, dez. 2015.

DRAIBE, S. A. Panorama da Doença Renal Crônica no Brasil e no mundo (Org.). - São Luís, 34f. 2014.

EVENEPOEL, P. Recovery versus persistence of disordered mineral metabolism in kidney transplant recipients. **Semin Nephrol**. v. 33, p. 191–203, 2013.

FALKIEWICZ, K.; BORATYNSKA, M.; SPEICHERT-BIDZIŃSKA, B. *et al.* 1,25-dihydroxyvitamin D deficiency predicts poorer outcome after renal transplantation. **Transplant Proc**. v. 41, n. 8, p. 3002-3005, 2009.

FERNÁNDEZ CASTILLO, R.; FERNÁNDEZ GALLEGOS, R.; PEÑA AMARO, M.P. *et al.* Assessment of lipid profiles and bone mineral density in renal transplant patients. **Nutr Hosp**. v. 31, n. 6, p. 2503-2510, 2015

FILIPOV, J.J.; ZLATKOV, B.K.; DIMITROV, E.P. *et al.* Higher 25-Hydroxyvitamin D Levels Are Associated With Lower Proteinuria in Kidney Transplant Recipients. **Exp Clin Transplant**. v. 14, n. 6, p. 629-633, 2016.

FLEET, J.C.; SCHOCH, R. D. Molecular Mechanisms for Regulation of Intestinal Calcium Absorption by Vitamin D and Other Factors. **Crit Rev Clin Lab Sci**. 2010 Aug; v. 47, n. 4, p. 181–195, 2010.

FORRESTER, J. V. *et al.* **The Eye: Basic Sciences in Practice**. 4. ed. Elsevier, 2016. 568 p.

FRAUSCHER, B.; ARTINGER, K.; KIRSCH, A.H. *et al.* A New Murine Model of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder. **Int J Endocrinol.** v. 2017, 2017.

FREEDMAN, B.I.; COHEN, A.H. Hypertension-attributed nephropathy: what's in a name?. **Nat Rev Nephrol.** v.12, n.1, p.27-36, 2016.

GAMBACCIANI, M.;LEVANCINI, M. Gender differences in 7 years trends in cholesterol lipoproteins and lipids in India: Insights from a hospital database. **Indian J Endocrinol Metab.** v. 20, n. 2, p. 211-218, 2016.

GENNARI, L.D.; MERLOTTI,V.; DE PAOLA, A. *et al.* Estrogen Receptor Gene Polymorphisms and the Genetics of Osteoporosis: A HuGE Review. **American Journal of Epidemiology.** V. 161,n. 4, p. 307-320, 2005.

GLUHOVSCHI ,G.; GLUHOVSCHI, A; ANASTASIU, D. *et al.* Chronic kidney disease and the involvement of estrogen hormones in its pathogenesis and progression. **Rom J Intern Med.** v. 50, n. 2, p. 135-144, abr./jun. 2012.

GOMES, L.K.; CUSTÓDIO, M.R.; CONTIERI, F.L. *et al.* Persistent disorders of mineral metabolism after one year of kidney transplantation. **J Bras Nefrol.** v. 38, n. 3, p. 282-287, 2016.

GOMES-ROCHETTE, N.F.; SOUZA, L.S.; TOMMASI , B.O. *et al.* Association of PvuII and XbaI polymorphisms on estrogen receptor alpha (*ESR1*) gene to changes into serum lipid profile of post-menopausal women: Effects of aging, body mass index and breast cancer incidence. **PLoS One.** v. 12, n. 2, 2017.

GUPTA, R.; SHARMA, M.; GOYAL, N.K. *et al.* Gender differences in 7 years trends in cholesterol lipoproteins and lipids in India: Insights from a hospital database. **Indian J Endocrinol Metab.** v. 20, n. 2, p.211-218, 2016.

HAYAKAWA, Y.; YANAGI, H.; HARA, S. *et al.* Genetic and Environmental Factors Affecting Peak Bone Mass in Premenopausal Japanese Women. **Environmental Health and Preventive Medicine.** v. 6, p. 177–183, 2001.

HELD, P. J., PAULY, M. V., BOVBJERG, R. R. *et al.* Access to kidney transplantation. Has the United States eliminated income and racial differences? **Arch. Intern. Med.** v. 148, p. 2594–2600, 1988.

HERRINGTON, D.M.; HOWARD, T.D.; HAWKINS, G.A. *et al.* Estrogen-receptor polymorphisms and effects of estrogen replacement on high-density lipoprotein cholesterol in women with coronary disease. **N Engl J Med.** v. 346, n13, p. 967-974, mar. 2002.

HRUSKA, K. A.; MATHEW, S.; LUND, R. *et al.* Hyperphosphatemia of Chronic Kidney Disease. **Kidney Int.** v. 74, n. 2, p. 148-157, jul, 2008.

HU, M.C.; KURO-O, M, MOE, O.W. Klotho and chronic kidney disease. *Contrib Nephrol.* v. 180, p. 47-63, 2013.

HUH, J. H.; CHOI, S. I.; LIM, J. S. *et al.* Lower Serum Creatinine Is Associated with Low Bone Mineral Density in Subjects without Overt Nephropathy. **PLoS One.** v. 10, n. 7, 2015.

IMTIAZ, R.; HAWKEN, S.; MCCORMICK, B. B. *et al.* Diabetes Mellitus and Younger Age Are Risk Factors for Hyperphosphatemia in Peritoneal Dialysis Patients. **Nutrients.** v. 9, n. 2, p.152, 2017.

INDA FILHO, A. J.; MELAMED, M.L. Vitamina D e doença renal. O que nós sabemos e o que nós não sabemos. **J. Bras. Nefrol.** V. 35, n .4, 2013.

IOANNIDIS, J.P.; STAVROU, I.; TRIKALINOS, T.A. *et al.* Association of polymorphisms of the estrogen receptor alpha gene with bone mineral density and fracture risk in women: a meta-analysis. **Journal Of Bone And Mineral Research.** v. 17, n.11, 2002.

IOANNIDIS, J.P.; RALSTON, S.H.; BENNETT, S.T. *et al.* Differential genetic effects of ESR1 gene polymorphisms on osteoporosis outcomes. **JAMA.** v. 292, n. 17, p. 2105-2114, nov. 2004.

JANKOWSKA, N.; SZUPRYCZYNSKA, A.; DEBSKA-SLIZIEN, P. *et al.* Dietary Intake of Vitamins in Different Options of Treatment in Chronic Kidney Disease: Is There a Deficiency? **Transplantation Proceedings,** v. 48, 2016.

KARGER, A.B.; INKER, L.A.; CORESH, J. *et al.* Novel Filtration Markers for GFR Estimation.**EJIFCC.** v. 28, n. 4, p. 277-288, 2017.

KATO, S.; LINDHOLM, B.; AXELSSON, J. *et al.* Association between oestrogen receptor alpha gene polymorphism and mortality in female end-stage renal disease patients.**Nephrol Dial Transplant.** v. 22, n. 9, p. 2571-2577, 2007.

KAYLER, L.K.; MEIER-KRIESCHE, H; PUNCH, J.D. *et al.* Gender imbalance in living donor renal transplantation. **Transplantation.** v. 73, n. 2, p. 248-252, 2002.

KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease–mineral and bone disorder (CKD–MBD). *Kidney International* 2009; 76 (Suppl 113): S1–S130.

KDIGO. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney inter., Suppl.* 2013; 3: 1–150

KETTELER, M.; BLOCK, G.A.; EVENEPOEL, P. *et al.* Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease–Mineral and Bone Disorder: Synopsis of The Kidney Disease: Improving Global Outcomes 2017 Clinical Practice Guideline Update. **Ann Intern Med.** 2018.

KIM, H.; KANG, S.W.; YOO, T.H. *et al.* The impact of pretransplant 25-hydroxy vitamin D deficiency on subsequent graft function: an observational study. **BMC Nephrol.** v. 13, p. 22, 2012.

KIM, J.G.; LIM, K.S.; KIM, E.K. *et al.* Association of vitamin D receptor and estrogen receptor gene polymorphisms with bone mass in postmenopausal Korean women. **Menopause.** v. 8, n. 3, p. 222-228, mai./jun. 2011.

KJELLSTRAND, C. M. Age, sex, and race inequality in renal transplantation. **Arch. Intern. Med.** v. 148, p. 1305–1309, 1988.

KOCHANEK, M.; SAID, A.; LERMA, E.V. Mineral metabolism in chronic kidney disease. -Dis Mon. v. 61, n. 10, p. 425-433, out. 2015.

KOLLER, D.L; ZHENG, H.F.; KARASIK, D. *et al.* Meta-analysis of genome-wide studies identifies WNT16 and ESR1 SNPs associated with bone mineral density in premenopausal women. **J Bone Miner Res.** v. 28, n. 3, p. 547-558, mar. 2013.

KOSHIZUKA, Y.; OGATA, N.; SHIRAKI, M. *et al.* Distinct association of gene polymorphisms of estrogen receptor and vitamin D receptor with lumbar spondylosis in post-menopausal women. **European Spine Journal.** V. 15, n. 10, p. 1521-1528, 2006.

KUMAR, R; THOMPSON, J.R. The regulation of parathyroid hormone secretion and synthesis. **J Am Soc Nephrol.** v. 22, n. 2, p. 216-224, 2011.

KURO-O, M. A phosphate-centric paradigm for pathophysiology and therapy of chronic kidney disease. **Kidney Int 3(Suppl).** p. 420-426, 2013.

LAWAL, I.; ANKRAH, A.; OLOLADE, K. *et al.* Renal osteodystrophy presenting as a metabolic superscan on F-18 FDG PET/CT: A case report. **Medicine (Baltimore).** v. 96, n. 46, 2017.

LEE, H.H.; KIM, A.J.; RO, H. *et al.* Sequential Changes of Vitamin D Level and Parathyroid Hormone After Kidney Transplantation. **Transplant Proc.** v. 48, n.3, p. 897-899, 2016.

LEE, Y.H.; SONG, G.G. Estrogen receptor 1 PvuII and XbaI polymorphisms and susceptibility to Alzheimer's disease: a meta-analysis. **Genetics and Molecular Research.** v. 14, n. 3, p.: 9361-9369, 2015.

LEHMANN, G.; OTT, U.; STEIN, G. *et al.* Renal osteodystrophy after successful renal transplantation: a histomorphometric analysis in 57 patients. **Transplant Proc.** v. 39, p. 3153-3158, 2007.

LEVEY, A.S.; STEVENS, L.A.; SCHMID, C.H. *et al.* A new equation to estimate glomerular filtration rate. **Ann Intern Med.** v. 150, n. 9, p. 604-612, 2009.

LEVEY, A.S.; STEVENS, L.A. Estimating GFR using the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) creatinine equation: more accurate GFR estimates, lower CKD prevalence estimates, and better risk predictions. **Am J Kidney Dis.** v. 55, n. 4, p. 622-627, 2010.

LEVIN, A.; BAKRIS, G.L.; MOLITCH, M. *et al.* Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. **Kidney Int.** v. 71, p. 31–38, 2007.

LI, L.; ZHANG, X.; XIA, Q. *et al.* Association between estrogen receptor alpha PvuII polymorphism and prostate cancer risk. **Tumor Biology.** v. 35, n. 5, p. 4629–4635, 2014.

LI, Y.C.; KONG, J.; WEI, M. *et al.* 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. **J. Clin. Investig.** v. 110, p. 229–238, 2002.

LIANG, S.; LE, W.; LIANG, D. *et al.* Clinico-pathological characteristics and outcomes of patients with biopsy-proven hypertensive nephrosclerosis: a retrospective cohort study. **BMC Nephrol.** v. 17, p. 42, 2016.

LIEFELDT L, BUDDE K. Risk factors for cardiovascular disease in renal transplant recipients and strategies to minimize risk. **Transpl Int.** v. 23, n. 12, p.191-204, 2010.

LIEL, Y.; SHANY, S.; SMIRNOFF, P. *et al.*, Estrogen increases 1,25-dihydroxyvitamin D receptors expression and bioresponse in the rat duodenal mucosa. **Endocrinology.** v. 140, n. 1, p. 280-285, 1999.

LIU, T.; LIU, M.; SHANG, P. *et al.* Investigation into the underlying molecular mechanisms of hypertensive nephrosclerosis using bioinformatics analyses. **Molecular Medicine Reports.** v.1, p. 4440-4448, 2018 .

LIU, G. *et al.* Gender disparity of living donor renal transplantation in East China. **Clin. Transplant .** v. 27, p. 98–103, 2013.

LOMONTE, C.; ANTONELLI, M.; VERNAGLIONE, L. *et al.* Are low plasma levels of 25-(OH)vitamin D a major risk factor for hyperparathyroidism independent of calcitriol in renal transplant patients? **J Nephrol.** v.18, n.1, p.96-101, 2005.

LOPES, I.; MARTÍN, M.; ERRASTI, P. *et al.* Changes in the post-kidney transplantation body composition: different behavior between men and women. **Nutr Hosp.** v. 13, n. 1, p. 28-32, 1998.

LOU, I.; FOLEY, D; ODORICO, S. K. *et al.* How well does renal transplantation cure hyperparathyroidism? **Ann Surg.** v. 262, n. 4, p. 653–659, 2015.

MA, H.; WU, W.; YANG, X. *et al.* Genetic effects of common polymorphisms in estrogen receptor alpha gene on osteoarthritis: a meta-analysis. **Int J Clin Exp Med.** v. 8, n. 8, p. 13446-13454, 2015.

MANUCHA, W.; JUNCOS, L.I. The protective role of vitamin D on the heart and the kidney. **Ther Adv Cardiovasc Dis.** 2016.

MARIC, C.; SANDBERG, K.; HINOJOSA-LABORDE, C. Glomerulosclerosis and tubulointerstitial fibrosis are attenuated with 17beta-estradiol in the aging Dahl salt sensitive rat. **J Am Soc Nephrol.** v. 15, n. 6, p. 1546-1556, jun. 2004.

MARINHO, A. W. G. B.; PENHA, A. P.; SILVA, M. T. *et al.* Prevalence of chronic renal disease among Brazilian adults: a systematic review. **Cad. saúde colet.** v. 25, n.3, 2017.

MARTIN, K.J.; GONZÁLEZ, E.A. Prevention and control of phosphate retention/hyperphosphatemia in CKD-MBD: what is normal, when to start, and how to treat? **Clin J Am Soc Nephrol.** v. 6, n. 2, p. 440-446, 2011.

MARTINS, Suellen Rodrigues. **Avaliação da função endotelial e a sua associação com a evolução do enxerto em receptores do transplante renal.** 2017. 125 f. Dissertação (Mestrado em Análiss Clínicas e Toxicológicas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

McGREGOR, R.; LI, G.; PENNY, H. *et al.* Vitamin D in renal transplantation—from biological mechanisms to clinical benefits. **Am J Transplant.** v. 14, p. 1259–1270, 2014.

McROBB, L.S.; MCGRATH, K.C.Y.; TSATRALIS, T. Estrogen Receptor Control of Atherosclerotic Calcification and Smooth Muscle Cell Osteogenic Differentiation. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 2017 Jun;v. 37, n. 6, p. 1127-1137, 2017.

MENG, J.; OHLSSON, C.; LAUGHLIN, G.A. *et al.* Associations of estradiol and testosterone with serum phosphorus in older men: the Osteoporotic Fractures in Men study. **Kidney Int.** v. 78, n. 4, p. 415-422, 2010.

MOLINA, P.; GÓRRIZ J.L.; MOLINA, M.D.; *et al.* What is the optimal level of vitamin D in non-dialysis chronic kidney disease population? **World J Nephrol.** v.5, n.5, p. 471-481, 2016.

MØLLER, U.K.; STREYM, SV., JENSEN, L.T. *et al.* Increased plasma concentrations of vitamin D metabolites and vitamin D binding protein in women using hormonal contraceptives: a cross-sectional study. **Nutrients.** v. 5, n. 9, p. 3470-3480, 2013.

MOLVAREC, A.; NAGY, B.; KOVÁCS, M. *et al.* Lipid, haemostatic and inflammatory variables in relation to the estrogen receptor alpha (ESR1) PvuII and XbaI gene polymorphisms. **Clin Chim Acta.** v. 380, p. 157-164, 2007.

MONIKA, H.E. CHRISTENSEN, M.H.E.; FENNE, I. S. FLAGENG, M.H. et al. Estradiol determines the effects of PTH on ERα-dependent transcription
MORANI, A.; WARNER, M.; GUSTAFSSON,

MOYSÉS, R. M.; SCHIAVI, S. C. Sclerostin, Osteocytes, and Chronic Kidney Disease - Mineral Bone Disorder. **Semin Dial.** v. 28, n. 6, p. 578-586, nov./dez. 2015.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION - .K/DOQI.Guideline 1. Definition and Stages of Chronic Kidney Disease, 2002. Disponível em: <<http://www.kidney.org>>

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. Post Transplant Bone Disease, 2018. Disponível em: <<https://www.kidney.org>>

NEUGARTEN, J.; ACHARYA, A.; SILBIGER, S.R. Effect of gender on the progression of nondiabetic renal disease: a meta-analysis. **J Am Soc Nephrol.** v. 11, n. 2, p. 319-329, fev. 2000.

NITTA, K.; YAJIMA, A.; TSUCHIYA, K. Management of Osteoporosis in Chronic Kidney Disease. **Intern Med.** v. 56, n. 24, p. 3271-3276, 2017.

NOAH, K. Y.; ANANTHAKRISHNAN, S.; CAMPBELL, M. J. Hyperparathyroidism of Renal Disease. **Perm J.** v. 20, n. 3, p. 78–83, 2016.

NUMAKURA, K.; KAGAYA, H.; YAMAMOTO, R. *et al.* Characterization of clinical and genetic risk factors associated with dyslipidemia after kidney transplantation. **Dis Markers.** 2015.

PARK, Y.J.; KIM, S.U.; LEE, K.H. *et al.* Vitamin D deficiency is associated with increased risk of bacterial infections after kidney transplantation. **Korean J Intern Med.** v. 32, n. 3, p. 505-513, 2017.

PÉREZ-HERNÁNDEZ, N.; APTILON-DUQUE, G.; NOSTROZA-HERNÁNDEZ, M.C. *et al.* Vitamin D and its effects on cardiovascular diseases: a comprehensive review. **Korean J Intern Med.** v. 31, n. 6, p. 1018-1029, 2016.

PERRIN, P.; CAILLARD, S.; JAVIER, R.M. et al. Persistent hyperparathyroidism is a major risk factor for fractures in the five years after kidney transplantation. **Am J Transplant.** v.13, p.10, p. 2653-2663, 2013.

PICCOLI, G.B.; ALRUKHAIMI, M.; LIU, Z.H. *et al.* Women and kidney disease: reflections on World Kidney Day 2018. **Clin Kidney J.** v. 11, n. 1, p.7-11, 2018.

POP, C.L; SUE A. SHAPSES, S.A.; BRIAN CHANG, B. *et al.* Vitamin d-binding protein in healthy pre- and postmenopausal women: relationship with estradiol concentrations. **Endocr Pract.** 2015 Aug;v. 21, n. 8, p. 936–942, 2015.

PRAKOBUSUK, S.; SIRILAK, S.; VIPATTAWAT, K. *et al.* Hyperparathyroidism and increased fractional excretion of phosphate predict allograft loss in long-term kidney transplant recipients. **Clin Exp Nephrol.** v. 21, n. 5, p. 926-931, 2017.

RACZYŃSKA, D.; ŚLIZIENI, M.; BZOMA, B. *et al.* A 10-year monitoring of the eyesight in patients after kidney transplantation. **Medicine (Baltimore)**. v. 97, n. 6, 2018.

RAVANI, P.; MALBERTI, F.; TRIPEPI, G. *et al.* Vitamin D levels and patient outcome in chronic kidney disease. **Kidney Int.** 2009 v. 75, n. 1, p. 88-95, 2008.

REBHOLZ, C.M.; GRAMS, M.E.; LUTSEY, P.L. *et al.* Biomarkers of Vitamin D Status and Risk of ESRD. **Am J Kidney Dis.** v.67, n.2, p.235-242, 2016.

RIELLA L. V.; GABARDI, S.; CHANDRAKER, A. Dyslipidemia and its therapeutic challenges in renal transplantation. **Am. J. of Transp.**v. 12, n. 8, p. 1975–1982, 2012.

RODRÍGUEZ-ORTIZ, M. E.; RODRÍGUEZ, M. FGF23 as a calciotropic hormone. **Faculty Rev.** p. 1472, 2015.

ROMÃO, Jr. E. Doença Renal Crônica: Definição, Epidemiologia e Classificação. **J Bras Nefrol.** V. 26, n. 3, ago. 2004.

ROSZKO, K.L.; BI, R.D.; MANNSTADT, M. *et al.* Autosomal Dominant Hypocalcemia (Hypoparathyroidism) Types 1 and 2. **Front Physiol.** 2016 Oct v.18, n.7, p.458, 2016.

SALIMI, S.; FARAJIAN-MASHHADI, .;F TABATABAEI, E. *et al.* Estrogen receptor alpha XbaI GG genotype was associated with severe preeclampsia. **Clin Exp Hypertens.** v. 39, n. 3, p. 220-224, 2017.

SALVADOR, C.L.; HARTMANN, A.; ÅSBERG, A. *et al.* Estimating glomerular filtration rate in kidney transplant recipients: comparing a novel equation with commonly used equations in this population. **Transplant Direct.** v. 3, n. 12, 2017.

SAPIR-KOREN, R.; LIVSHITS, G.;KOBLYANSKY, E. Genetic effects of estrogen receptor alpha and collagen IA1 genes on the relationships of parathyroid hormone and 25 hydroxyvitamin D with bone mineral density in Caucasian women. **Metabolism.** v. 52, n. 9, p.1129-1135, 2003.

SCHREIBER, P.W. BISCHOFF-FERRARI, H.A.; BOGGIAN, K. *et al.* Bone metabolism dynamics in the early post-transplant period following kidney and liver transplantation. **PLoS One.** v.13, n. 1, 2018.

SESSO, R. C.; LOPES, A.A.; THOMÉ, F. S. *et al.* Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2016. **J Bras Nefrol.** v. 39, n. 3, p. 261-266, 2017.

SILBIGER, S.; NEUGARTEN, J. Gender and human chronic renal disease. **Gend Med.** 2008.

SILVA, I.V.; REZENDE, L.C.D.; LANES, S.P. *et al.* Evaluation of PvuII and XbaI polymorphisms in the estrogen receptor alpha gene (ESR1) in relation to menstrual cycle timing and reproductive parameters in post-menopausal women. **Maturitas**.v. 67, p. 363–367, 2010.

SILVER, J.; LEVI, R. Cellular and molecular mechanisms of secondary hyperparathyroidism. **Clin Nephrol**. v. 63, n. 2, p. 119-126, 2005.

SOBEIH, S.; MASHALY, H.M.; GAWDAT, H. *et al.* Evaluation of the correlation between serum levels of vitamin D and vitamin D receptor gene polymorphisms in an Egyptian population. **Int J Dermatol**.v. 55, n.12, p.1329-1335, 2016.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA. **Vitamina D: Novos valores de referência**. 2016. Disponível em: <<https://www.endocrino.org.br/vitamina-d-novos-valores-de-referencia/>>

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. **Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose – 2017**. v. 109, n. 2, 2017.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **OF/PRES/0308/2013 Dia Mundial do Rim em 14/03/2013**. Disponível: <http://arquivos.sbn.org.br/pdf/release.pdf>

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL; SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA. **Intervalos de referência da Vitamina D – 25(OH)D**. Disponível em: http://www.sbpc.org.br/wp-content/uploads/2017/12/PosicionamentoOficial_SBPCML_SBEM.pdf.

STRINGER, K.D.; KOMERS, R.; OSMAN, S.A. *et al.*; Gender hormones and the progression of experimental polycystic kidney disease. **Kidney Int**. v. 68, n. 4, p. 1729-1739, out. 2005.

SVENSON, J.; CUNNINGHAM, M.; DASGUPTA, S. *et al.*; Estrogen receptor alpha modulates mesangial cell response to toll-like receptor ligands. **Am J Med Sci**. v. 348, n.6. p. 492-500, dez. 2014.

SYLVIA, V.L.GAY, I. Hardin, R. *et al.* Rat costochondral chondrocytes produce 17 β -estradiol and regulate its production by 1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$. **Bone**. v. 30, n. 1, p. 57-63, 2002.

TAKAYANAGI, R.; GOTO, K.; SUZUKI, S. *et al.* Dehydroepiandrosterone (DHEA) as a possible source for estrogen formation in bone cells: correlation between bone mineral density and serum DHEA-sulfate concentration in postmenopausal women, and the presence of aromatase to be enhanced by 1,25-dihydroxyvitamin D $_3$ in human osteoblasts. **Mech Ageing Dev**. v. 123, n. 8, p.1107-1114, 2002.

TANAKA, Y.; SASAKI, M.; KANEUCHI, M. *et al.* Estrogen receptor alpha polymorphisms and renal cell carcinoma - a possible risk. **Mol Cell Endocrinol**.V, 202, n. 1-2, p. 109-116, abr. 2003.

TAWEESEDT, P.T.; DISTHABANCHONG, S. **World J Transplant.** Mineral and bone disorder after kidney transplantation. v.5, n.4, p. 231-242, 2015.

TAZIKI, O.; ESPAHBODI, F.; ALIZADEH FORUTAN, M. *et al.* 25-hydroxyvitamin D deficiency in kidney transplant recipients. **Iran J Kidney Dis.** v. 5, n. 1, p. 57-62, 2011.

THACHER, T.D.; CLARKE, B.L. Vitamin D insufficiency. **Mayo Clin Proc.** v. 86, n. 1, p. 50-60, 2011.

THOMAS, B.; TABER, D.J.; SRINIVAS, T.R. Hypertension after kidney transplantation: a pathophysiologic approach. **Curr Hypertens Rep.** v. 15, n.5, p.458-469, 2013.

TONELLI, M.; WIEBE, N.; KNOLL, G. *et al.* Systematic review: kidney transplantation compared with dialysis in clinically relevant outcomes. **Am J Transplant.** v. 11, p. 2093–2109, 2011.

TORREGROSA, J.V.; BARROS, X. Management of hypercalcemia after renal transplantation. **Nefrologia.** v. 33, p. 751-757, 2013.

UEMURA, H.; IRAHARA, M.; YONEDA, N. *et al.* Close correlation between estrogen treatment and renal phosphate reabsorption capacity. **J Clin Endocrinol Metab.** v. 85, p. 1215–1219, 2000.

UREÑA-TORRES, P; METZGER, M.; HAYMANN, J.P. *et al.* Association of kidney function, vitamin D and circulating markers of mineral and bone disorders in CKD. **Am J Kidney Dis.** 2011 v. 58, n. 4, p.544-553, 2011.

USRDS - NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. National Institute of Diabetes & Digestive & Kidney Diseases. Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease in the United States. Bethesda, MD: USRDS, 2013. v. 1.

USRDS. UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM. 2015 USRDS annual data report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2015.

Van ABEL, M.; HOENDEROP, J.G.; DARDENNE, O. *et al.* 1,25-dihydroxyvitamin D(3)-independent stimulatory effect of estrogen on the expression of ECaC1 in the kidney. **J Am Soc Nephrol.** v. 13, n. 8, p. 2102-2109, 2002.

VILLANEGO, F.; MORENO, A.; WU, J. *et al.* Changes in Antihypertensive Therapy After Renal Transplantation. **Transplant Proc.** 2018 Mar; v. 50, n. 2, p. 583-586, 2018.

WACKER, M; HOLICK, M.F. Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. **Dermatoendocrinol.** v. 5, n.1, p. 51-108, 2013.

- WANG, Z.; YANG, H.; GUO, M. *et al.* Impact of complement component 3/4/5 single nucleotide polymorphisms on renal transplant recipients with antibody-mediated rejection. **Oncotarget**. 2017 Oct 10;v. 8, n. 55, 2017.
- WAŻNA-JABŁOŃSKA, E.; GAŁĄZKA, Z.; DURLIK, M. Treatment of Persistent Hypercalcemia and Hyperparathyroidism With Cinacalcet After Successful Kidney Transplantation. **Transplant Proc**. v. 48, n. 5, p.1623-1625, 2016.
- WEBSTER, R.; SHERIFF, S.; FAROQUI, R. *et al.* Klotho/fibroblast growth factor 23- and PTH-independent estrogen receptor-mediated direct downregulation of NaPi-IIa by estrogen in the mouse kidney. **Am J Physiol Renal Physiol**. 2016 Aug 1; v. 311, n. 2, p. 249-259, 2016.
- WEISINGER, J.R.; HEILBERG, I.P.; HERNÁNDEZ, E. *et al.* Selective estrogen receptor modulators in chronic renal failure. **Kidney Int Suppl**. n.85, p. 62-65, 2003.
- WEISINGER, J.R.; HEILBERG, I.P.; HERNÁNDEZ, E. *et al.* Selective estrogen receptor modulators in chronic renal failure. **Kidney Int Suppl**. n. 85, p. 62-65, 2003.
- WOLF, M.; WEIR, M.R.; KOPYT, N. *et al.* A Prospective Cohort Study of Mineral Metabolism After Kidney Transplantation. **Transplantation**. v. 100, n. 1, p. 184-193, 2016.
- YANG, L.C.; ZHANG, Q.; PIAO, J.H. *et al.* Association of estrogen receptor-alpha gene PvuII polymorphisms with the effect of calcium supplementation on skeletal development in Chinese pubertal girls. **Biomed Environ Sci**. v. 22, n. 6, p. 480-487, 2009.
- YAO, H.K.; KONAN, S.D.; SANOGO, S. *et al.* Prevalence and risk factors of chronic kidney disease in Cote D'Ivoire: An analytic study conducted in the department of internal medicine. **Saudi J Kidney Dis Transpl**. v. 29, n.1, p.153-159, 2018.
- YAZDI, M.M.; JAMALALDINI, M. H. ; SOBHAN, M. R. *et al.* Association of ESR α Gene Pvu II T>C, XbaI A>G and BtgI G>A Polymorphisms with Knee Osteoarthritis Susceptibility: A Systematic Review and Meta-Analysis Based on 22 Case-Control Studies. **Arch Bone Jt Surg**. v. 5, n. 6, p. 351–362, 2017.
- YUAN, W.; PAN, W.; KONG, J. *et al.* 1,25-dihydroxyvitamin D3 suppresses renin gene transcription by blocking the activity of the cyclic AMP response element in the renin gene promoter. **J. Biol. Chem**. v. 282, p. 29821–29830, 2007.
- ZHANG, Y.; LONG, J.; LIU, P. *et al.* Estrogen receptor α and vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density: association study of healthy pre- and postmenopausal Chinese women. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 308, n. 4, p. 777-783, 2003.
- ZHANG, Z.L.; QIN, Y.J.; HUANG, Q.R. *et al.* Association of estrogen receptor-alpha and vitamin D receptor genotypes with therapeutic response to calcium in

postmenopausal Chinese women. **Acta Pharmacol Sin.** v.25, n. 12, p. 1690-1697, 2004.

ZHAO, D.; OUYANG, P.; DE BOER, I.H. *et al.* Serum vitamin D and sex hormones levels in men and women: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **Maturitas.** 2017 Feb;v. 96, p. 95-102, 2017.
ZHU, H.; JIANG, J.; WANG, Q. *et al.* Associations between ER α / β gene polymorphisms and osteoporosis susceptibility and bone mineral density in postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis. **BMC Endocr Disord.** v. 18, n. 1, p. 11, 2018.

ZIFF, O.J.; PENNY, H.; FRAME, S. *et al.* Impact of seasonality on the dynamics of native Vitamin D repletion in long-term renal transplant patients. **Clinical Kidney Journal.** v. 10, n. 3, 2017.

ANEXO A - Carta de aprovação do Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais, CAAE (2015)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 48443715.3.0000.5149

Interessado(a): Profa. Ana Paula Lucas Mota
Departamento de Análises Clínicas e
Toxicológicas
Faculdade de Farmácia

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 30 de agosto de 2016, a emenda abaixo relacionada, do projeto de pesquisa intitulado **"Avaliação de marcadores genéticos, inflamatórios e hemostáticos no transplante renal"** .

- Acréscimo de novos biomarcadores de diagnóstico e monitoramento dos pacientes transplantados, sem perdas ou alterações em seus tratamentos.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto através da Plataforma Brasil.

Prof. Dra. Vivian Resende
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXOB–Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Grupo de Pacientes Transplantados Renais)

Título do Projeto: Avaliação de marcadores inflamatórios/ hemostáticos e polimorfismos da sintase do óxido nítrico endotelial em pacientes transplantados renais

**Professora orientadora e pesquisadora responsável:
Dra Ana Paula Lucas Mota**

Você está sendo convidado a participar como voluntário(a) de uma pesquisa científica intitulada como: “Avaliação de marcadores inflamatórios/ hemostáticos e polimorfismos da sintase do óxido nítrico endotelial em pacientes transplantados renais”, que está descrita a seguir:

A perda do enxerto por mecanismos diversos de rejeição e a ocorrência de complicações cardiovasculares ainda são frequentes no pós-transplante renal. A inflamação, a ativação do sistema imunológico, os distúrbios da coagulação e características genéticas desempenham um papel importante em pacientes transplantados renais, principalmente no que diz respeito à mortalidade cardiovascular e ao risco de rejeição. Na década de 1960, os transplantes de órgãos foram iniciados no Brasil, mas não evoluíram naquela época, em razão da baixa sobrevida dos receptores. Atualmente, com o aprimoramento de técnicas científicas, o Brasil detém o maior programa público de transplantes de órgãos e tecidos do mundo, destacando-se pelo crescente número de transplantes realizados a cada ano.

Esta pesquisa visa esclarecer sobre as alterações laboratoriais em exames de pacientes transplantados renais, que possam contribuir para o melhor tratamento e monitoramento pós-transplante. Você está sendo convidado para participar desta pesquisa de forma **voluntária e gratuita**.

Para decidir se você deve concordar ou não em participar desta pesquisa, leia atentamente todos os itens a seguir que irão informá-lo(a) e esclarecê-lo(a) de todos os procedimentos, riscos e benefícios pelos quais você passará segundo as exigências da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde.

1. Identificação do(a) voluntário(a) da pesquisa:

Nome: _____ Gênero: _____
 Identidade: _____ Órgão Expedidor: _____
 Data de Nascimento: ____/____/____ Médico: _____
 Telefone: _____ Tempo de Tx: _____

2. Objetivo da pesquisa:

Investigar micropartículas celulares, marcadores hemostáticos e polimorfismos da sintase do óxido nítrico endotelial em pacientes submetidos ao transplante de rim, sem sinais clínicos de rejeição, distribuídos em subgrupos de acordo com os níveis plasmáticos de creatinina e o eRFG.

3. Descrição detalhada e explicação dos procedimentos realizados:

Sua participação é voluntária e se dará por meio de uma punção venosa de amostras sanguíneas, com agulhas estéreis e descartáveis e tubos a vácuo, também estéreis. Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa envolvem possíveis incômodos durante a punção venosa, como dor local, tonteira ou sensação de desmaio e, após a coleta, o possível surgimento de uma mancha roxa (hematoma), devido ao extravasamento de sangue de um vaso sanguíneo. Geralmente não há complicações e essa mancha roxa desaparece em poucos dias.

Descrição dos desconfortos e riscos da pesquisa:

(X) Risco Mínimo () Risco Baixo () Risco Médio () Risco Alto

4. Descrição dos benefícios da pesquisa:

Se você aceitar participar, estará contribuindo para a confirmação ou a exclusão das hipóteses geradas em torno das alterações em exames laboratoriais encontrados em pacientes transplantados renais, bem como irá contribuir para a geração de materiais didáticos, que possuem o objetivo de instruir e esclarecer os participantes sobre o tratamento e a prevenção de diversas complicações associadas ao transplante de rim.

5. Despesas, compensações e indenizações:

Você não terá despesa pessoal nessa pesquisa incluindo transporte, exames e consultas. As coletas serão realizadas sempre que você comparecer às consultas de rotina e/ou ao laboratório para exames. Você não terá compensação financeira relacionada à sua participação nessa pesquisa.

6. Direito de confidencialidade:

Você tem assegurado que todas as suas informações pessoais obtidas durante a pesquisa serão consideradas estritamente confidenciais e os registros estarão disponíveis apenas para os pesquisadores envolvidos no estudo. Os resultados obtidos nessa pesquisa poderão ser publicados com fins científicos, mas sua identidade será mantida em sigilo.

7. Acesso aos resultados da pesquisa:

Você tem direito de acesso atualizado aos resultados da pesquisa. Em caso de resultados que possam afetar seu monitoramento, entraremos em contato com você ou com o seu médico para que as devidas medidas possam ser tomadas.

8. Liberdade de retirada do consentimento:

Você tem direito de retirar seu consentimento, a qualquer momento, deixando de participar da pesquisa, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu cuidado e/ou tratamento na instituição.

9. Acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa:

Você tem garantido o acesso, em qualquer etapa da pesquisa, aos profissionais responsáveis pela mesma, para esclarecimento de eventuais dúvidas acerca de procedimentos, riscos, benefícios, etc., através dos contatos abaixo:

Professora orientadora e responsável pela pesquisa: Ana Paula Lucas Mota
Telefone: (31) 3409 6896
Email: aplmeta@farmacia.ufmg.br

10. Acesso à instituição responsável pela pesquisa:

Você tem garantido o acesso, em qualquer etapa da pesquisa, à instituição responsável pela mesma, para esclarecimento de eventuais dúvidas acerca dos procedimentos éticos, através do contato abaixo:

Comitê de ética do campus da UFMG
Avenida Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II – 2º andar, sala 2005,
Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG. CEP: 31270-901. Telefone (31) 3409
4592.
email coep@prpq.ufmg.br

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Fui informado verbalmente e por escrito sobre os dados dessa pesquisa e minhas dúvidas com relação a minha participação foram satisfatoriamente respondidas.

Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, os desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso aos pesquisadores e à instituição de ensino.

Tive tempo suficiente para decidir sobre minha participação e concordo voluntariamente em participar desta pesquisa e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante a mesma, sem penalidades, prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

A minha assinatura neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dará autorização aos pesquisadores, ao patrocinador do estudo e ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais de utilizarem os dados obtidos quando se fizer necessário, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando minha identidade.

Assino o presente documento em duas vias de igual teor e forma, ficando uma em minha posse.

Belo Horizonte, ____ de _____ de _____

Voluntário

Pesquisador Responsável

ANEXO C – Ficha Clínica

| Ficha Clínica | | | |
|---|---------------|-------------------------------------|----------------|
| "AVALIAÇÃO DE MARCADORES GENÉTICOS, INFLAMATÓRIOS E HEMOSTÁTICOS EM PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS" | | | |
| Número de ID do participante: _____ Data da coleta: ____________ Prontuário: _____ | | | |
| 1. Identificação: | | | |
| Nome: _____ DN: ____________ Sexo: _____ | | | |
| Naturalidade: _____ | | Endereço: _____ | |
| Cidade: _____ | | Estado: _____ CEP: _____ Tel: _____ | |
| Etnia: _____ Médico: _____ Outras Infos: _____ | | | |
| 2. Dados Clínicos: | | | |
| a) Peso (Kg): _____ | | b) Diálise\Tempo: _____ | |
| Altura (m) _____ | | IMC (Kg/m ²) _____ | |
| c) Doença base: _____ d) Comorbidades: _____ | | | |
| e) Data do Tx renal: ____________ f) Doador (tipolidade\sexo) : _______________ | | | |
| g) Imunossupressores: _____ | | | |
| h) Outros medicamentos: _____ | | | |
| i) Tabagismo? _____ j) Consumo de bebida álcool.? _____ | | | |
| k) Prática de exercício físico? _____ l) Tipo sanguíneo: _____ m) História familiar de DRC: _____ | | | |
| n) PA: ________ o) Rejeição prévia\data indução: _____ | | | |
| Dados Laboratoriais - Data: ____________ | | | |
| Hemograma | Ionograma | Bioquímica | Bioquímica |
| Hm\Ht\Hb: \ \ | Na\k: \ | Creat: | BD\BT: \ |
| GL: | Mg\PCl: \ \ | Uréia: | Nível Med____: |
| Seg\Bast: \ | Ca\Cai: \ | Ác. úrico: | Albumina: |
| Baso\Eos: \ | Urina | HbA1c: | Globina: |
| Linf\Mono: \ | DU\pH: \ | Glico JJ: | LDH: |
| Plaq: | Micro\Prot: \ | TGO\AST: | Colest T: |
| VCM\HCM: \ | Prot. 24h: | TGP\ALT: | HDL\LDL: \ |
| PTTA: c: \ p: | Alb\Creat: | FAL\GGT: \ | VLDL\TGL: |
| RNI\TP: \ c: p: | Sedimentos: | CK T: | Outros: |
| Outros: | Outros: | Outros: | Outros: |
| Imuno (Receptor) | | Imuno (Doador) | |
| HLA A: | B: | HLA A: | B: |
| | DR: | | DR: |
| PRA PRÉ (data): | | Prova Cruzada: | GS: |
| PRA PÓS (data): | | Outros: | |
| Biópsia: | | Infecções pós-Tx: | |
| Outros: | | | |