


A deficiência de vitamina D não está associada ao aumento do estresse oxidativo em pacientes renais crônicos em pré-diálise


Vitamin D deficiency is not associated with increased oxidative stress in chronic kidney disease pre-dialysis patients

Autores

Andressa Keiko Matsumoto¹ 

Michael Maes^{2,3,4} 


Ana Paula Michelin¹ 

Abel Esteves Soares⁵ 

Laura de Oliveira Semeão¹ 

Paula Godeny¹ 

Danielle Venturini¹ 

Décio Sabbatini Barbosa¹ 

Vinicius Daher Alvares Delfino⁵ 

¹Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas, Londrina, PR, Brasil.

²Deakin University, IMPACT Research Center, Geelong, Australia.

³Chulalongkorn University, Faculty of Medicine, Department of Psychiatry, Bangkok, Thailand.

⁴Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Londrina, PR, Brasil.

⁵Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Medicina Interna, Seção de Nefrologia, Londrina, PR, Brasil.

Submetido em: 13/09/2019.

Aprovado em: 04/03/2020.

Correspondência para:

Andressa Keiko Matsumoto
E-mail: dessamatsu@hotmail.com.br

DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2019-0156>

RESUMO

Introdução: A queda da 25-hidroxivitamina D [25 (OH) D] na doença renal crônica (DRC) limita a capacidade renal de sintetizar a vitamina. A deficiência de vitamina D, (25(OH)D < 20 ng/mL), é prevalente em pacientes com DRC e associada ao estresse oxidativo (EO). Avaliamos possível associação entre a deficiência de vitamina D e EO em pacientes pré-dialíticos.

Métodos: estudo transversal com 206 pacientes com DRC. Exames para 25(OH) D, 1,25(OH)2D, marcadores inflamatórios e EO foram adicionados àqueles de rotina, incluindo creatinina, albumina, cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, iPTH, glicose, hemoglobina, ácido úrico, colesterol total, LDL, HDL e triglicerídeos. **Resultados:** 55 pacientes com DRC tinham deficiência de vitamina D e os 149 tinham níveis normais da vitamina. Houve uma associação significativa entre a vitamina D e a taxa estimada de filtração glomerular (TFGe). Os níveis de homocisteína foram melhor previstos pela TFGe, gênero e idade; proteína C reativa de alta sensibilidade (hsCRP) por estadiamento e IMC; os metabólitos de óxido nítrico (NOx) aumentaram na doença tardia; a leptina foi influenciada pelo IMC, e mais alta em mulheres, assim como os níveis de adiponectina. **Conclusões:** biomarcadores do EO não correlacionaram com a deficiência de vitamina D, mas houve aumento de NOx nos estágios 4-5 da DRC. Apesar dos grandes números de pacientes com DRC, de biomarcadores inflamatórios e EO usados neste estudo, não houve associação entre os níveis de vitamina D e a TFGe. Mais estudos são necessários para avaliar a influência do status da vitamina D no EO em pacientes com DRC em pré-diálise.

Palavras-chave: Insuficiência Renal Crônica; Estresse oxidativo; Vitamina D.

ABSTRACT

Introduction: The progressive decline in 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] in chronic kidney disease (CKD) limits the kidney ability of synthesizing the vitamin. Vitamin D deficiency as defined by KDIGO (25(OH)D < 20 ng/mL) is prevalent in CKD patients and associated to oxidative stress (OS). We studied a possible association between vitamin D deficiency and OS in pre-dialysis patients. **Methods:** A cross-sectional study with 206 CKD patients was carried out. Laboratory tests for 25(OH)D, 1,25(OH)2D, inflammatory markers, and OS were added to routine tests including creatinine, albumin, calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, iPTH, glucose, hemoglobin, uric acid, total cholesterol, LDL, HDL, and triglycerides. **Results:** Vitamin D deficiency was present in 55 CKD patients and normal vitamin D levels were seen in 149 patients. There was a significant association between vitamin D and estimated glomerular filtration rate (eGRF). Homocysteine levels were best predicted by eGRF, sex, and age; high sensitivity C-reactive protein (hsCRP) by staging and BMI; nitric oxide metabolites (NOx) were increased in late disease; leptin was influenced by BMI and higher in women than man; and adiponectin levels were higher in women. **Conclusions:** OS biomarkers were not correlated with vitamin D deficiency but increased NOx were seen in stages 4-5 CKD patients. Even though a relatively large number of CKD patients was included and a broad number of OS and inflammatory biomarkers were used in this studied we failed to find an association between vitamin D levels and eGRF. More studies are needed to evaluate the influence of vitamin D status in OS in pre-dialysis CKD patients.

Keywords: Renal Insufficiency, Chronic; Oxidative Stress; Vitamin D.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a vitamina D (vit D) não é mais considerada apenas um hormônio essencial ao metabolismo ósseo, cuja deficiência promove o aparecimento de raquitismo em crianças e osteopenia, osteoporose e osteomalácia em adultos¹. Demonstrou-se que sua deficiência está associada a várias condições clínicas, como hiperparatireoidismo secundário, diabetes mellitus, aumento do risco cardiovascular e progressão mais rápida da doença renal crônica (DRC)².

Na prática clínica, níveis séricos de 25(OH)D são usados para definir a deficiência de vit D¹. De acordo com KDIGO², a deficiência de vitamina D foi definida como nível de 25(OH)D <20 ng/mL. Corroborando a definição do KDIGO, Bouillon et al.³ em uma análise crítica de medicamentos baseados em evidências sobre o status ideal de vitamina D, confirmam o ponto de corte de 20 ng/mL, e concluíram que níveis séricos de 25(OH)D acima de 20 ng/mL são suficientes para normalizar a homeostase do cálcio e dos ossos, como medido por parâmetros substitutos, como 1,25(OH)2D, PTHi, absorção de cálcio ou massa óssea.

A prevalência de deficiência de vit D é muito alta na população em geral, e em pacientes com DRC. Além disso, os pacientes com DRC apresentam níveis séricos reduzidos da forma mais ativa de vit D, 1,25(OH)2D. Essas deficiências podem estar associadas à alta mortalidade cardiovascular em comparação com a população em geral⁴. Obviamente, a alta mortalidade cardiovascular é multifatorial, incluindo fatores de risco cardiovasculares tradicionais (CV), bem como fatores de risco não tradicionais e relacionados à uremia, como inflamação sistêmica e aumento do estresse oxidativo (EO) e metabolismo mineral ósseo alterado. Evidências recentes sugerem que a deficiência de vit D pode contribuir para inflamação sistêmica e aumento do EO em pessoas saudáveis e pacientes com insuficiência cardíaca congestiva⁵.

Em certas condições patológicas, incluindo diabetes mellitus, a superprodução de espécies reativas de oxigênio (ERO) nos próprios rins tem sido implicada em inflamação renal, desarranjo da membrana basal glomerular e alteração na função tubular, possivelmente contribuindo para a progressão da DRC⁶.

O fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF23) é um regulador-chave do metabolismo de fosfato e

vitamina D, e é um preditor conhecido de doença metabólica óssea na DRC. As ações do FGF23 incluem a inibição da síntese de 1,25(OH)2D e o aumento do fósforo na urina. Portanto, concentrações séricas excessivas de FGF23 podem interferir na mineralização óssea, diminuindo a disponibilidade de substratos de cálcio e fosfato⁷. De acordo com Richter et al.⁸, FGF23 e suas reduções do co-receptor Klotho foram associadas à disfunção endotelial em humanos, mas experimentos *in vitro* foram realizados para avaliar os efeitos do FGF23 em relação ao co-receptor Klotho na síntese de óxido nítrico (ON) e formação de ERO via ativação da NADPH oxidase 2. Além disso, a degradação de ERO via superóxido dismutase 2 (SOD2) e catalase (CAT) é estimulada pelo FGF23. Os autores concluem que o excesso de FGF23 pode promover principalmente o estresse oxidativo e, portanto, a disfunção endotelial.

Sabe-se que pacientes com DRC apresentam um aumento significativo do EO e concentrações plasmáticas reduzidas de 25-di-hidroxitamina D e 1,25-di-hidroxitamina D em graus variados⁹. Com base nesses estudos, investigamos uma possível associação entre deficiência de 25 (OH) D e alguns fatores inflamatórios (interleucina 6 [IL-6], leptina, adiponectina, FGF-23 e isoprostano) e estresse oxidativo (parâmetro antioxidante radical total [TRAP], dose de hidroxiperoxido de lipídeo [CL-LOOHs], concentração sérica de metabólitos de óxido nítrico [NOx] e biomarcadores de produtos avançados de proteínas de oxidação [AOPP]) em pacientes com DRC pré-diálise.

MATERIAIS E MÉTODOS

PROTOCOLO DO ESTUDO

Estudo transversal, realizado nas clínicas de DRC da Universidade Estadual de Londrina e do Instituto Kidney de Londrina, no período de outubro de 2010 a fevereiro de 2011. Os critérios de inclusão foram: idade maior que 18 anos e DRC estágios 3 a 5, de acordo com a National Kidney Foundation¹⁰; todos os pacientes incluídos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para o estudo. Os critérios de exclusão foram: idade inferior a 18 anos, pacientes submetidos a transplante renal, histórico de doença de má absorção intestinal, cirurgia de revascularização do miocárdio ou ressecção intestinal, presença de cirrose hepática, doença infecciosa ou malignidade ativa, perda inexplicada de

mais de 5% do peso corporal nos últimos seis meses, uso de esteroides por via oral ou por inalação, uso de anticonvulsivantes ou suplementação de vit D. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade de Londrina (086-10 - 07/08/2010), CAAE: 0083.0.268.000-10.

Amostras de sangue (aproximadamente 40 mL) foram obtidas por punção venosa em tubos de vácuo (Vacutainer®, Franklin Lakes, NJ EUA) após 12 horas de jejum e foram centrifugadas por 30 minutos a 3000 rpm (2100 g) a 20° C para obter soro e plasma e congelados a -80 °C.

Deficiência de Vit D foi definida como níveis séricos de 25 (OH) vitamina D (calcidiol ou 25(OH) D) <20 ng/mL. Duzentos e dezesseis pacientes preencheram os critérios de inclusão e 206 foram incluídos no estudo. Entrevistas estruturadas seguidas de exames clínicos foram usadas para coletar dados relevantes para os objetivos do estudo, como gênero, idade, raça/cor (autodefinição), tabagismo, presença de hipertensão, diabetes e medicamentos utilizados.

Uma balança digital (Filizola) e uma fita métrica foram usadas para medir peso (kg) e altura (m), respectivamente. O índice de massa corporal (IMC: peso/altura²) foi classificado de acordo com a Organização Mundial de Saúde¹¹. A circunferência da cintura foi mensurada com uma fita métrica no nível do umbigo com pacientes vestindo roupas leves, em pé, com os braços nas laterais e ao final da expiração, e os resultados foram arredondados ao centímetro mais próximo.

EXAMES LABORATORIAIS

Exames laboratoriais de 25 (OH) D e 1,25 (OH) 2D, IL-6, leptina, adiponectina, FGF-23, isoprostano, TRAP, CL-LOOHs, NOx e AOPP foram adicionados aos exames de rotina, incluindo creatinina, albumina, cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, hormônio intacto da paratireóide (iPTH), glicose, hemoglobina, ácido úrico, colesterol total, LDL, HDL e triglicérides. Os Exames de rotina foram realizados logo após a coleta de sangue, enquanto as amostras para os exames de estresse oxidativo foram centrifugadas a 3000 rpm (2100 g) por 15 minutos (CELM®, Barueri, SP, Brasil), e o soro obtido foi armazenado em freezer em - 80 °C (70 Indrel® R Londrina, Paraná, Brasil) até o uso. Para determinar a razão urinária relativa proteína/creatinina (mg de proteína dividida por g creatinina), foram utilizadas amostras isoladas de

urina. Os coeficientes de variabilidade entre ensaios para todas as análises foram inferiores a 10%.

Os níveis de vit D foram analisados a partir de amostras de soro, onde o 25(OH)D foi medido por quimiluminescência (QL) e 1,25(OH)2D por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

DEFESA ANTIOXIDANTE E MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO

O TRAP foi avaliado por luminescência em uma adaptação técnica descrita por Repetto et al.¹² A dose de hidroxiperoxido lipídico (CL-LOOHs) foi medida por uma técnica adaptada descrita por Flecha et al.¹³ A estimativa dos metabólitos do óxido nítrico foi avaliada pela determinação da concentração sérica de NOx, por uma adaptação da técnica descrita por Navarro-Gonzalves et al.¹⁴ Para quantificar a AOPP, usamos uma técnica descrita por Witko-Sarsat et al.¹⁵. Para quantificar a interleucina 6 (IL-6), usamos kits ELISA de leptina, adiponectina, FGF-23 e isoprostano (eBioscience, SPI-Bio, SPI-Bio, Cayman Millipore e Eagle Biosciences, respectivamente).

RESULTADOS

DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS

A Tabela 1 mostra os dados sociodemográficos e clínicos basais dos indivíduos em nosso estudo. Não houve diferenças significativas na razão de gênero, idade, etnia, IMC, circunferência da cintura e número de indivíduos com diabetes, hipertensão, obesidade, síndrome metabólica (SM), eventos cardiovasculares e uso de inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECA), bloqueadores dos receptores da angiotensina (BRA) ou estatinas entre indivíduos com níveis mais baixos versus aqueles com níveis normais de vit D. Houve associação significativa entre os grupos vit D e estágios da DRC.

ASSOCIAÇÕES ENTRE VITAMINA D E VARIÁVEIS METABÓLICAS

A Tabela 2 mostra as diferenças nas variáveis metabólicas entre indivíduos com baixos níveis de vit D versus aqueles com níveis normais de vit D. A tabela também mostra diminuição de 25(OH)D (F = 176,47, df = 1/202, p = <0,001), albumina (F = 5,81, df = 1/201, p = 0,017), TFGe (F = 6,83, df = 1/202, p = 0,010) nos indivíduos com níveis de vit D inferiores aos normais. Além disso, a concentração de fosfatase alcalina (F = 5,29, df = 1/201, p = 0,022), iPTH

TABELA 1. DADOS CLÍNICOS E SOCIODEMOGRÁFICOS DE PACIENTES COM DRC, SEGUNDO SEUS NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA D.

	Vit D \geq 20A (n=149)	Vit D<20B (n=55)	F/X ²	df	p
Gênero, n, (%)					
Masculino 68 (33,3%)	44	24	3,6	1	0,058
Feminino 136 (67,7%)	105	31			
Idade (anos)	66,3 (13,1)	66,5 (14,3)	0,01	1/202	0,926
Etnia - n (%)					
Caucasiano - 179 (87,7%)	131	48	0,02	1	0,901
N/ao-Caucasiano - 25 (12,3%)	18	7			
CKD Estágio n° (%)					
3 (60<TFG >30) - 146 (71,6%)	114 ^B	32	6,85	2	0,033
4 (31< TFG >15) - 49 (24%)	29	20 ^A			
5 (TFG <16) - 9 (4,4%)	6	3			
Diabéticos - n (%)					
Não 127 (62,3%)	97	30	2,07	1	0,616
Sim 76 (37,3%)	51	25			
Hipertensivos - n (%)					
Não - 12 (5,9%)	8	4	0,25	1	0,162
Sim - 191 (93,6%)	140	51			
Obesidade - n (%)					
Não 138 (68,4%)	105	33	1,95	1	0,162
Sim 63 (31,3%)	42	21			
Síndrome Metabólica - n (%)					
Não 61 (29,9%)	47	14	0,81	1	0,369
Sim 141 (69,1%)	100	41			
Evento cardiovascular - n (%)					
Não 121 (59,3%)	89	32	0,04	1	0,842
Sim 83 (40,7%)	60	23			
Uso de medicamentos:					
IECA - n (%)					
Não	108	43	0,68	1	0,41
Sim	41	12			
BRA - n (%)					
Não	132	48	0,07	1	0,795
Sim	17	7			
Estatina - n (%)					
Não	66	18	2,22	1	0,136
Sim	83	37			
IMC (kg/m ² , mediana)	28,1 (5,3)	28,9 (5,3)	0,88	1/136	0,348
Circunferência do quadril	103,9 (11,7)	105,5 (10,1)	0,78	1/194	0,378

Valor de p significativo entre Vit D \geq 20 ng/mL (A) e Vit D<20 ng/mL (B). DRC: doença renal crônica; TFGe: taxa estimada de filtração glomerular; iECA: inibidores da enzima conversora de angiotensina; BRA: bloqueadores do receptor de angiotensina; IMC: Índice de Massa Corporal.

(F = 10,99, df = 1/201, p = 0,001), colesterol total (F = 7,81, df = 1 / 202, p = 0,006), LDL (F = 4,02, df = 1/196, p = 0,046), HDL (F = 4,02, df = 1/196,

p = 0,046), proteína urinária/creatinina (F = 16,02, df = 1/195, p = 0,001) foram maiores nos pacientes com DRC e com deficiência de vit D.

Portanto, realizamos uma análise multivariada (Tabela 3) com os 16 marcadores metabólicos como variável dependente e 25(OH)D (F = 3, df = 16/159, p <0,001) como variáveis explicativas. Uma vez que essa análise multivariada GLM mostrou um efeito significativo das variáveis explicativas, exploramos ainda mais as associações usando análises entre indivíduos. A análise univariada mostrou que a TFGe (F = 6,29, df = 1/174, p = 0,013) e a albumina Ln (F = 13,53, df = 1/174, p <0,001) estiveram positivamente associadas a 25(OH)D e a variáveis uréia (F = 5,83, df = 1/174, p = 0,017), Ln creatinina (F = 4,52, df =

1/174, p = 0,035), razão proteína/creatina urinária (F = 24,75, df = 1 / 174, p <0,001) e colesterol total (F = 4,39, df = 1/174, p = 0,038) estiveram negativamente associados com 25(OH)D.

EFEITOS DE VARIÁVEIS NÃO RELACIONADAS E CONFUNDENTES

Também controlamos possíveis efeitos de outras variáveis intervenientes putativas (listadas na Tabela 1). Assim, após controlar os efeitos da etnia (F = 3,68, df = 16/158, p <0,001; a etnia teve efeitos significativos na TFGe e no LDL-colesterol), os efeitos dos grupos

TABELA 2. DADOS LABORATORIAIS E DA TFGE DOS PARTICIPANTES SEGUNDO OS NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA D.

	Vit D≥20 ng/ mL (n=149)	Vit D<20 ng/ mL (n=55)	F	df	p
25(OH)D (ng/mL)	35,1 (11,1)	14,6 (4,0)	176,47	1/202	<0,001
1.25(OH) ₂ D (pg/mL)*	29,0 (9,0)	86,2 (6,6)	3,32	1/202	0,07
FGF-23* (pg/mL)	28,6 (31,7)	39,2 (70,0)	0,13	1/200	0,718
Cálcio (mg/dL)*	8,8 (3,3)	8,3 (0,7)	2,53	1/201	0,114
Fósforo (mg/dL)	3,6 (0,7)	3,8 (0,71)	3,2	1/202	0,075
Fosfatase alcalina (U/L)*	97,2 (34,3)	111,4 (44,0)	5,29	1/201	0,022
iPTH (pg/mL)*	139,3 (104,2)	188,3 (103,9)	10,99	1/201	0,001
Albumina (g/dL)*	4,35 (3,19)	3,88 (0,61)	5,81	1/201	0,017
Glicose (mg/dL)	110,6 (31,1)	112,7 (47,1)	0,05	1/201	0,818
Ácido úrico (mg/dL)	7,29 (3,46)	6,94 (2,00)	3,69	1/201	0,818
Colesterol total (mg/dL)	173,2 (43,5)	192,6 (44,4)	7,81	1/202	0,006
LDL (mg/dL)	102,2 (34,3)	114,0 (42,0)	4,02	1/196	0,046
HDL (mg/dL)	43,0 (11,0)	45,6 (12,9)	4,02	1/196	0,046
Triglicérides (mg/dL)*	149,3 (101,4)	152,2 (83,3)	0,11	1/202	0,746
Creatinina (mg/dL)	1,95 (0,80)	2,16 (0,92)	3,07	1/202	0,081
TFGe (mL/min/1.73 m ²)	37,2 (12,3)	32,3 (11,1)	6,83	1/202	0,01
Razão Proteína/Creatinina urinárias (mg/g)*	0,51 (0,81)	1,55 (2,60)	16,02	1/195	0,001

Todos os resultados estão mostrados como média (±DP). *As variáveis são processadas na transformação Ln. Utilizamos análises de variância para comparar os grupos. FGF-23: Fator de Crescimento de Fibroblastos; iPTH: hormônio intacto a paratireóide, LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; TFGe: Taxa estimada de filtração glomerular.

TABELA 3. EFEITOS DAS CONCENTRAÇÕES DE Vit D NAS 16 VARIÁVEIS METABÓLICAS LISTADAS NA TABELA 2.

Análises	Variáveis dependentes	Variáveis exploratórias	F	df	p
Multivariada	Todas as 16 variáveis	Vit 25OH(+)*	3	16/159	<0,001
	TFGe	Vit 25OH (+)	6,29	1/174	0,013
	Uréia	Vit 25OH (-)	5,83	1/174	0,017
Univariada	Creatinina Ln	Vit 25OH (-)	4,52	1/174	0,035
	Albumina Ln	Vit 25OH (+)	13,53	1/174	<0,001
	Razão prot/creat urinárias	Vit 25OH (-)	24,75	1/174	<0,001
	Colesterol total	Vit 25OH (-)	4,39	1/174	0,038

*Efeitos do estágio, gênero, idade e IMC sobre as variáveis dependentes estão demonstrados na Tabela 2. Vit 25OH (+): níveis normais de vit D; Vit 25OH (-): deficiência de vit D. As análises foram feitas após controlarmos para o efeito do diabetes (F=4,82; df=16/158; p<0.001).

vit D nos 16 marcadores permaneceram significativos ($F = 3,04$, $df = 16/158$, $p < 0,001$). Após o controle dos efeitos da SM ($F = 6,26$, $df = 16/157$, $p < 0,001$), foram encontrados efeitos significativos da deficiência de vit D na concentração de fósforo, albumina, HDL-colesterol e triglicerídeos. ($F = 2,99$, $df = 16/157$, $p < 0,001$). Na análise univariada, mesmo após o controle dos efeitos do diabetes, foram encontrados efeitos significativos na relação uréia, fósforo, glicose e proteína urinária / creatinina ($F = 3,03$, $df = 16/158$, $p < 0,001$). Nas análises multivariadas de GLM, os níveis séricos de vit D influenciaram os 16 marcadores estudados ($F = 3,00$, $df = 16/159$, $p = < 0,001$)

ASSOCIAÇÕES ENTRE VIT D E AS VARIÁVEIS EO E EN

A Tabela 4 apresenta as variáveis inflamação, estresse oxidativo e nitrosativo (EO e EN) em indivíduos com valores de vit D baixos versus normais. Esta tabela mostra os resultados de análises ANOVA para as 10 variáveis, embora seja mais apropriado avaliar essas diferenças usando a Tabela 5, após o ajuste para variáveis confundentes. A Tabela 5 mostra que, usando a análise multivariada de GLM, não houve efeito significativo dos grupos vit D nos 10 marcadores EO e EN, enquanto o estadiamento da TFGe, gênero, idade e IMC tiveram efeitos

TABELA 4. MEDIDAS DAS VARIÁVEIS INFLAMATÓRIAS E ESTRESSE OXIDATIVO NOS PARTICIPANTES SEGUNDO SUAS CONCENTRAÇÕES DE VITAMINA D.

Variáveis	≥20 ng/mL	<20 ng/mL	F	df	p
Leptina (ng/mL)	38,0 (39,6)	41,4 (35,9)	1,48	1/202	0,225
Adiponectina (ng/mL)	21,1 (10,9)	23,1 (11,2)	1,50	1/202	0,230
hsCRP (mg/dL)	6,9 (18,1)	12,6 (50,9)	2,46	1/196	0,118
NOx (μM/L)	8,59 (5,71)	8,36 (4,24)	0,74	1/202	0,785
IL-6 (pg/mL)	8,3 (22,4)	5,5 (6,2)	0,007	1/201	0,933
F2- Isoprostano (pg/mL)	160,4 (258,7)	193,0 (379,8)	2,14	1/201	0,145
AOPP (μmol/L)	103,4 (31,7)	111,7 (41,3)	1,80	1/202	0,181
Hidroxiperoxido (cpm)	42727,5 (27858,6)	42685,4 (31295,3)	0,30	1/202	0,863
TRAP/UA (μmol trolox/mg/dL)	132,7 (30,7)	139,4 (38,9)	1,62	1/201	0,204
Homocisteína (μmol/L)	24,0 (8,4)	24,2 (8,4)	0,02	1/198	0,877

CRP: proteína C-reativa; IL-6: Interleucina-6; AOPP: produtos avançados de oxidação protéica; TRAP/UI: parâmetro antioxidante radical total/ácido úrico.

TABELA 5. RESULTADOS DA ANÁLISE MULTIVARIADA GLM COM OS 10 BIOMARCADORES DE INFLAMAÇÃO/ESTRESSE OXIDATIVO (EO E EN) ENQUANTO VARIÁVEIS DEPENDENTES E GRUPOS DE VITAMINA D, ESTÁGIO, GÊNERO, IDADE, E ÍNDICE DE MASSA CORPORAL (IMC) ENQUANTO VARIÁVEIS EXPLANATÓRIAS.

Análises	Variáveis dependentes	Variáveis explanatórias	F	df	p
Multivariada	Todas as 10 variáveis EO e EN	Grupos de Vit D (baixo v.s. normal)	0,62	10/169	0,792
		Estágios (3/4/5)	2,25	20/340	0,002
		Gênero	12,31	10/169	<0,001
		Idade	1,89	10/169	0,049
		IMC	9,1	10/169	<0,001
Univariada	Homocisteína	Estágio (4+5>3)	11	2/178	<0,001
		Gênero (M>F)	8,73	1/178	0,004
	CRP	Idade (+)	5,7	1/178	0,018
		Estágio (4+5>3)	4,78	2/178	0,009
	NOx	IMC (+)	11,59	1/178	0,001
		Estágio (4+5>3)	6,3	1/178	0,002
	Leptina	Gênero (F>M)	67,39	1/178	<0,001
		IMC (+)	79,49	1/178	<0,001
	Adiponectina	Gênero (F>M)	22,3	1/178	<0,001

CRP: proteína C-reativa; NOx: óxido nítrico sintase.

significativos. A homocisteína foi melhor predita pelo estadiamento da TFGe, gênero e idade, hsCRP pelo estadiamento e IMC, NOx pelo estadiamento, leptina gênero sexo e IMC e adiponectina pelo gênero.

DISCUSSÃO

Nossos achados complementam observações sugerindo que os níveis de 25(OH)D estão associados positivamente aos níveis de TFGe e fosfatase alcalina, e negativamente à uréia, creatinina, razão urinária proteína/creatinina e colesterol total. Sabe-se que a maioria dos pacientes com DRC apresenta restrição de ingestão proteica e calórica, o que contribuiu para os níveis relativamente baixos de vit D observados nessa população. Além disso, muitos pacientes com DRC têm atividades físicas externas limitadas, com exposição reduzida à luz solar, e ocorre maior perda de metabólitos urinários de vit D em pacientes com DRC com proteinúria evidente, fatores que também contribuem para a deficiência de vit D.

Um estudo brasileiro investigou mais de 1.800 pacientes com DRC em vários estágios da doença, com deficiência de 25(OH)D (<22,0 pg/mL) em mais de 60% daqueles com TFGe <30 mL/min/1,73m²¹⁶.

A prevalência de deficiência de 25(OH)D é comum na DRC e está implicada no aumento progressivo de PTH, que é observado com a função renal em declínio e leva ao hiperparatireoidismo secundário, doença mineral óssea e aumento do risco cardiovascular¹⁷.

Albuminúria, aumento da proporção de proteína/creatinina na urina e baixo nível de 25(OH)D são achados típicos em pacientes com DRC¹⁸. Segundo Oh et al.¹⁹, os níveis de LDL e colesterol total foram maiores em pacientes com DRC com deficiência de vit D do que no grupo controle.

Nossos dados não corroboram os achados de Milovanova et al.²⁰ estudos que mostraram menor FGF-23 em pacientes com DRC 3b – 4.

O tecido adiposo tem sido reconhecido como um tecido endócrino, liberando vários fatores envolvidos nas funções vasculares, metabolismo energético ou inflamação. Entre elas estão interleucinas como IL-6, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), leptina e adiponectina. Em humanos, a hiperleptinemia demonstrou estar associada à progressão da DRC²¹. Os níveis plasmáticos de adiponectina são mais altos em pacientes com DRC e se correlacionam positivamente com o estágio da DRC e a albuminúria²².

Foi demonstrado que as concentrações de proteína C reativa (PCR) parecem estar associadas a estágios

mais avançados da DRC e leptina e adiponectina ao IMC e ao gênero. Numerosos estudos relataram uma associação inversa entre o nível de comprometimento renal e diferentes mediadores e biomarcadores de inflamação, incluindo PCR, IL-6, TNF- α e fibrinogênio, apontando para uma alta prevalência de aumento da inflamação na DRC²³.

O aumento da adiponectina, leptina e IL-6 e a desregulação de 1,25(OH)2D está associado ao aumento dos níveis de FGF23, e a deficiência de vit D está associada à baixa leptina. Notavelmente, os níveis de adiponectina são elevados pelo grau de insuficiência renal²⁴.

Rutkowski et al.²⁵ descreveram que a adiponectina afeta principalmente a expressão renal de α -kloto e a liberação óssea de FGF23; altos níveis de adiponectina suprimem a secreção renal de α -kloto, reduzem os níveis plasmáticos de FGF23 e causam perda renal de cálcio.

Um estudo de 2017 relatou níveis mais baixos de adiponectina no soro de pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e DRC estágio 1 do que em pacientes com DM2 sem patologia renal, com níveis progressivamente mais altos, coincidindo com a deterioração da função renal²⁶.

Segundo Agarwal et al.²⁷, o EO tem um papel importante na DRC; os marcadores biológicos do EO estavam aumentados em culturas celulares, modelos animais e pacientes com doença renal terminal em hemodiálise.

As células renais contêm mitocôndrias abundantes e, portanto, sua disfunção tem papel fundamental na progressão da insuficiência renal. Muitos relatos apontam para um papel da mitocôndria no aumento do EO na doença renal^{28,29}. A deposição de cristais de ácido úrico nas células dos túbulos proximais também está associada ao aumento do EO e à ativação do sistema inflamatório³⁰.

Segundo Dounousi et al.³¹, os níveis de marcadores diferentes, incluindo isoprostanos F2 plasmáticos, produtos de proteínas de oxidação avançada e malondialdeído, aumentam em pacientes com graus variáveis de função renal, incluindo pacientes com insuficiência renal em estágio terminal.

A principal descoberta deste estudo foi que não foi encontrada associação entre deficiência de vitamina D e aumento do estado redox em pacientes com DRC. Os biomarcadores OS (NOx) não foram associados à deficiência de vit D, mas os níveis aumentados de NOx foram significativamente maiores nos estágios

mais avançados da DRC. Embora muitos estudos tenham demonstrado que a deficiência de vit D está associada à inflamação e ao EO em pacientes com DRC, estudos recentes falharam em mostrar essa associação^{32,33}.

Nossos dados mostraram um aumento de NOx nos estágios 4 e 5 dos pacientes com DRC. Sabe-se que o NO é sintetizado em vários tipos celulares, sendo o endotélio vascular a principal fonte de síntese do NO. A medida dos níveis séricos de NOx estima a geração basal de NO por células endoteliais. Portanto, pode-se especular que o aumento de NOx sérico em pessoas com DRC pode ser devido à inibição endotelial da NOS (eNOS) e à superexpressão induzível da NOS (iNOS)³⁴. Na maioria dos tipos de células, incluindo adipócitos, a iNOS é induzida por sinais inflamatórios quando a hipóxia favorece a necrose celular, que é um processo que recruta macrófagos e outras células fagocíticas, e cria um ambiente favorável à perpetuação da inflamação no tecido adiposo³⁵. Além disso, quando o ânion superóxido e o NO são produzidos simultaneamente em estreita proximidade, uma reação leva à formação de peroxinitrito (ONOO-) e, posteriormente, a radicais hidroxila, amplificando o processo oxidativo nas biomoléculas³⁶.

O desacoplamento da eNOS e a produção reduzida de NO resultam em relaxamento vascular prejudicado das artérias de resistência renal, diapedese de leucócitos e monócitos polimorfonucleares e condições pró-coagulantes e pró-agregadoras locais. A vasoconstrição local é ainda mais exagerada pela perda da integridade endotelial. Esses eventos vasculares são seguidos por mecanismos tubulares que incluem não apenas a indução de iNOS e aumento da produção de intermediários reativos de oxigênio nas células epiteliais renais, mas também a geração de ONOO- pelas células polimorfonucleares e macrófagos infiltrativos³⁷.

Alguns dos efeitos deletérios induzidos pela hiperuricemia são semelhantes aos associados ao aumento da OS, como biodisponibilidade reduzida de NO e disfunção endotelial, hipertrofia vascular e inflamação³⁸. No entanto, nossos achados não revelaram diferenças entre os grupos com e sem deficiência de vit D. As influências inibitórias incluem aumento nos inibidores endógenos de NOS, como dimetilarginina assimétrica (ADMA) e diminuição da atividade das enzimas NOS por

muitas razões, incluindo a redução nos eventos de abundância de proteínas que reduzem a atividade enzimática inerente e a disponibilidade reduzida de cofatores essenciais. Além disso, a deposição de produtos finais glicosilados avançados ocorre na doença renal avançada, o que diminui o acesso do NO ao seu tecido alvo e contribui para a deficiência de NO^{39,40}.

Nosso estudo tem limitações, como o pequeno número de doentes com DRC no estágio 5, limitando nossa interpretação sobre a relação da vit D e EO nesse grupo. Além disso, este foi um estudo transversal de um único centro, não permitindo concluir sobre a causalidade entre a deficiência de vit D e o estado redox. Mesmo com essas limitações, acreditamos que nossos resultados possam ser confiáveis, pois incluímos um número relativamente grande de pacientes e usamos um amplo painel de biomarcadores de EO.

CONCLUSÃO

Nossos achados sugeriram que a deficiência de vit D pode não desempenhar um papel muito importante no aumento do estado de EO observado em pacientes com DRC em pré-diálise, o que é claramente multifatorial. Devido à formatação do estudo transversal, não foi possível excluir que os suplementos de vit D pudessem melhorar o EO em pacientes semelhantes, questão que só poderia ser respondida por um ensaio clínico com poder estatístico adequado.

CONTRIBUIÇÃO DO AUTOR

Andressa Keiko Matsumoto, Michael Maes, Ana Paula Michelin, Abel Esteves Soares, Laura de Oliveira Semeão, Paula Godeny, Danielle Venturini, Décio Sabbatini Barbosa, Vinicius Daher Alvares Delfino contribuíram substancialmente para a concepção ou desenho do estudo; coleta, análise ou interpretação de dados; redação ou revisão crítica do manuscrito; e aprovação final da versão a ser publicada.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não ter conflito de interesses relacionado à publicação deste manuscrito.

REFERÊNCIAS

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007 Jul;357(3):266-81.
2. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). KDIGO clinical practice guidelines for the diagnosis, evaluation, prevention and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl.* 2009 Aug;(113):S1-S130.

3. Bouillon R, Van Schoor NM, Gielen E, Boonen S, Mathieu C, Vanderschueren D, et al. Optimal vitamin D status: a critical analysis on the basis of evidence-based medicine. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Aug;98(8):E1283-304.
4. Rucker D, Tonelli M. Cardiovascular risk and management in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2009 May;5(5):287-96.
5. Tarcin O, Yavuz DG, Ozben B, Telli A, Ogunc AV, Yuksel M, et al. Effect of vitamin D deficiency and replacement on endothelial function in asymptomatic subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Oct;94(10):4023-30.
6. Bauld L, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol.* 1986 Nov;251(5 Pt 2):F765-76.
7. Zaheer S, Boer IH, Allison M, Brown JM, Psaty BM, Robinson-Cohen C, et al. Fibroblast growth factor 23, mineral metabolism, and adiposity in normal kidney function. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017 Apr;102(4):1387-95.
8. Richter B, Haller J, Haffner D, Leifheit-Nestler M. Klotho modulates FGF23-mediated NO synthesis and oxidative stress in human coronary artery endothelial cells. *Pflügers Arch.* 2016 Sep;468(9):1621-35.
9. National Kidney Foundation (NKF). K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation; classification; and stratification. *Am J Kidney Dis.* 2002 Feb;39(2 Suppl 1):S1-266.
10. Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Ann Intern Med.* 2003 Jul;139(2):137-47.
11. World Health Organization (WHO). Physical status: the use and interpretation of anthropometry: report of a WHO Expert Committee. Technical report series no. 854. Geneva: WHO; 1995.
12. Repetto M, Reides C, Gomez CML, Costa M, Griemberg G, Llesuy S. Oxidative stress in blood of HIV infected patients. *Clin Chim Acta.* 1996 Nov;255(2):107-17.
13. Flecha BG, Llesuy S, Boveris A. Hydroperoxide-initiated chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver, and muscle. *Free Radic Biol Med.* 1991;10(2):93-100.
14. Navarro-González JA, García-Benayas C, Arenas J. Semiautomated measurement of nitrate in biological fluids. *Clin Chem.* 1998 Mar;44(3):679-81.
15. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen KT, Capeillere-Blandin C, Nguyen AT, Canteloup S, et al. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. *J Immunol.* 1998 Sep;161(5):2524-32.
16. Inda Filho AJ, Melamed ML. Vitamina D e doença renal. O que nós sabemos e o que nós não sabemos. *J Bras Nefrol.* 2013;35(4):323-31.
17. Yataru S, Youngberg B, Zdunek S. Vitamin D levels in subjects with or without chronic kidney disease among Veterans with diabetes in North East United States. *World J Diabetes.* 2017 Jul;8(7):346-50.
18. Levin A, Bakris GL, Molitch M, Smulders M, Tian J, Williams LA, 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.* 2007 Jan;71(1):31-8.
19. Oh TR, Kim CS, Bae EH, Ma SK, Han SH, Sung SA, et al. Association between vitamin D deficiency and health-related quality of life in patients with chronic kidney disease from the KNOW-CKD study. *PLoS ONE.* 2017 Apr;12(4):e0174282.
20. Milovanova L, Fomin V, Moiseev S, Taranova M, Milovanov Y, Lysenko Kozlovskaya L, et al. Effect of essential amino acid ketoanalogues and protein restriction diet on morphogenetic proteins (FGF-23 and Klotho) in 3b-4 stages chronic kidney disease patients: a randomized pilot study. *Clin Exp Nephrol.* 2018 Dec;22(6):1351-9.
21. Lim CC, Teo BW, Tai ES, Lim SC, Chan CM, Sethi S, et al. Elevated serum leptin, adiponectin and leptin to adiponectin ratio is associated with chronic kidney disease in Asian adults. *PLoS ONE.* 2015 Mar;10(3):e0122009.
22. Kim HY, Bae EH, Ma SK, Chae DW, Choi KH, Kim YS, et al. Association of serum adiponectin level with albuminuria in chronic kidney disease patients. *Clin Exp Nephrol.* 2016 Jun;20(3):443-9.
23. Stenvinkel P. New insights on inflammation in chronic kidney disease-genetic and non-genetic factors. *Nephrol Ther.* 2006 Jul;2(3):111-9.
24. Wagner CA, Silva PHI, Rubio-Aliaga I. And the fat lady sings about phosphate and calcium. *Kidney Int.* 2017 Feb;91(2):270-2.
25. Rutkowski JM, Pastor J, Sun K, Park SK, Bobulescu IA, Chen CT, et al. Adiponectin alters renal calcium and phosphate excretion through regulation of klotho expression. *Kidney Int.* 2017 Feb;91(2):324-37.
26. Georgoulidou A, Roumeliotis A, Roumeliotis S, Thodis I, Manolopoulos V, Malindretos P, et al. Adiponectin plasma levels and albuminuria in patients with type 2 diabetes and different stages of diabetic kidney disease. *J Nephrol Ther.* 2017;7:2-7.
27. Agarwal R, Vasavada N, Sachs NG, Chase S. Oxidative stress and renal injury with intravenous iron in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2004 Jun;65(6):2279-89.
28. Liu M, Sun Y, Xu M, Yu X, Zhang Y, Huang S, et al. Role of Mitochondrial Oxidative Stress in Modulating the Expressions of Aquaporins in Obstructive Kidney Disease. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2018 Apr;314(4):F658-66.
29. Scholze A, Jankowski J, Pedraza-Chaverri J, Evenepoel P. Oxidative stress in chronic kidney disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2016 Jul;2016:8375186.
30. Isaka A, Takabatake Y, Takahashi A, Saitoh T, Yoshimori T. Hyperuricemia-induced inflammasome and kidney diseases. *Nephrol Dial Transplant.* 2016 Jun;31(6):890-6.
31. Dounousi E, Papavasiliou E, Makedou A, Ioannou K, Katopodis KP, Tselepis A, et al. Oxidative stress is progressively enhanced with advancing stages of CKD. *Am J Kidney Dis.* 2006 Nov;48(5):752-60.
32. Torino C, Pizzini P, Cutrupi S, Tripepi R, Vilasi A, Tripepi G, et al. Effect of vitamin D receptor activation on the AGE/RAGE system and myeloperoxidase in chronic kidney disease patients. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:2801324.
33. Bulut G, Basbugan Y, Ari E, Erten R, Bektas H, Alp HH, et al. Paricalcitol may improve oxidative DNA damage on experimental amikacin-induced nephrotoxicity model. *Ren Fail.* 2016 Jun;38(5):751-8.
34. Ghasemi A, Zahediasl S, Azizi F. Nitric oxide and clustering of metabolic syndrome components in pediatrics. *Eur J Epidemiol.* 2010;25(1):45-53.
35. Grattagliano I, Palmieri VO, Portincasa P, Moschetta A, Palasciano G. Oxidative stress-induced risk factors associated with the metabolic syndrome: a unifying hypothesis. *J Nutr Biochem.* 2008 Aug;19(8):491-504.
36. Codoñer-Franch P, Valls-Bellés V, Arilla-Codoñer A, Alonso-Iglesias E. Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. *Transl Res.* 2011 Dec;158(6):369-84.
37. Goligorsky MS, Brodsky SV, Noiri E. Nitric oxide in acute renal failure: NOS versus NOS. *Kidney Int.* 2002 Mar;61(3):855-61.
38. Johnson RJ, Segal MS, Srinivas T, Ejaz A, Mu W, Roncal C, et al. Essential hypertension, progressive renal disease, and uric acid: a pathogenetic link?. *J Am Soc Nephrol.* 2005 Jul;16(7):1909-19.
39. Himmelfarb J. Linking oxidative stress; and inflammation in kidney disease: which is the chicken and which is the egg?. *Semin Dial.* 2004 Nov/Dec;17(6):449-54.
40. Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, McMonagle E, Morrow J, Izkizler TA, et al. Increased prevalence of oxidant stress; and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2004 Mar;65(3):1009-16.