

Acúmulo dos produtos finais da glicação avançada (AGEs) na pele: relações com o distúrbio mineral e ósseo na doença renal crônica

Advanced glycation end-products (AGEs) accumulation in skin: relations with chronic kidney disease-mineral and bone disorder

Autores

Renata de Almeida França¹
André de Barros Albuquerque Esteves¹
Cynthia de Moura Borges¹
Kécia Rosana da Silva Quadros¹
Luiz Carlos Nogueira Falcão¹
Jacqueline Costa Teixeira Caramori²
Rodrigo Bueno de Oliveira¹

¹ Universidade Estadual de Campinas.

² Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Data de submissão: 15/12/2016.
Data de aprovação: 3/3/2017.

Correspondência para:

Rodrigo Bueno de Oliveira.
Universidade Estadual de Campinas.
Rua Tessália Vieira de Camargo, nº 126, Campinas, Brazil.
CEP: 13083-887
E-mail: rodrigobueno.hc@gmail.com

DOI: 10.5935/0101-2800.20170042

RESUMO

Introdução: A doença renal crônica (DRC) apresenta elevadas taxas de morbidade e mortalidade, sendo a doença cardiovascular (DCV) e o distúrbio mineral e ósseo da DRC (DMO-DRC) complicações frequentes. As toxinas urêmicas, dentre elas os produtos finais da glicação avançada (AGEs), são fatores de risco cardiovascular não tradicionais e se encontram envolvidas no desenvolvimento do DMO-DRC na DRC. A medida da autofluorescência da pele (sAF) é método não invasivo para quantificação do acúmulo tecidual de AGEs validado em pacientes portadores de DRC. **Objetivos:** O objetivo deste estudo é avaliar as relações entre os AGEs medidos por sAF (AGEs-sAF) e parâmetros de DCV e DMO-DRC em pacientes em hemodiálise (HD). **Métodos:** 20 pacientes em HD (grupo HD) e 24 indivíduos hígidos (grupo controle) foram submetidos à análise bioquímica sérica, medidas antropométricas e de sAF. O grupo HD realizou medida de hormônio intacto da paratireoide (PTH_i), ecocardiograma transtorácico e radiografias de pelve e mãos para pesquisa de calcificação vascular. **Resultados:** Os níveis de AGEs-sAF foram elevados para a idade nos grupos HD e controle, porém mais elevados no grupo HD. Sessão única de HD de alto-fluxo não afetou os níveis de AGEs-sAF. Os níveis teciduais de AGEs não se correlacionaram com massa ventricular, espessura de septo interventricular ou calcificação vascular no grupo HD. Os níveis de AGEs-sAF se correlacionaram negativamente com os níveis séricos de PTH_i. **Conclusão:** Nosso estudo detectou correlação negativa entre os níveis de AGEs-sAF e os níveis séricos de PTH_i, sugerindo que os AGEs estejam envolvidos na fisiopatologia da doença óssea em pacientes em HD. A natureza desta relação e a aplicação clínica deste método não invasivo de avaliação do acúmulo tecidual de AGEs deve ser confirmada e elucidada por estudos futuros.

Palavras-chave: hemodiálise; hormônio intacto da paratireoide; doenças cardiovasculares; doenças ósseas; produtos finais de glicosilação avançada.

ABSTRACT

Introduction: Chronic kidney disease (CKD) is associated with high morbidity and mortality rates, main causes related with cardiovascular disease (CVD) and bone mineral disorder (CKD-BMD). Uremic toxins, as advanced glycation end products (AGEs), are non-traditional cardiovascular risk factor and play a role on development of CKD-BMD in CKD. The measurement of skin autofluorescence (sAF) is a noninvasive method to assess the level of AGEs in tissue, validated in CKD patients. **Objective:** The aim of this study is analyze AGEs measured by sAF levels (AGEs-sAF) and its relations with CVD and BMD parameters in HD patients. **Methods:** Twenty prevalent HD patients (HD group) and healthy subjects (Control group, n = 24), performed biochemical tests and measurements of anthropometric parameters and AGEs-sAF. In addition, HD group performed measurement of intact parathormone (iPTH), transthoracic echocardiogram and radiographies of pelvis and hands for vascular calcification score. **Results:** AGEs-sAF levels are elevated both in HD and control subjects ranged according to the age, although higher at HD than control group. Single high-flux HD session does not affect AGEs-sAF levels. AGEs-sAF levels were not related to ventricular mass, interventricular septum or vascular calcification in HD group. AGEs-sAF levels were negatively associated with serum iPTH levels. **Conclusion:** Our study detected a negative correlation of AGEs-sAF with serum iPTH, suggesting a role of AGEs on the pathophysiology of bone disease in HD prevalent patients. The nature of this relation and the clinical application of this non-invasive methodology for evaluation AGEs deposition must be confirmed and clarified in future studies.

Keywords: hemodialysis units, hospital; parathyroid hormone; cardiovascular diseases; bone diseases; glycosylation end products, advanced.

INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) está associada a altas taxas de morbidade e mortalidade. Os pacientes sob tratamento de hemodiálise (HD) têm uma expectativa de vida cinco vezes menor do que indivíduos saudáveis da mesma idade. As principais causas de morte em pacientes com doença renal em estágio terminal (DRT) estão associadas a doença cardiovascular (DCV) e distúrbio mineral ósseo (DMO-DRC).^{1,2}

Além dos tradicionais fatores de risco cardiovasculares, as toxinas urêmicas são fatores não-tradicionais associados à mortalidade em pacientes com DRC. Os produtos finais de glicação avançada (AGEs) são toxinas urêmicas que estão elevadas na DRC devido ao aumento de sua produção por estresse oxidativo, diminuição da excreção renal e consumo na dieta.³ A medida da autofluorescência da pele (AFp) é um método não invasivo usado para avaliar indiretamente o acúmulo de AGEs neste tecido. Esta metodologia foi validada em estudos, incluindo aqueles com pacientes com DRC, através da comparação entre valores de AGEs-AFp e densidade de AGEs em biópsias de pele processadas por imunohistoquímica para AGEs.³⁻⁵

O acúmulo de AGE em proteínas teciduais parece ser um fator contribuinte na aterosclerose. Alguns estudos revelaram níveis elevados de AGE em pacientes com doença arterial coronariana,⁶ estenoses da artéria carótida⁷ e doença arterial periférica⁸, independentemente de diabetes mellitus (DM) ou doença renal.⁹ Por estas razões, os AGEs foram descritos como preditores de mortalidade cardiovascular.^{3,10}

Outra importante aplicação clínica potencial da avaliação de AGEs através da AFp é investigar suas relações com DMO-DRC. Destaca-se que os AGEs parecem exercer efeitos negativos na qualidade óssea por mecanismos que não são totalmente elucidados, associados à osteoporose e à osteopenia.¹¹ Os AGEs podem reduzir a formação óssea, interferindo na produção de proteínas da matriz e induzindo a apoptose das células-tronco mesenquimais.¹¹ Além disso, os AGEs podem interferir com a diferenciação, proliferação e mineralização dos osteoblastos, ações que foram demonstradas em estudos de cultura celular.^{11,12}

Os AGEs parecem estar envolvidos na patogênese da doença óssea adinâmica em pacientes com DRC, por inibição da atividade osteoblástica e secreção de paratormônio.¹³ Uma vez que os AGEs podem

atuar sobre a taxa de renovação óssea por múltiplos mecanismos, provavelmente estão relacionadas ao paratormônio sérico intacto (iPTH), o mais comum biomarcador usado no manejo de DMO-DRC¹⁴, embora isso ainda não tenha sido comprovado.

Considerando que os AGEs podem afetar o tecido ósseo e o sistema cardiovascular, este estudo objetiva avaliar as relações entre o acúmulo de AGEs na pele, medida pelos parâmetros AFp (AGEs-AFp) e DMO-DRC através da análise de estudos clínicos, bioquímicos e de imagem, em uma coorte de pacientes sob tratamento crônico de HD.

MATERIAIS E MÉTODOS

DESENHO DO ESTUDO E CASUÍSTICA

Este estudo piloto é um estudo observacional, transversal, controlado, de um único centro, envolvendo pacientes com DRC sob tratamento com HD. Os pacientes incluídos no grupo HD (N = 20) foram recrutados na clínica ambulatorial DE HD do Departamento de Nefrologia no Hospital das Clínicas, Universidade de Campinas. Todos os pacientes que receberam HD crônica foram dialisados três vezes por semana durante quatro horas com dialisadores de polissulfona de alto fluxo e alta eficiência. Os critérios de inclusão para o estudo foram os seguintes: idade > 18 anos; em HD há mais de três meses. Os critérios de exclusão foram: fotótipos de pele “V” e “VI” pela classificação de Fitzpatrick¹⁵ (cores de pele que não permitem a medição precisa de AGEs-AFp pelo leitor de AGE (AGE-Reader™), seguindo as instruções do fabricante), com instabilidade clínica, câncer ou HIV.

Para comparar as medidas dos valores de AGEs-AFp, utilizamos um grupo controle com indivíduos saudáveis aparentemente normais (n = 24), que atenderam aos seguintes critérios: idade entre 20 e 70 anos; creatinina sérica <1,2 mg/dL; Albumina sérica > 3,5 mg/dL; sem diagnóstico de DM, doença inflamatória crônica, sem gravidez, e sem uso medicamentos que exercem influências sobre o metabolismo ósseo (por exemplo, anticonvulsivantes, bifosfonatos, calcimiméticos, calcitonina, corticosteróides, análogos de GnRH, vitamina D, dicumarínicos, terapia de reposição hormonal e tratamentos da tireoide).

O consentimento informado por escrito foi obtido de todos os indivíduos, e o comitê de ética da Universidade de Campinas aprovou o protocolo de estudo (CAAE 38406514.6.0000.5404). O estudo foi realizado de acordo com os preceitos da Declaração de Helsinque.

PROTOCOLO DE ESTUDO

Todos os pacientes estavam no horário de HD na segunda sessão da semana, quando foram realizados os exames de sangue laboratoriais e medidas de parâmetros antropométricos, pressão arterial e AGEs-AFp.

Altura e peso foram medidos sem sapatos, e sem roupas pesadas. O índice de massa corporal (IMC) foi definido como peso (kg) dividido pelo quadrado de altura (m²). A circunferência da cintura (CC) foi medida na metade da distância entre a última costela e a crista ilíaca; e a circunferência do quadril (CQ) foi medida ao redor da pelve no ponto de protrusão máxima das nádegas, ambas em um plano horizontal, sem comprimir os tecidos moles. CC e CQ foram registradas no valor mais próximo em cm e a relação cintura-quadril (RCQ) foi definida como uma razão de CC para CQ. A pressão arterial sistólica foi medida no braço esquerdo no grupo controle, e no braço contralateral que não possui fístula arteriovenosa nos pacientes em HD.

Em pacientes do grupo HD, o ecocardiograma transtorácico foi realizado para analisar a massa ventricular esquerda, calcificação valvar e a espessura do septo interventricular. A calcificação vascular foi avaliada em filmes radiográficos simples de pelve e mãos, usando a pontuação proposta por Adragão et al.,¹⁶ variando de 0 a 8. Os filmes radiográficos da pelve foram divididos em quatro seções por duas linhas imaginárias: uma linha horizontal sobre o limite superior de ambas as cabeças femorais e uma linha vertical mediana sobre a coluna vertebral. Os filmes das mãos foram divididos, para cada mão, por uma linha horizontal sobre o limite superior dos ossos do metacarpo. A presença de calcificações lineares em cada seção foi contada como “1” e sua ausência como “0”. As calcificações vasculares foram avaliadas somente nas seguintes artérias: ilíacas, femorais, radiais e digitais pelo mesmo observador.

Realizou-se uma anamnese com todos os indivíduos, com foco em comorbidades e história de doença, tanto em geral como em doenças cardiovasculares específicas (DCV). A história de DCV foi considerada positiva se os seguintes eventos estivessem presentes: infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca, angina pectoris ou procedimentos cirúrgicos para angina ou doença arterial coronariana/periférica

(incluindo angioplastia percutânea-transluminal). Os prontuários médicos dos pacientes foram revisados para identificar e registrar quaisquer medicamentos concomitantes. Pacientes e indivíduos saudáveis foram classificados de acordo com o risco de Framingham¹⁷.

EXAMES LABORATORIAIS

As amostras de sangue foram coletadas imediatamente antes da segunda sessão de HD da semana, ou em uma data programada anteriormente no grupo controle. Creatinina sérica, ureia, potássio, hemoglobina, hematócrito, cálcio, fosfato, fosfatase alcalina, ferro, ferritina, saturação de transferrina, glicemia de jejum, hemoglobina glicada, colesterol total, colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDL) Triglicérides, ácido úrico, proteína C reativa, 25-hidroxivitamina D (método de quimioluminescência), albumina, β₂-microglobulina e níveis de bicarbonato, foram avaliados em um laboratório local de bioquímica usando técnicas do auto-analisador padrão (sistema Modular IIPR, Roche Diagnostics, Basiléia, Suíça). O paratormônio-1-84 sérico intacto (iPTH) foi determinado por imunoensaio quimioluminométrico (Liaison N-tact PTH CLIAR, Diasorin, Stillwater).

MEDIÇÃO DE AGEs-AFP

O acúmulo tecidual de AGEs foi medido indiretamente por AFp com um instrumento chamado AGE-Reader™ de acordo com as recomendações do fornecedor (DiagOptics BV, Groningen, Países Baixos). Este dispositivo de mesa utiliza propriedades fluorescentes dos AGEs para medir a AFp, que é calculada como a relação entre luz de emissão e luz de excitação refletida, e é expresso em unidades arbitrárias (UA).^{4,5} A AFp foi avaliada na região ventral do antebraço. As avaliações pré e pós-HD de AGEs-AFp foram realizadas nas duas primeiras sessões de HD da semana, no braço contralateral que não possui fístula arteriovenosa ou no braço esquerdo (grupo controle).

Todas as medidas foram realizadas três vezes, à temperatura ambiente em uma sala com janelas cobertas por cortinas para evitar a iluminação do sol (semiescuro). O valor médio da medição tripla foi utilizado para análise posterior. Para classificar os níveis teciduais de AGE de acordo com a idade, usamos os valores de referência estabelecidos em uma coorte holandesa.¹⁸

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média \pm DP, mediana e intervalo interquartil ou frequência, conforme apropriado. Para fins descritivos e analíticos, os dados dos pacientes no grupo HD foram estratificados de acordo com os níveis médios de AGEs-AFp (AGEs de AFp < 2,7 UA versus \geq 2,7 UA). As comparações entre grupos foram realizadas utilizando-se um teste χ^2 para variáveis categóricas e teste-t de Student ou teste de Mann-Whitney para variáveis contínuas. O coeficiente de correlação de Pearson ou a correlação de classificação de Spearman foram utilizados para avaliar as relações entre AGEs-AFp

TABELA 1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E DEMOGRÁFICAS SEGUNDO OS GRUPOS CONTROLE E EM HEMODIÁLISE

Parâmetros	Controle (n = 24)	HD (n = 20)	p
Idade (anos)	38 \pm 9	38 \pm 19	0,85
Gênero feminino, n (%)	14 (58)	9 (43)	0,3
IMC (Kg/m ²)	25 \pm 4	23,5 \pm 6	0,3
Circunferência da cintura (CC)	83,5 \pm 14	87 \pm 17	0,47
Razão cintura-quadril	0,84 \pm 0,1	0,92 \pm 0,1 ^a	0,009
PAS (mmHg)	110 \pm 9	132 \pm 18 ^a	0,001

HD: Hemodiálise; IMC: Índice de massa corporal; PAS: Pressão arterial sistólica. ^a $p < 0,05$.

e variáveis clínicas ou bioquímicas selecionadas. O limite para significância estatística foi definido como $p < 0,05$ bicaudal. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software SPSS (versão 17.0, SPSS Inc., Chicago).

RESULTADOS

Vinte e quatro indivíduos saudáveis (grupo controle) e 20 pacientes (grupo HD) completaram o estudo. As características clínicas e demográficas, bem como os resultados da bioquímica estão mostrados nas Tabelas 1 e 2.

No grupo Controle, o AGEs-AFp segundo a idade do paciente foi maior em 22 (91%) indivíduos (2,3 \pm 0,4 UA). Os AGEs-AFp foram positivamente correlacionadas com a idade ($R = 0,77$; $p = 0,001$), bem como a proteína reativa C do soro ($R = 0,48$; $p = 0,03$), triglicérides ($R = 0,43$; $p = 0,03$), colesterol total ($R = 0,43$; $p = 0,03$), colesterol total $R = 0,54$; $p = 0,006$) e níveis de hemoglobina glicosilada ($R = 0,46$; $p = 0,02$). A pressão arterial sistólica ($R = 0,46$; $p = 0,02$) e o IMC ($R = 0,45$; $p = 0,02$) foram parâmetros clínicos positivamente associados ao parâmetro "idade". O escore de risco cardiovascular (RCV) de Framingham foi intermediário em 2 (8%) e baixo em 18 (91%).

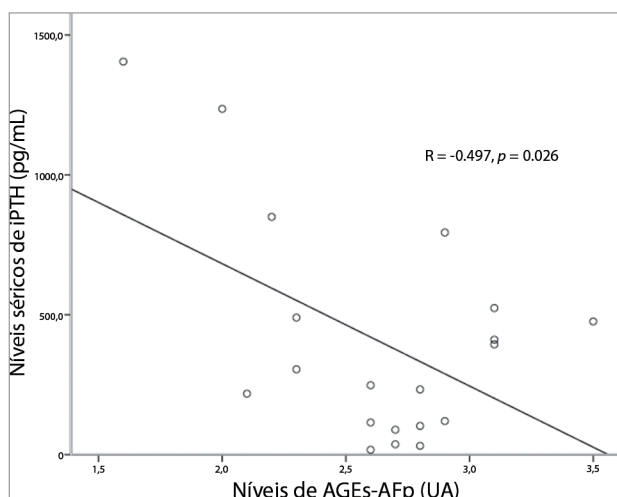
No grupo HD, os AGEs-AFp segundo a idade do paciente foi alto em todos os pacientes HD (2,6 \pm 0,4 UA). Os valores de AGEs-AFp pré e pós-HD não diferiram entre os indivíduos (2,6 \pm 0,4 vs. 2,6 \pm 0,4; $p = 0,18$) e

TABELA 2 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E LABORATORIAIS DOS GRUPOS HEMODIÁLISE E CONTROLE

Parâmetros	Controle (n = 24)	HD (n = 20)	p
AGEs-AFp (UA)	2,3 \pm 0,4	2,6 \pm 0,4	0,031
Glicemia (mg/dL)	86 \pm 9	77 \pm 23	0,12
Hemoglobina glicada (%)	5,1 \pm 0,2	5,1 \pm 0,7	0,54
Ferritina (ng/mL)	129 (103-171)	519 (414-750)	0,001
Proteína C-reativa (mg/dL)	0,2 \pm 0,2	1,7 \pm 3	0,03
Albumina (g/dL)	4,4 \pm 0,2	3,8 \pm 0,5	0,001
Colesterol total (mg/dL)	185 \pm 37	145 \pm 33	0,001
Colesterol LDL (mg/dL)	106 \pm 29	77 \pm 23	0,01
Colesterol HDL (mg/dL)	54 \pm 12	39 \pm 13	0,001
Triglicérides (mg/dL)	133 \pm 102	143 \pm 61	0,68
Ácido úrico (mg/dL)	4,9 \pm 1,2	6,7 \pm 1,1	0,001
Uréia (mg/dL)	29 \pm 7	136 \pm 38	0,001
Creatinina (mg/dL)	0,79 \pm 0,14	11 \pm 2,8	0,001
Hemoglobina (g/dL)	14 \pm 1	10,3 \pm 1,7	0,001
Hematócrito (%)	43 \pm 3	32,2 \pm 5	0,001

HD: Hemodiálise; AGEs-AFp: produtos avançados finais da glicação; AFp: autofluorescência da pele; UA: Unidades Arbitrárias; LDL: lipoproteínas de baixa densidade; HDL: lipoproteínas de alta densidade.

Figura 1. Relações entre os produtos avançados finais da glicação medidos pela autofluorescência da pele (AGEs-AFp) e níveis séricos de paratormônio. UA, unidades arbitrárias.



foram positivamente correlacionadas ($R = 0,862$; $p = 0,0001$). Os níveis séricos de iPTH foram 397 ± 386 pg/ML; 25-hidroxivitamina D $36,6 \pm 11$ ng/mL, bicarbonato 19 ± 3 mmol/L, fosfatase alcalina 94 ± 64 UI/mL e β_2 -microglobulina $4,6 \pm 0,9$ mg/mL. O escore de risco cardiovascular (rCV) de Framingham foi alto em 1 (5%), intermediário em 2 (10%) e baixo em 17 (85%) pacientes.

Encontramos uma correlação negativa entre os níveis séricos de iPTH e os níveis DE AGEs-AFP em pacientes do grupo HD ($R = -0,497$; $p = 0,026$) (Figura 1). Os parâmetros de DCV e metabolismo ósseo e mineral também foram analisados no grupo HD como função da mediana dos níveis AGEs-AFP (isto é, $<2,7$ e $\geq 2,7$ UA) (Tabela 3). Nesta análise, os níveis séricos de iPTH em pacientes com AGEs-AFP $<2,7$ UA foram quase duas vezes superiores aos da AGEs-AFP $\geq 2,7$ UA, embora essa diferença não tenha atingido significância estatística (543 ± 503 versus 292 ± 246 pg / mL, $p = 0,16$). Todos os outros parâmetros relacionados ao metabolismo ósseo, como a fosfatase alcalina sérica (96 ± 88 versus 97 ± 43 , $p = 0,98$), cálcio total ($9 \pm 1,2$ vs. $9,2 \pm 0,5$, $p = 0,65$) e níveis de fosfato ($4,3 \pm 1,2$ versus $4,9 \pm 2$, $p = 0,46$) foram semelhantes. Em relação aos parâmetros de DCV, septo interventricular ($9,7 \pm 2,7$ vs. $8,2 \pm 1$ mm, $p = 0,11$), massa ventricular esquerda (193 ± 87 vs. 135 ± 42 g, $p = 0,08$) e escore de calcificação vascular ($2 \pm 2,5$ versus $1,7 \pm 1,9$, $p = 0,76$) não diferiram de acordo com os níveis médios de AGEs-AFP.

As comparações entre os grupos revelaram que os pacientes no grupo HD apresentaram níveis médios significativamente superiores de AGEs-AFP do que o grupo Controle ($2,6$ vs. $2,3$; $p = 0,031$). Como esperado, a maioria dos fatores de risco cardiovascular

tradicionais foi observado no grupo HD. Por exemplo, eles apresentaram maior RCQ ($0,92 \pm 0,1$ vs. $0,84 \pm 0,1$; $p = 0,009$), pressão arterial sistólica (132 ± 18 versus 110 ± 9 ; $p = 0,001$), níveis mais altos de marcadores inflamatórios como ferritina sérica [519 (414-750) vs. 129 (103-171); $p = 0,001$] e proteína C-reativa ($1,7 \pm 3$ versus $0,2 \pm 0,2$; $p = 0,03$), anemia ($10,3 \pm 1,7$ versus 14 ± 1 ; $p = 0,001$), bem como níveis de creatinina e ureia ($p = 0,001$). Apesar da presença de três (15%) pacientes com DM no grupo HD, não foram observadas diferenças na glicemia sérica (86 vs. 77 ; $p = 0,12$) e nos níveis de hemoglobina glicosilada ($5,1$ vs. $5,1$; $p = 0,54$) entre os grupos, o que pode ser explicado pela baixa prevalência de DM.

DISCUSSÃO

Nosso estudo demonstra três principais achados. Primeiro, os níveis de AGEs-AFP variaram de acordo com a idade, tanto no grupo HD como no grupo Controle, embora tenha sido significativamente maior no grupo HD. Em segundo lugar, a sessão única HD de alto fluxo não afetou os níveis de AGEs-AFP. Em terceiro lugar, os AGEs-AFP foram associados negativamente aos níveis séricos de iPTH, o principal marcador de renovação óssea utilizado no manejo de DMO-DRC.

Os níveis de AGEs-AFP variaram de acordo com a idade, e foram maiores no grupo HD do que no grupo Controle. Esta descoberta foi apoiada por alguns estudos que demonstraram que ocorre acúmulo de AGEs em pacientes urêmicos, independentemente da presença de DM ou seus níveis de glicose sérica.^{3,10,19} Os possíveis mecanismos responsáveis por esse acúmulo de toxina urêmica na DRT são a redução da depuração metabólica e o aumento do estresse oxidativo, além da maior taxa de formação de compostos carbonílicos reativos.^{3,20} O acúmulo tecidual de AGEs também pode explicar, pelo menos parcialmente, o fenótipo do envelhecimento dos pacientes com HD, uma vez que se sabe que os AGEs causam danos generalizados aos tecidos através da regulação positiva da inflamação e ligações cruzadas de colágeno e outras proteínas.²¹

Em nosso estudo, observamos valores elevados de AGEs-AFP, tanto em indivíduos saudáveis como naqueles em HD, usando valores de referência obtidos de um estudo holandês em população caucasiana.¹⁸ Não podemos descartar que diferentes tipos de pele e hábitos alimentares em nossos indivíduos saudáveis (grupo Controle) podem, pelo menos parcialmente,

TABELA 3 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, DEMOGRÁFICAS, BIOQUÍMICAS E DE IMAGENS DE PACIENTES EM HEMODIÁLISE SEGUNDO NÍVEIS MEDIANOS DE AGES-AFP

	AGEs-AFp (UA)			p
	(n = 20)	< 2,7 (n = 10)	≥ 2,7 (n = 10)	
Idade (anos)	38 ± 19	40 ± 24	36 ± 26	0,67
IMC (Kg/m ²)	23,5 ± 6,3	21,3 ± 5,2	25,5 ± 7	0,15
CC (cm)	87,3 ± 17,3	82,1 ± 16,4	91 ± 19	0,30
HD (meses)	46 ± 21	42 ± 47	52 ± 53	0,66
Kt/V	1,5 ± 0,61	3 ± 0,5	1,6 ± 0,6	0,3
UF (L)	2,7 ± 0,7	2,6 ± 0,9	2,8 ± 0,8	0,57
Creatinina (mg/dL)	11 ± 2,8	12,4 ± 2,5	10 ± 2,7	0,06
Uréia (mg/dL)	136 ± 38	138 ± 54	135 ± 24	0,84
Potássio (mEq/L)	5 ± 0,7	5,3 ± 0,5	4,9 ± 0,7	0,27
Bicarbonato (mmol/L)	18,7 ± 2,7	19,2 ± 3,5	18,3 ± 2,2	0,45
Hematócrito (%)	32,2 ± 5	31,2 ± 6,5	33 ± 3,9	0,50
Cálcio (mg/dL)	9,2 ± 0,8	9 ± 1,2	9,2 ± 0,5	0,65
Fosfato (mg/dL)	4,6 ± 1,6	4,3 ± 1,2	4,9 ± 2	0,46
iPTH (pg/mL)	397 ± 385,7	543 ± 503	292 ± 246	0,16
25-OH-D (ng/mL)	36,6 ± 10,9	34,3 ± 11,6	38 ± 11	0,53
FA (UI/L)	95 ± 64	96 ± 88	97 ± 43	0,98
Ferritina (ng/dL)	575 ± 257	620 ± 226	545 ± 296	0,53
PCR (mg/dL)	1,73 ± 3,1	2,9 ± 4,4	0,9 ± 1,1	0,18
Albumina (g/dL)	3,8 ± 0,5	3,7 ± 0,6	3,8 ± 0,3	0,67
Glicose (mg/dL)	77,4 ± 24,9	89 ± 27	68 ± 21	0,07
HbA1c (%)	5,1 ± 0,7	4,9 ± 0,5	5,2 ± 0,8	0,30
ESI (mm)	8,9 ± 2	9,7 ± 2,7	8,2 ± 1	0,11
Massa VE (g)	161,4 ± 68	193 ± 87	135 ± 42	0,08
Colesterol total (mg/dL)	145 ± 33,5	133 ± 22	155 ± 40	0,16
Colesterol LDL (mg/dL)	77,1 ± 23,5	67 ± 18	84 ± 26	0,12
Colesterol HDL (mg/dL)	39 ± 13,4	37 ± 15	41 ± 13	0,54
Triglicérides (mg/dl)	143,3 ± 61,7	141 ± 59	148 ± 68	0,82
Escore de CV	1,8 ± 2,1	2 ± 2,5	1,7 ± 1,9	0,76
Escore de CV ≥ 3 (N)	6	3	3	0,62

AGEs: Produtos avançados finais da glicação medidos pela autofluorescência da pele; UA: Unidade arbitrária; IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; HD: hemodiálise; UF: ultrafiltração; iPTH: paratormônio intacto; 25-OH-D = 25-hidroxivitamina D; FA: fosfatase alcalina; PCR: proteína C-reativa; HbA1c = hemoglobina glicada; NR: Não classificado; ESI: espessura septal interventricular; VE: ventricular esquerda; LDL: lipoproteínas de baixa densidade; HDL: lipoproteínas de alta densidade; CV: calcificação vascular.

explicar esses resultados, já que sabemos que os AGEs derivadas da dieta são uma fonte importante dessas toxinas,²² e que a pigmentação de pele pode influenciar a leitura de AGEs-AFp.⁵ Mook-Kanamori et al.²³ demonstram que a etnia exerce influência nos AGEs-AFp, com níveis mais altos em árabes e filipinos. Os dados sobre AFp em população não-caucasiana são limitados e, no nosso melhor conhecimento, não existem dados prévios em sul-americanos, bem como em subgrupos brasileiros. Mais estudos, incluindo

brasileiros, são necessários para determinar se os valores reais de AGEs-AFp do intervalo de referência são aplicáveis em nossa população.

Em nosso estudo, os valores de AGEs-AFp antes e após sessão única de HD de alto fluxo foram semelhantes. O uso de diferentes técnicas de HD para contrapor o acúmulo de AGEs em pacientes em HD foi investigado, com evidências da remoção de peptídeos AGEs e AGEs livres por HD de fluxo baixo ou alto durante uma única sessão. O fluxo alto e o regime de

HD mais frequente, como diálise diária ou doméstica, foram sugeridos como modalidades capazes de reduzir os níveis séricos de AGEs no longo prazo.^{24,25} No entanto, esses estudos anteriores demonstraram influência de HD nos níveis de AGEs plasmáticos, mas não em seu acúmulo na pele, um tecido com baixo volume de renovação. Provavelmente, se houver, são necessários meses no tratamento de HD para observar mudanças em seus níveis na pele.

Sugere-se que os AGEs-AFp sejam um preditor independente de mortalidade geral e DCV em pacientes com HD.^{4,26} AGEs e seus receptores (RAGE) desempenham um papel importante na patogênese do dano vascular e distúrbios cardiovasculares, especialmente em pacientes com diabetes e DRC. Recentemente, um estudo in vivo demonstrou a associação entre o acúmulo de AGEs nos tecidos dos vasos e a severidade da calcificação arterial em pacientes com insuficiência renal.²⁷

Apesar dessas evidências na literatura, nossos indivíduos do grupo HD não demonstraram diferenças significativas nos parâmetros CVs de acordo com os níveis de AGEs-AFp, notadamente espessura do septo interventricular, massa ventricular esquerda e calcificação vascular ou valvar. Uma vez que os AGEs parecem estar associados à aterosclerose, estudos adicionais, incluindo ultrassonografia carotídea na população em HD, podem melhor elucidar os achados da calcificação vascular. Além disso, o presente estudo não associou AGEs-AFp a marcadores de estresse metabólico, hemoglobina glicada, proteína C-reativa e hiperlipidemia, em oposição a estudos anteriores, provavelmente devido ao tamanho da amostra.^{5,28}

Foram descritos os efeitos negativos de AGEs sobre o tecido ósseo, uma vez que é conhecida a sua associação com osteoporose.²⁹ Muitos estudos que utilizaram culturas celulares foram conduzidos para esclarecer os efeitos de AGEs no tecido ósseo, demonstrando múltiplos mecanismos possíveis como a seguir: estimulação da apoptose dos osteoblastos,³⁰ fatores de crescimento defeituosos ou aderência de células osteogênicas à matriz óssea,¹¹ inibição da diferenciação osteoblástica,³¹ osteoblastos estimulantes para secreção de citocinas de reabsorção óssea,³² e aumento da reabsorção óssea por osteoclastos.³³

Recentemente, tem sido especulada a participação de AGEs na fisiopatologia da DMO-DRC, principalmente na doença óssea adinâmica.³⁴ Yamamoto et al.¹³ descreveram que as AGEs podem inibir a atividade osteoblástica e a secreção do

hormônio da paratireóide em resposta à hipocalcemia. Em nosso estudo, detectamos uma correlação negativa de AGEs-AFp com iPTH sérico, sugerindo um papel de AGEs na fisiopatologia da doença óssea em pacientes em HD. Esses achados devem ser confirmados em estudos futuros com biópsia óssea e dosagem sérica de AGEs para esclarecer o efeito de AGEs na DMO-DRC.

Este estudo piloto possui várias limitações. As influências potenciais da etnia e da dieta limitam conclusões definitivas. Além disso, não realizamos análise de AGEs em estudos de histomorfometria de soro ou osso. No entanto, ao nosso melhor conhecimento, este é o primeiro estudo brasileiro realizado em pacientes em HD usando AFp para analisar o acúmulo de AGEs nos tecidos suas relações com parâmetros de DCV e marcadores de metabolismo ósseo.

Em conclusão, os níveis de AGEs-AFp foram maiores no grupo em HD do que no grupo Controle. Surpreendentemente, alguns indivíduos aparentemente saudáveis, apresentaram altos níveis de AGEs-AFp para suas idades. Uma única sessão de HD de alto fluxo parece não afetar os níveis de AGEs-AFp. Observou-se uma relação negativa entre os níveis de AGEs-AFp e os níveis séricos de iPTH, sugerindo um papel dos AGEs na fisiopatologia da doença óssea em pacientes em HD. A natureza dessa relação e a aplicação clínica desta metodologia não invasiva para avaliação da deposição de AGEs devem ser confirmadas e esclarecidas em estudos futuros.

AGRADECIMENTOS

Os autores declaram que esta pesquisa não recebeu nenhum subsídio específico de qualquer agência de financiamento e reconhece JB Lopes de Faria (Laboratório de Fisiopatologia Renal, Investigação sobre Complicações de Diabetes, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade de Campinas (Unicamp), Campinas, Brasil) que forneceu a Instrumento AGE-Reader.

REFERÊNCIAS

1. National Kidney Foundation. Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl.* 2013;3:4-150.
2. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998;32:S112-9. PMID: 9820470 DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/ajkd.1998.v32.pm9820470>

3. Arsov S, Graaff R, van Oeveren W, Stegmayr B, Sikole A, Rakhorst G, et al. Advanced glycation end-products and skin autofluorescence in end-stage renal disease: a review. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:11-20. DOI: <http://dx.doi.org/10.1515/cclm-2012-0832>
4. Meerwaldt R, Hartog JW, Graaff R, Huisman RJ, Links TP, den Hollander NC, et al. Skin autofluorescence, a measure of cumulative metabolic stress and advanced glycation end products, predicts mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:3687-93. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2005020144>
5. Meerwaldt R, Graaff R, Oomen PHN, Links TP, Jager JJ, Alderson NL, et al. Simple non-invasive assessment of advanced glycation end-product accumulation. *Diabetologia* 2004;47:1324-30. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-004-1451-2>
6. Mulder DJ, van Haelst PL, Gross S, de Leeuw K, Bijzet J, Graaff R, et al. Skin autofluorescence is elevated in patients with stable coronary artery disease and is associated with serum levels of neopterin and the soluble receptor for advanced glycation end products. *Atherosclerosis* 2008;197:217-23. PMID: 17499742 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2007.03.027>
7. Lutgers HL, Graaff R, de Vries R, Smit AJ, Dullaart RP. Carotid artery intima media thickness associates with skin autofluorescence in non-diabetic subjects without clinically manifest cardiovascular disease. *Eur J Clin Invest* 2010;40:812-7. PMID: 20597962 DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2362.2010.02329.x>
8. Noordzij MJ, Lefrandt JD, Loeffen EA, Saleem BR, Meerwaldt R, Lutgers HL, et al. Skin autofluorescence is increased in patients with carotid artery stenosis and peripheral artery disease. *Int J Cardiovasc Imaging* 2012;28:431-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10554-011-9805-6>
9. den Dekker MA, Zwiwers M, van den Heuvel ER, de Vos LC, Smit AJ, Zeebregts CJ, et al. Skin autofluorescence, a non-invasive marker for AGE accumulation, is associated with the degree of atherosclerosis. *PLoS One* 2013;8:e83084. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0083084>
10. Tanaka K, Tani Y, Asai J, Nemoto F, Kusano Y, Suzuki H, et al. Skin autofluorescence is associated with renal function and cardiovascular diseases in pre-dialysis chronic kidney disease patients. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:214-20. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfq369>
11. Fong Y, Edelstein D, Wang EA, Brownlee M. Inhibition of matrix-induced bone differentiation by advanced glycation end-products in rats. *Diabetologia* 1993;36:802-7. PMID: 8405750 DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF00400353>
12. Notsu M, Yamaguchi T, Okazaki K, Tanaka K, Ogawa N, Kanazawa I, et al. Advanced glycation end products inhibit the mineralization of mouse stromal ST2 cells by binding the receptor for ages and increasing TGF- β expression and secretion. *J Bone Miner Res*. 2013;28:2402-10. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L71507582&nhttp://rug.on.worldcat.org/atotitles/link?sid=EMBASE&issn=08840431&id=doi:&titile=Advanced+glycation+end+products+inhibit+the+mineralization+of+mouse+stromal+ST2+cells+b>
13. Yamamoto T, Ozono K, Miyauchi A, Kasayama S, Kojima Y, Shima M, et al. Role of advanced glycation end products in adynamic bone disease in patients with diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2001;38:S161-4. PMID: 11576945 DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/ajkd.2001.27428>
14. Herberth J, Monier-Faugere MC, Mawad HW, Branscum AJ, Herberth Z, Wang G, et al. The five most commonly used intact parathyroid hormone assays are useful for screening but not for diagnosing bone turnover abnormalities in CKD-5 patients. *Clin Nephrol* 2009;72:5-14. PMID: 19640382 DOI: <http://dx.doi.org/10.5414/CNP72005>
15. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol* 1988;124:869-71. PMID: 3377516 DOI: <http://dx.doi.org/10.1001/archderm.1988.01670060015008>
16. Adragão T, Pires A, Lucas C, Birne R, Magalhaes L, Gonçalves M, et al. A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:1480-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfh217>
17. Kannel WB, McGee D, Gordon T. A general cardiovascular risk profile: the Framingham Study. *Am J Cardiol* 1976;38:46-51. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0002-9149\(76\)90061-8](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9149(76)90061-8)
18. Koetsier M, Lutgers HL, de Jonge C, Links TP, Smit AJ, Graaff R. Reference values of skin autofluorescence. *Diabetes Technol Ther* 2010;12:399-403. DOI: <http://dx.doi.org/10.1089/dia.2009.0113>
19. Miyata T, Wada Y, Cai Z, Iida Y, Horie K, Yasuda Y, et al. Implication of an increased oxidative stress in the formation of advanced glycation end products in patients with end-stage renal failure. *Kidney Int* 1997;51:1170-81. PMID: 9083283 DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.1997.160>
20. Agalou S, Ahmed N, Babaei-Jadidi R, Dawdney A, Thornalley PJ. Profound mishandling of protein glycation degradation products in uremia and dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:1471-85. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2004080635>
21. Semba RD, Nicklett EJ, Ferrucci L. Does accumulation of advanced glycation end products contribute to the aging phenotype? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2010;65:963-75. PMID: 20478906
22. Uribarri J, Cai W, Sandu O, Peppas M, Goldberg T, Vlassara H. Diet-derived advanced glycation end products are major contributors to the body's AGE pool and induce inflammation in healthy subjects. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1043:461-6. PMID: 16037267
23. Mook-Kanamori MJ, Selim MM, Takiddin AH, Al-Homsi H, Al-Mahmoud KA, Al-Obaidli A, et al. Ethnic and gender differences in advanced glycation end products measured by skin autofluorescence. *Dermatoendocrinol* 2013;5:325-30. DOI: <http://dx.doi.org/10.4161/derm.26046>
24. Stein G, Franke S, Mahiout A, Schneider S, Sperschneider H, Borst S, et al. Influence of dialysis modalities on serum AGE levels in end-stage renal disease patients. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:999-1008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/16.5.999>
25. Arsov S, Trajceska L, van Oeveren W, Smit AJ, Dzekova P, Stegmayr B, et al. Increase in skin autofluorescence and release of heart-type fatty acid binding protein in plasma predicts mortality of hemodialysis patients. *Artif Organs* 2013;37:E114-22. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/aor.12078>
26. Floridi A, Antolini F, Galli F, Fagugli RM, Floridi E, Buoncrisiani U. Daily haemodialysis improves indices of protein glycation. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:871-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/17.5.871>
27. Janda K, Krzanowski M, Gajda M, Dumnicka P, Jasek E, Fedak D, et al. Vascular effects of advanced glycation end-products: content of immunohistochemically detected AGEs in radial artery samples as a predictor for arterial calcification and cardiovascular risk in asymptomatic patients with chronic kidney disease. *Dis Markers* 2015;2015:153978. PMID: 25852219 DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/153978> DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/153978>
28. Nagano M, Fukami K, Yamagishi S, Sakai K, Kaida Y, Matsumoto T, et al. Tissue level of advanced glycation end products is an independent determinant of high-sensitivity C-reactive protein levels in haemodialysis patients. *Nephrology (Carlton)* 2011;16:299-303. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1797.2010.01419.x> DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1797.2010.01419.x>
29. Yamagishi S. Role of advanced glycation end products (AGEs) in osteoporosis in diabetes. *Curr Drug Targets* 2011;12(14):2096-102. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/138945011798829456> DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/138945011798829456>
30. Alikhani M, Alikhani Z, Boyd C, MacLellan CM, Raptis M, Liu R, et al. Advanced glycation end products stimulate osteoblast apoptosis via the MAP kinase and cytosolic apoptotic pathways. *Bone* 2007;40:345-53. PMID: 17064973 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2006.09.011> DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2006.09.011>
31. Okazaki K, Yamaguchi T, Tanaka K, Notsu M, Ogawa N, Yano S, et al. Advanced glycation end products (AGEs), but not high glucose, inhibit the osteoblastic differentiation of mouse stromal ST2 cells through the suppression of osterix expression, and inhibit cell growth and increasing cell apoptosis. *Calcif Tissue Int* 2012;91:286-96.
32. Miyata T, Kawai R, Taketomi S, Sprague SM. Possible involvement of advanced glycation end-products in bone resorption. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:54-7.
33. Miyata T, Notoya K, Yoshida K, Horie K, Maeda K, Kurokawa K, et al. Advanced glycation end products enhance osteoclast-induced bone resorption in cultured mouse unfractionated bone cells and in rats implanted subcutaneously with devitalized bone particles. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:260-70.
34. Yamamoto T, Ozono K. Role of advanced glycation endproducts in adynamic bone disease. *Clin Calcium* 2001;11:1044-7.