Cristina Karohl

Influência da remodelação óssea na transferência de cálcio e fósforo durante hemodiálise em pacientes com doença renal crônica

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Nefrologia

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vanda Jorgetti

São Paulo 2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Karohl, Cristina

Influência da remodelação óssea na transferência de cálcio e fósforo durante hemodiálise em pacientes com doença renal crônica / Cristina Karohl. -- São Paulo, 2010.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Nefrologia.

Orientadora: Vanda Jorgetti.

Descritores: 1.Diálise renal 2.Cálcio 3.Fósforo 4.Hormônio paratireóideo 5.Remodelação óssea 6.Osteocalcina

USP/FM/DBD-468/10

DEDICATÓRIA

Para minha família, por todo amor, incentivo e compreensão em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que colaboraram para a realização desta tese, e, de modo especial,

- à Prof^a. Dr^a. Vanda Jorgetti, que novamente abriu as portas para a continuidade da minha formação acadêmica. Agradeço pelo incentivo, amizade, carinho e ensinamentos. Minha mais sincera admiração e respeito por sua pessoa e pelo seu trabalho como professora, médica e pesquisadora. Exemplo que levo comigo na minha vida pessoal e profissional.
- à minha Orientadora de fato e amiga Dr^a. Rosa Maria Affonso Moysés, por aceitar o desafio de orientar esta tese. Agradeço a amizade, o carinho, o incentivo e a oportunidade de trabalhar-mos juntas. Você tem o dom de ensinar e orientar, estimulando a refletir e descobrir os caminhos em cada fase da pesquisa. Meu profundo respeito e admiração por sua pessoa e por seu trabalho como pesquisadora e médica. Que a amizade perdure apesar da distância.
- ao Programa de Pós-Graduação da Disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. Rui Toledo Barros pelo apoio e suporte acadêmico.
- ao corpo médico, de enfermagem e funcionários do setor de Hemodiálise do Hospital das Clínicas da USP, nas pessoas do Prof. Dr. João Egídio

Romão Jr. e da Enf. Fadil Romão agradeço o apoio, o auxílio e as valiosas sugestões e idéias para a realização deste trabalho. Agradeço o carinho e a disponibilidade de todos os membros desta equipe que muito me auxiliaram durante os procedimentos de hemodiálise.

- à enfermeira Erika Guimaraes Silva e ao técnico de enfermagem Wanderson Silva, profissionais competentes que me acompanharam em todos os procedimentos de diálise e foram fundamentais para a realização desta tese. Agradeço pelo carinho e a amizade construída durante o curso de nossa convivência.
- aos meus colegas e amigos da Pos-Graduação Marianna D. Unger,
 Rodrigo Bueno, Ana Ludimila Cancela, Melani C. Ribeiro, Andréia O.
 Magalhães, Guaraciaba Ferrari (Bia), Luciene Pereira, Juliana Cunha,
 Daniela Guimaraes e Cristiane Villarta pelos momentos compartilhados,
 apoio e amizade.
- à Luciene M. dos Reis, pela sua paciência e disponibilidade para auxiliar em cada momento, a Fabiana G. Graciolli, Katia R. Neves e Wagner Domingues pelo apoio, amizade e sugestões.
- ao Laboratório de hormônios do Hospital das Clínicas, em especial à Márcia, responsável pelas dosagens de PTH realizadas nesta pesquisa.
 Obrigada pela disponibilidade e paciência em todas as confirmações dos resultados.
- à equipe do Laboratório de análises bioquímicas do Hospital das Clínicas pelas dosagens bioquímicas.

- aos pacientes que participaram deste projeto, fundamentais na pesquisa.
 Agradeço a confiança e disponibilidade depositadas.
- aos meus colegas e amigos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pelo incentivo e apoio para a realização desta tese.
- aos meus sócios, amigos e colegas do Centro de Prevenção e Tratamento de Doenças Renais pelo incentivo para a realização desta tese. Agradeço a confiança, a compreensão e a disponibilidade de auxiliar neste momento.
- à Prof^a. Dr^a. Jutta Passlick-Deetjen por acreditar neste projeto. Agradeço
 o apoio e as valiosas sugestões para esta tese.
- à Fresenius Medical Care do Brasil pelo fornecimento das máquinas de diálise, dialisadores, linhas de diálise e soluções de diálise para a realização deste estudo. Agradeço o apoio e confiança depositados.
- à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo FAPESP –
 pelo suporte financeiro de auxílio à pesquisa.
- ao Conselho Nacional de Pesquisa CNPq pela bolsa de doutorado.

finalmente, de maneira geral, gostaria de agradecer todas as pessoas que, de alguma forma, colaboraram para a elaboração desta tese.



NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referência: adaptado do *International Committe of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Annelise Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva da Souza Aragão, Sueli Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas	
Lista de símbolos	
Lista de figuras	
Lista de tabelas	
Resumo	
Summary	
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Homeostase do cálcio e do fósforo	1
1.1.1. Importância da manutenção da concentração dos íons cálcio e fósforo	1
1.1.2. Balanço do cálcio e do fósforo	3
1.1.3. Absorção intestinal	3
1.1.4. Excreção renal	5
1.1.5. Cálcio, fósforo e o esqueleto	5
1.1.6. Ações hormonais na homeostase do cálcio e fósforo	11
1.2. Alteração do metabolismo mineral e ósseo na doença renal crônica	14
1.3. Balanço do cálcio na doença renal crônica	19
1.3.1. Aspectos históricos	19
1.3.2. Balanço de cálcio na hemodiálise	22
1.3.3. Efeito da concentração de cálcio do dialisato na transferência de massa de cálcio durante hemodiálise	23
1.4. Impacto clínico e laboratorial das diferentes concentrações de cálcio do dialisato	26
1.4.1. Impacto no sistema cardiovascular	26
1.4.2. Impacto na calcificação vascular	28

29

1.4.3. Impacto no metabolismo mineral e ósseo

1.5. Balanço de fósforo na hemodiálise	32
2. JUSTIFICATIVA	36
3. OBJETIVOS	37
3.1. Objetivo geral	37
3.2. Objetivos específicos	37
4. MÉTODOS	38
4.1. Amostra	38
4.2. Critérios de inclusão	38
4.3. Critérios de exclusão	38
4.4. Tratamento de hemodiálise	39
4.5. Variáveis clínicas	39
4.6. Variáveis laboratoriais	40
4.6.1. Amostras de sangue	40
4.6.2. Amostras do dialisato	42
4.7. Determinação da transferência de cálcio e remoção de fósforo	42
4.8. Determinação da remodelação óssea de acordo com os níveis séricos de PTH	42
4.9. Comissão de ética	43
4.10. Análise estatística	43
5. RESULTADOS	45
5.1. Características gerais da amostra	45
5.2. Transferência de cálcio	49
5.3. Comportamento dos níveis séricos do PTH e do cálcio de acordo com a transferência de cálcio.	62
5.4. Remoção de fósforo	64

5.5. Níveis séricos do fósforo de acordo com a remodelação óssea e Kt/V	
6. DISCUSSÃO	74
7. CONCLUSÕES	89
8. ANEXOS	91
Anexo A. Perspectivas futuras	91
Anexo B. Aprovação pela Comissão de Ética	93
9. REFERÊNCIAS	94
10. APÊNDICE	120
Artigo Publicado	121

LISTA DE ABREVIATURAS

Alb Albumina

ATP Adenosina trifosfato

Ca Cálcio

Cad Concentração de cálcio no dialisato

CaSR Receptor sensível ao cálcio

Cai Cálcio iônico
Ca T Cálcio total

DMO-DRC Distúrbio mineral e ósseo da doença renal crônica

DPG Deoxipiridinolina

DRC Doença renal crônica

FGF-23 Fator de crescimento de fibroblastos-23

FAO Fosfatase alcalina fração óssea

FC Frequência cardíaca

HD Hemodiálise

HPT Hiperparatireoidismo

Mg Magnésio Na Sódio

OC Osteocalcina

OPG Osteoprotegerina

P Fósforo

PAS Pressão arterial sistólica

PAD Pressão arterial diastólica

Pf Peso corporal no final da sessão de hemodiálise

PT Proteína total

PTH Hormônio da paratireóide

T Tempo da sessão de hemodiálise

Uf Ultrafiltração

Ur Uréia

URR Taxa de redução da uréia

Vd Volume do dialisato

VDR Receptor da vitamina D

Vs. Versus

LISTA DE SÍMBOLOS

 $\alpha \hspace{1cm} \text{Alfa}$

B Beta

% Percentual

≥ maior ou igual

≤ menor ou igual

< Menor

>

<u>+</u> mais ou menos

g/L Grama por litro

Kg Kilograma

Kg/m² kilograma por metro quadrado

Maior

mg/dl miligrama por decilitro

nmol/ml nanomol por microlitro

ng/ml nanograma por microlitro

pg/ml Picograma por microlitro

UI Unidade internacional

U/L Unidades por litro

μg Micrograma

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Pressão arterial e frequência cardíaca dos pacientes de acordo	48
	com a concentração de cálcio no dialisato	
Figura 2-	Transferência de cálcio para cada paciente nas diferentes	52
	concentrações de cálcio do dialisato	
Figura 3 -	Relação entre transferência de cálcio e gradiente de cálcio,	56
	albumina, níveis de osteocalcina e PTH	
Figura 4 -	Comportamento dos níveis séricos de cálcio iônico e PTH	63
	conforme a remodelação óssea estimada pelo PTH durante a	
	hemodiálise	
Figura 5 -	Remoção de fósforo em cada concentração de cálcio no	64
	dialisato	
Figura 6 -	Relação entre remoção de fósforo e fósforo sérico, cálcio	68
	iônico, PTH e Kt/V	
Figura 7 -	Remoção de fósforo de acordo com os níveis de PTH	7 1
Figura 8 -	Níveis séricos de fósforo conforme PTH durante tratamento de	72
	hemodiálise	
Figura 9 -	Níveis séricos de fósforo e remoção de fósforo conforme Kt/V	73
	durante tratamento de hemodiálise	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Estudos avaliando diferentes concentrações de cálcio no dialisato	20
Tabela 2 -	Estudos de transferência de massa de cálcio	25
Tabela 3 -	Características clínicas e dialíticas dos pacientes de acordo com as concentrações de cálcio no dialisato	46
Tabela 4 -	Características bioquímicas dos pacientes de acordo com as concentrações de cálcio no dialisato	47
Tabela 5 -	Transferência de cálcio de acordo com a concentração de cálcio do dialisato	51
Tabela 6 -	Correlação linear entre transferência de cálcio e características clínicas, bioquímicas e dialíticas	53
Tabela 7 -	Regressão linear para transferência de cálcio	55
Tabela 8 -	Marcadores de remodelação óssea por níveis de PTH	59
Tabela 9 -	Transferência de cálcio por nível de PTH	59
Tabela 10 -	Análise multivariada para transferência de cálcio de acordo com a remodelação óssea	60
Tabela 11 -	Transferência de cálcio por nível de osteocalcina	61
Tabela 12 -	Transferência de cálcio de acordo com o uso de calcitriol	62
Tabela 13 -	Análise de correlação entre remoção de fósforo e características clínicas, bioquímicas e dialíticas dos pacientes	65
Tabela 14 -	Regressão linear para remoção de fósforo	66
Tabela 15 -	Análise multivariada para medidas repetidas das variáveis preditivos da remoção de fósforo	67

Resumo

Karohl C. *Influência da remodelação óssea na transferência de cálcio e fósforo durante hemodiálise em pacientes com doença renal crônica* (tese). São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2010.

A cinética e os fatores determinantes da transferência do cálcio e do fósforo durante a hemodiálise foram pouco avaliados e não são completamente compreendidos até os dias de hoje, apesar de associarem-se ao desenvolvimento e progressão da doença óssea renal, à calcificação vascular e à maior mortalidade. Tanto a transferência de cálcio e a remoção de fósforo durante a diálise afetam o equilíbrio do metabolismo mineral. Este estudo tem por hipótese que o metabolismo mineral e ósseo poderia, por sua vez, afetar a cinética de ambos os íons durante a diálise. No entanto, remodelação óssea não é usualmente considerada quando modelos cinéticos são aplicados para cálcular o balanço do cálcio e do fósforo. OBJETIVO: Avaliar a cinética do cálcio e do fósforo durante a hemodiálise e o papel da remodelação óssea nessa transferência. MÉTODO: Vinte e três pacientes (idade = 43.2 ± 17 anos) com doença renal crônica em hemodiálise no Hospital das Clínicas da USP foram submetidos a 4 sessões de hemodiálise com cada uma das seguintes concentrações de cálcio no dialisato (Cad): 2,0; 2,5; 3,0 e 3,5 mEq/L. Amostras de sangue e de dialisato foram coletadas a cada 30 minutos para calcular a transferência de cálcio e fósforo e avaliar os fatores determinantes desta transferência. RESULTADOS: O balanço de cálcio foi extremamente variável em todas as Cad. A transferência de cálcio foi de -578±389, -468 ± 563 , $+46\pm400$ e $+405\pm413$ mg nas Cad de 2,0, 2,5, 3,0 e 3,5 mEq/L, respectivamente (2,0 e 2,5 vs 3,0 e 3,5 mEq/L, P<0.001; 3,0 vs 3,5 mEq/L, P<0.05). Análise de regressão multivariada mostrou que a transferência de cálcio foi dependente do gradiente de cálcio entre o sangue e o dialisato, da albumina, do PTH e da osteocalcina. A média do balanço de cálcio foi de -332±235mg para o grupo de pacientes com PTH > 300 pg/ml, e de -8±200mg no grupo com PTH ≤300pg/ml (P<0,005). A média de remoção de fósforo foi de 1073 ± 351,8 mg. Cad não afetou a remoção de fósforo. O balanço de fósforo foi dependente da concentração de fósforo pré hemodiálise, dos níveis de PTH, do cálcio iônico e do Kt/V. O grupo de pacientes com níveis de PTH > 300 pg/ml apresentaram remoção significativamente maior de fósforo do que o grupo com PTH \leq 300pg/ml (1328 ± 176,7 vs. 877 ± 184,3; P<0,0001). CONCLUSÃO: Os resultados deste estudo sugerem que a remodelação óssea influencia a transferência de cálcio e a remoção de fósforo durante a hemodiálise. A remodelação óssea deveria ser considerada nos futuros modelos de cálculo da cinética do balanço do cálcio e do fósforo, assim como na escolha da Cad mais apropriada para cada paciente em tratamento hemodialítico.

Descritores: 1. Diálise Renal 2. Cálcio 3. Fósforo 4. hormônio paratireóideo 5. Remodelação óssea 6. Osteocalcina.

Summary

Karohl C. Influence of the bone remodeling in the calcium and phosphorus transfer during hemodialysis in patients with chronic kidney disease (thesis). São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2010.

Few studies have evaluated the calcium and phosphorus kinetics and their determinants during hemodialysis, although both ions are associated with renal bone disease, vascular calcification and mortality in patients with chronic kidney disease (CKD). In addition, both calcium transfer and phosphorus removal during dialysis can affect mineral metabolism. This study hypothesizes that bone and mineral metabolism may influence the calcium and phosphorus transfer during hemodialysis. However, when dialysate calcium concentration (d[Ca]) is chosen or kinetic models are employed to calculate calcium and phosphorus balance, bone remodeling is rarely considered. OBJECTIVE: To evaluate calcium and phosphorus kinetics and whether bone remodeling affects calcium and phosphorus mass transfer during hemodialysis. METHODS: Twenty three patients (mean age = 43.2 ± 17 years) with CKD in hemodialysis at the Hospital das Clínicas of USP were studied. Each patient was dialyzed using a dialysate calcium concentration (d[Ca]) of 2.0, 2.5, 3.0 or 3.5 mEq/L. Blood and dialysate samples were collected at each 30 minutes. Calcium and phosphorus mass transfer were measured and associated with remodeling bone factors. RESULTS: Calcium balance varied widely depending on the d[Ca]. Calcium removal was -578±389, -468±563, +46±400 and +405±413mg when a d[Ca] of 2.0, 2.5, 3.0 or 3.5mEq/L was used, respectively; (2.0 and 2.5 vs. 3.0 and 3.5 mEg/L; P < 0.01; 3.0 vs. 3.5mEg/L, P < 0.05). Multivariate analysis showed that calcium gradient between blood and dialysate, PTH and osteocalcin were determinants of calcium transfer. Mean calcium transfer was -332±235mg in the group of patients with PTH levels > 300pg/mL whereas it was -8±200mg in the group of patients with PTH levels ≤ 300 pg/mL (P<0,005). Mean phosphorus removal was 1073 ± 351.8 mg, and it removal was not affected by d[Ca]. Serum phosphorus level, PTH levels, ionized calcium and Kt/V were determinant factors to phosphorus removal. The group of patients with PTH > 300pg/ml showed higher phosphorus removal than the group with PTH ≤300pg/mL (1328 ± 176.7 vs. 877 ± 184.3; P<0.0001). CONCLUSIONS: These results suggest that bone remodeling affects calcium and phosphorus mass transfer during hemodialysis. The bone remodeling should be considered in further kinetic models of calcium and phosphorus, as well as it should be considered when choosing the better d[Ca] for each patient.

Descriptors: 1. Renal Dialysis 2. Calcium 3. Phosphorus 4. Parathyroid hormone 5. Bone Remodeling 6. Osteocalcin.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Homeostase do cálcio e do fósforo

1.1.1. Importância da manutenção das concentrações dos íons cálcio e fósforo

O cálcio (Ca) é o cátion divalente mais comum no organismo e representa 1 a 2% do peso corporal total. Aproximadamente 99% do Ca encontram-se nos ossos, principalmente na forma de cristais de hidroxiapatita, e 1% nos compartimentos intra e extracelular (1). O Ca está presente no plasma em três formas: cerca de 40% encontra-se ligado às proteínas plasmáticas como a albumina e, em menor proporção, as globulinas, 10% é complexado com ânions como fosfato e citrato e 50% está na forma livre ou ionizada. Apenas o Ca complexado e o iônico são ultrafiltráveis e as ações biológicas são atribuídas à fração ionizada (1,2).

O fósforo (P) constitui 1% do peso corporal total e é o sexto elemento mais prevalente no organismo, principalmente na forma de fosfato. Ele distribui-se da seguinte maneira: 85% no esqueleto, 15% no intracelular e 0,1% no fluído extracelular (3). No plasma, um terço do P esta presente na forma inorgânica e existe em três frações: iônica (55%), ligado a proteínas (10%) e complexado a outros íons como sódio, Ca e magnésio (35%). Cerca de 90% do P inorgânico é ultrafiltrável.

Tanto o Ca como o P exercem importantes funções no organismo, seja no nível celular como no extracelular. No osso, o Ca é responsável pela integridade estrutural do esqueleto e funciona também como uma reserva, podendo ser rapidamente mobilizado para manter o seu equilíbrio no meio extracelular. Esta fração cambiável representa aproximadamente 1% da fração de Ca presente no esqueleto. No fluído extracelular e no

citosol, os íons Ca são criticamente importantes na manutenção e no controle de inúmeros processos fisiológicos. Uma das principais funções do Ca é a manutenção da estrutura e da integridade das membranas celulares. Além disto, ele atua na cascata da coagulação e é importante para excitabilidade nervosa e para contração muscular. O Ca também participa de múltiplas reações enzimáticas e, como segundo mensageiro, media efeitos de sinalização nas membranas responsáveis pela regulação e liberação de proteínas e de hormônios (2).

Por outro lado, o P é um ânion predominantemente intracelular e é encontrado na forma inorgânica ou como componente de numerosos compostos como carbohidratos, ácidos nucléicos, lípides, enzimas, fatores de transcrição, entre outros. Além de ser essencial para a integridade do esqueleto, o P também participa de inúmeras reações bioquímicas, incluindo transmissão de impulsos nervosos, metabolismo energético derivado do ATP e atividades enzimáticas. Além disto, o P é um componente dos fosfolípides das membranas celulares e contribui para a estabilidade da membrana plasmática e do intracelular (3, 4).

No plasma, as concentrações de Ca total e de P são mantidas de maneira constante. Os limites da concentração do Ca total são entre 8,8 a 10,2 mg/dl (2,2 a 2,6 mmol/L; 1 mg/dl = 0,25 mmol/L), mas podem variar dependendo da técnica utilizada para sua medida. Os níveis séricos normais de P variam de 2,3 a 4,6 mg/dl (0,8 - 1,4 mmol/L; 1 mg/dl = 0,32 mmol/L). No entanto, sexo, idade, ingestão e diversos hormônios podem causar flutuações nos seus níveis. (3, 4).

1.1.2. Balanço do cálcio e do fósforo

A manutenção das concentrações do Ca e do P no fluído extracelular é regulada de forma requintada em um processo dinâmico de equilíbrio. A homeostase destes elementos envolve o funcionamento integrado entre o intestino, o esqueleto e o rim sob ação de hormônios.

O principal hormônio responsável pela manutenção do Ca sérico é o hormônio da paratireóide (PTH), mas também participam do processo a 1,25-dihidroxivitamina D₃ (calcitriol) e a calcitonina (5-7). Mecanismos regulatórios sensíveis e eficientes envolvendo sensores de Ca extracelular são estimulados ou suprimidos por alterações de demanda ou suprimento deste elemento (8,9). Esta regulação tem por objetivo manter a concentração do Ca extracelular tão constante quanto possível, em um balanço neutro, para proteger o organismo contra deficiência ou sobrecarga. A manutenção de níveis constantes de Ca é crucial para as suas funções fisiológicas nos diferentes órgãos e sistemas.

PTH e calcitriol também exercem ação regulatória nos níveis de P sérico; no entanto, a manutenção do equilíbrio do P não é completamente compreendida. Recentemente, a descoberta do fator de crescimento de fibroblastos 23, FGF-23, permitiu um avanço no entendimento da regulação do P no organismo (10).

1.1.3. Absorção intestinal

Diariamente, um indivíduo ingere aproximadamente 1000 mg de Ca, podendo variar de 300 a 3000 mg. As principais fontes dietéticas de Ca são o leite e seus derivados. A eficiência da absorção intestinal de Ca é em torno de 20 a 60%, variando

com a idade, a quantidade ingerida e a disponibilidade de calcitriol (1). Um processo de adaptação intestinal permite ao organismo, em situações extremas de deficiência ou excesso de Ca, aumentar ou reduzir a absorção, respectivamente. Em adultos sadios, a necessidade mínima diária de Ca para manter a neutralidade do balanço é em torno de 400 mg/dia, considerando as perdas intestinais via suco gástrico, pancreático e biliar em torno de 300 mg, além da excreção renal. A absorção final de Ca representa a diferença entre o que é absorvido e excretado da ingestão (2). A absorção intestinal de Ca ocorre através de mecanismos passivo e ativo. Este último é dependente de energia, saturável e regulado pelo calcitriol (2, 10-13).

Com relação à ingestão de P, sabe-se que o mesmo está presente em um grande número de alimentos como os produtos lácteos, grãos e carnes, além dos conservantes presentes em alimentos industrializados. Em geral, a dieta normal supre quantidades suficientes de P, tanto que deficiência dietética usualmente não ocorre. A ingestão diária de P pode variar de 800 a 1500 mg. Desta, 60 a 70% é absorvido pelo intestino e, obrigatoriamente, há um efluxo secretório de P de aproximadamente 200 mg/dia no intestino. Assim como para o Ca, ambos os mecanismos passivo e ativo estão envolvidos na absorção intestinal de P. O calcitriol é o principal estimulador da absorção intestinal de P. Outros fatores são a carga de P ingerida na dieta e o PTH; este último, de forma indireta por aumentar a síntese de calcitriol (2,14). Por outro lado, a ingestão de cátions como Ca, magnésio e alumínio diminuem a absorção intestinal de P por formarem complexos insolúveis. Esta propriedade de ligação com cátions é uma forma de prevenir hiperfosfatemia em pacientes com doença renal crônica (DRC) por administração de quelantes de P como os sais de alumínio, sais de Ca, sevelamer e lantânio (15).

1.1.4. Excreção renal

O rim é o principal órgão responsável pela homeostase do Ca e do P. Adultos com função renal normal filtram cerca de 10.000 mg de Ca por dia. No entanto, em torno de 95% é reabsorvido ao longo dos túbulos renais e a quantidade excretada na urina equivale à soma da diferença entre o que é absorvido e secretado no intestino e do que é reabsorvido do osso, o que equivale a uma excreção diária em torno de 100 a 300 mg. O resultado final é um balanço neutro deste elemento. Desta maneira, em situações de sobrecarga de Ca, o excesso é excretado na urina. O oposto, ou seja, retenção, ocorre em situações de redução do Ca no meio extracelular com excreção mínima do mesmo (1,3).

O rim também exerce um papel fundamental na regulação da homeostase do P. A maior parte do P inorgânico no plasma (90 a 95%) é filtrável nos glomérulos. Aproximadamente 80 a 90% da carga filtrada é reabsorvida nos túbulos renais e o remanescente excretado na urina. A excreção média de P na urina é de cerca de 900 mg/dia. A capacidade renal de reabsorver P é saturável. Essa capacidade máxima do túbulo renal em reabsorver P é conhecida como TmP, ou transporte tubular máximo de P (3).

1.1.5. Cálcio, fósforo e o esqueleto

Um dos pontos mais críticos e controversos sobre a manutenção do equilíbrio do Ca extracelular é o seu contínuo fluxo do e para o osso. O esqueleto é o principal reservatório de Ca do organismo contendo aproximadamente 1.000g. Diariamente, cerca de 500 mg de Ca são removidos e a mesma quantidade é incorporada ao osso de

forma contínua em um processo finamente regulado que mantém a integridade óssea e contribui para a manutenção dos níveis séricos deste íon. O fluxo de Ca ocorre tanto em locais de remodelação óssea, através da reabsorção e formação, como também em toda a superfície óssea em repouso através do chamado reservatório de troca de Ca (16, 17).

Este reservatório de troca de Ca localiza-se tanto na porção cortical como na trabecular e é revestido por células planas de origem osteoblástica (linning cells), alinhadas lado a lado e separadas por junções intercelulares (gap junctions) (18, 19). A quantidade de Ca disponível para troca é estimada em 3.000 mg; no entanto, a magnitude de troca nesta superfície é incerta. No mínimo, este fluxo parece ser cerca de 10 vezes maior do que o fluxo de Ca proveniente da remodelação óssea (20). Parfitt sugere que o reservatório de troca de Ca atua como um tampão de ação rápida, captando ou liberando Ca para correção de ganho ou perda deste elemento para o fluído extracelular, respectivamente (17). No entanto, os mecanismos pelos quais o osso mantém o equilíbrio do Ca sérico ainda não foram completamente estabelecidos e são motivos de discussão na literatura. Das propostas existentes, as mais aceitas e não mutuamente exclusivas incluem a remodelação, baseada na reabsorção e formação óssea via estímulo celular do PTH nos osteoblastos e osteoclastos, e a que envolve um processo físico-químico com transferência de íons minerais através da superfície óssea (16, 17, 21).

A remodelação óssea é aceita como um dos principais mecanismos envolvidos na manutenção do equilíbrio do Ca no fluído extracelular. O processo de remodelação promove remoção de osso antigo com reposição de osso novo e acontece durante toda a vida do indivíduo, preservando a integridade óssea. As células responsáveis pela reabsorção do osso são os osteoclastos e, pela formação, os osteoblastos. O PTH é o principal hormônio envolvido na ativação destas células. Neste processo regenerativo

do osso, Ca é liberado do mineral ósseo durante o processo reabsortivo e incorporado durante a formação e mineralização. O ciclo de remodelação envolve basicamente três etapas. A primeira é a ativação de células progenitoras que irão se diferenciar em osteoblastos e osteoclastos. Este processo inicia em resposta a micro lesões ou sinais metabólicos. Na segunda etapa, os osteoclastos dissolvem o mineral ósseo e hidrolizam proteínas resultando em reabsorção óssea. Em um terceiro momento, os osteoblastos são recrutados e sintetizam colágeno e proteínas não colágenas formando a matriz óssea que, por fim, é mineralizada com deposição de sais de Ca e fosfato na forma de hidroxiapatita (22-24). Este processo de remodelação requer uma apropriada coordenação entre reabsorção e formação em uma seqüência anatômica e temporal. O acoplamento entre os dois eventos ocorre por ação de fatores locais e sistêmicos presentes durante todo o processo (25).

Importante salientar que a formação e a mineralização óssea não são rapidamente ajustáveis e podem demorar horas ou mesmo dias, sendo questionável se podem funcionar como tampão rápido. Por outro lado, apesar dos osteoblastos estimularem os osteoclastos, estudos experimentais de cultura celular e de animais têm sugerido que os osteoclastos pré-existentes podem sofrer alterações em segundos ou minutos após exposição ao PTH ou à calcitonina, sugerindo atividade reabsortiva aumentada (26, 27). Esta capacidade reabsortiva é provavelmente o meio pelo qual o osso funcionaria como um reservatório de Ca facilmente mobilizado em condições de redução no meio extracelular.

A outra hipótese, proposta por Talmage e colaboradores, refere-se a um processo físico-químico centrado na troca de íons Ca entre a superfície óssea mineralizada, as proteínas não colágenas e o fluído extracelular, com a ação ou não do PTH (21). As células planas que revestem a superfície óssea se interligam com os osteócitos via

extensões protoplasmáticas e, entre o osso mineral e as células planas, osteócitos e extensões protoplasmáticas encontra-se o fluído extracelular ósseo e as proteínas não colágenas (17, 21, 28).

As proteínas não colágenas apresentam importantes funções na organização da matriz e do mineral ósseo. Entre as várias proteínas não colágenas existentes, a osteonectina e a osteocalcina são as que apresentam alta afinidade de ligação reversível com Ca, especialmente Ca na forma de hidroxiapatita. Além disto, estas proteínas não colágenas parecem aumentar a solubilidade do mineral ósseo em uma solução tamponada e são capazes de manter a concentração de Ca iônico em um nível aproximado de 5 mg/100ml, ou seja, 10 a 100 vezes a solubilidade da hidroxiapatita, conforme demonstrado por Neuman e colaboradores (29).

Na teoria proposta por Talmage e colaboradores, a redistribuição do Ca entre a superfície mineral e o fluído extracelular ocorre de forma rápida em um processo físico-químico que é por fim suplementada pelos efeitos celulares do PTH. Tal mecanismo poderia ser responsável pelo movimento bidirecional de grandes quantidades de Ca, estimado ser de 6 gramas por dia. O Ca presente no fluído extracelular em contato com a superfície óssea é depositado no osso a favor de um gradiente de concentração. Este processo envolve a captação do íon pelos sítios ligantes protéicos ou pela deposição passiva resultando em nucleação e crescimento dos cristais existentes. Para compensar a grande remoção de Ca do fluído extracelular e manter o equilíbrio, quantidade equivalente de Ca precisa ser liberada da superfície óssea para manter a concentração do Ca sérico. No entanto, esta transferência de Ca do mineral ósseo para o fluído extracelular deve ocorrer contra um gradiente de concentração e foi sugerido que este processo envolveria dois passos. Primeiro, haveria transferência do íon Ca do mineral ósseo para as proteínas não colágenas que recobrem a superfície óssea incluindo a

osteocalcina e a osteonectina (21). Como o Ca é transferido do mineral ósseo para estas proteínas é especulativo. Os processos propostos são a troca de dois íons sódio, ligados a estas proteínas, por um íon Ca ou por alteração da conformação das proteínas. Como anteriormente mencionado, as proteínas não colágenas podem aumentar a solubilidade da hidroxiapatita e ligar-se ao Ca de forma reversível promovendo um processo de equilíbrio, ou seja, a captação e a liberação do íon Ca ao material orgânico ou inorgânico é igual. No segundo passo, este Ca complexado às proteínas entraria então em equilíbrio com o Ca ionizado no fluído extracelular. Este conceito, envolvendo proteínas não colágenas, seria fundamental para o processo de equilíbrio entre a entrada e a saída de Ca do osso e para sua homeostase (30, 31).

Nesta teoria, a homeostase do Ca ocorreria independente do PTH, o qual teria um papel suplementar. Apesar da conhecida ação do PTH na homeostase do Ca, estudos mostraram que animais paratireodectomizados submetidos à indução de hipocalcemia eram capazes de retornar aos níveis pré-indução mesmo na ausência do hormônio (32). No entanto, o PTH tem importância crítico no balanço de Ca e, além da sua atividade em aumentar a reabsorção e formação óssea, ele também parece agir sobre as células planas estimulando a secreção de proteínas não colágenas que, por aumentarem a solubilidade do cristal ósseo, auxiliam na manutenção dos níveis de Ca iônico no plasma e no fluído extracelular (33, 34). Divieti e colaboradores demonstraram que tanto as células planas como os osteócitos expressam receptores do PTH em sua superfície (35). Recentemente, Yu e colaboradores demonstraram que o PTH também pode estimular a expressão do gene da osteocalcina pelos osteoblastos (36).

Outra questão discutida nesta teoria é se este processo de homeostase envolve ou não uma fonte de energia, já que a saída do Ca do osso ocorre contra um gradiente de concentração. Recentemente, Marenzana e colaboradores confirmaram a existência de

fluxo de Ca na interface do fluído extracelular-fluído extracelular ósseo em ossos de camundongos expostos a um meio igual ao fluído extracelular ou a um meio sem Ca. Influxo imediato de Ca do fluído extracelular para o osso foi observado no meio que mimetizava o fluído extracelular, sugerido ser este um processo passivo dependente do gradiente de concentração. Por outro lado, quando imergiam o osso em um meio sem Ca havia saída de Ca do mesmo, e este processo parece ser dependente de energia, embora os fatores que controlaram ou modularam a extrusão não foram estabelecidos (37). Uma possível fonte de energia requerida para este processo pode vir da fosforilação da proteína não colágena osteonectina (31).

No entanto, há muitas controvérsias a serem resolvidas sobre este processo de transferência de Ca entre o mineral ósseo e o fluído extracelular, tais como se este envolve processos ativo ou passivo, se depende ou não da ação celular e de fatores regulatórios. Por outro lado, parece claro tanto a existência de um reservatório de Ca como a sua ação na regulação minuto-minuto da concentração extracelular do Ca; entretanto, como o meio ósseo "sente" as alterações na concentração de Ca ainda não está definido. Estudos sugerem que a concentração de Ca pode afetar as células ósseas nos diferentes estágios de diferenciação (38-40). Recentemente foi demonstrada a presença de receptores sensores de Ca (CaSR) em células ósseas e estes poderiam participar na regulação do Ca sérico. Kameda e colaboradores, assim como Mentaverri e colaboradores mostraram a presença destes receptores em pré-osteoclastos e osteoclastos (41, 42) e Dvorak e colaboradores demonstraram a presença em osteoblastos (43). Além disto, Huan e colaboradores avaliaram a recuperação de hipocalcemia aguda induzida em ratos tireoparatireoidectomizados tratados ou não com calcimimético. Eles observaram uma recuperação mais lenta no grupo tratado e

sugeriram que os CaSR do osso são importantes para a regulação minuto a minuto do Ca plasmático (44).

O papel do osso na homeostase do P é ainda menos compreendido do que o do Ca. Isto provavelmente decorre do fato da manutenção da concentração do P plasmático não ser tão crítica agudamente quanto a necessidade de manutenção dos níveis de Ca. Pode-se especular que o processo de remodelação óssea seria um dos meios envolvidos na transferência de P entre o meio extracelular e o mineral ósseo. Além disto, o crescimento do cristal requer tanto Ca como P e, portanto, a existência de um gradiente de P entre o meio extracelular e o mineral ósseo se faz necessária. A reabsorção óssea por osteoclastos libera P para o meio extracelular e a deposição deste elemento na matriz osteóide depende da sua concentração extracelular (2). Outra possibilidade é a possível interação do P com o Ca. Sugere-se que quando o Ca é liberado do osso mineral para as proteínas não colágenas da superfície óssea, algum fosfato poderia ser liberado diretamente para o fluído extracelular ósseo e reagir com o processo de equilíbrio do Ca (21).

1.1.6. Ações hormonais na homeostase do cálcio e do fósforo

O PTH é o principal hormônio regulador dos níveis de Ca sérico, defendendo o organismo tanto da hipocalcemia como da hipercalcemia. Em uma ação secundária, o PTH também regula os níveis de P.

O PTH é sintetizado e secretado pelas glândulas da paratireóide, as quais foram descobertas no final do século 19 (45). Acredita-se que a paratireóide surgiu nos animais vertebrados quando estes se moveram de um ambiente aquático para o terreste, onde o Ca era deficiente e o P excessivo. No entanto, fragmentos de PTH ativo foram

identificados em teleósteos, espécies de peixe com esqueleto (46). Os níveis de Ca são bem controlados por todos os animais que possuem esqueleto e, do ponto de vista da evolução, as paratireóides surgiram quando o controle foi insuficiente para manter o Ca do meio extracelular. O efeito do hormônio foi aumentar a concentração de Ca livre de 3,5 mg/100ml para a concentração considerada fisiológica de 5,0 mg/100 ml (34).

As células da paratireóide detectam pequenas alterações no Ca plasmático por ligação deste íon aos CaSR localizados na membrana celular (9, 47). Elevações dos níveis de Ca estimulam os CaSR e inibem a secreção de PTH, o inverso ocorrendo em situação de hipocalcemia. A relação entre o Ca sérico e a secreção de PTH é descrita como uma curva sigmoidal inversa (48). Esta curva caracteriza a capacidade máxima secretória de PTH em situações de redução dos níveis séricos de Ca e a capacidade secretória mínima em uma concentração elevada de Ca. O ponto em que o nível de Ca é capaz de suprimir a secreção de PTH em 50% é conhecido como o ponto médio ou 'set point'. Portanto, em situações de redução do Ca sérico há um aumento na secreção e síntese de PTH. A secreção ocorre via exocitose em segundos a minutos. Por outro lado, a síntese pode levar horas ou mesmo dias. O PTH age promovendo reabsorção de Ca e P do osso, reabsorção renal de Ca e excreção de P. Além disto, ele atua nas células do túbulo proximal estimulando a enzima 1α-hidroxilase para conversão do calcidiol em calcitriol, a forma ativa da vitamina D. Este, por sua vez, aumenta a absorção intestinal de Ca e P. Estes efeitos em conjunto têm por objetivo normalizar os níveis de Ca extracelular.

O inverso ocorre nos casos de aumento do Ca extracelular. Nesta situação, ocorre inibição da paratireóide por ativação dos receptores de Ca e diminuição da produção de PTH. O efeito é a diminuição da liberação de Ca do esqueleto, da reabsorção renal e da absorção intestinal restaurando os níveis de Ca para o normal. O

PTH é suprimido por diversas maneiras quando o Ca iônico extracelular está aumentado. Em situações agudas de aumento do Ca iônico extracelular, a concentração de Ca intracelular nas células da paratireóide aumenta, o que resulta em ativação de proteases nas vesículas secretórias e aumento da degradação do PTH (1-84) em fragmentos carboxi-terminais. O aumento do Ca intracelular também inibe a liberação de PTH estocado nas vesículas secretórias. Por outro lado, em situações de alteração de Ca por período prolongado, ocorre alteração na expressão do gene PTH e do número de células da paratireóide secretando PTH, diminuindo não somente a secreção, mas também a síntese do hormônio (2, 49).

O calcitriol é outro hormônio envolvido na regulação do Ca e do P. Este aumenta a absorção intestinal de ambos íons. No entanto, o efeito do calcitriol na excreção renal dos mesmos não está esclarecido. Apesar da controvérsia quanto aos efeitos do calcitriol na excreção renal de P, a administração crônica de calcitriol, por estimular a absorção intestinal de P, como também a síntese de FGF-23, termina por inibir a reabsorção tubular, levando à fosfatúria (50-52).

Mais recentemente, o FGF-23 tem sido considerado o principal regulador dos níveis séricos de P. O FGF-23 é sintetizado no osso por osteoblastos na fase madura e por osteócitos (53) e sua expressão é regulada pela ingestão de P e pelo calcitriol (52). O rim é o principal órgão no qual ele atua em conjunto com o co-fator Klotho, onde inibe o co-transportador NaPi2a e a enzima 1-α-hidroxilase no túbulo proximal, causando aumento da fosfaturia e diminuição da síntese de calcitriol (10).

1.2. Alterações do metabolismo mineral e ósseo na doença renal crônica

A perda de função renal e a progressão da doença renal causam um desequilíbrio na regulação do Ca e do P levando a alterações no metabolismo mineral e ósseo da DRC. Estas alterações são atualmente definidas como um conjunto de manifestações envolvendo uma ou mais das seguintes condições: alteração do metabolismo do Ca, P, PTH ou vitamina D; anormalidades na remodelação, mineralização, volume, crescimento ou resistência ósseas; e calcificação vascular ou de outros tecidos moles (54). Estas manifestações, conhecidas como DMO-DRC (distúrbio mineral e ósseo da Doença Renal Crônica), são altamente prevalentes nos pacientes com doença renal crônica e são associadas à maior morbidade e mortalidade (55-57).

As lesões ósseas resultantes do DMO-DRC são classicamente divididas em doenças de alto (lesões ósseas do hiperparatireoidismo secundário ou osteíte fibrosa e doença mista) e de baixo remanejamento ósseo (doença óssea adinâmica e osteomalácia) (58, 59).

O hiperparatireoidismo (HPT) secundário é uma conseqüência da doença renal crônica e caracteriza-se pela presença de níveis elevados de PTH e osteíte fibrosa. Os principais fatores envolvidos no seu desenvolvimento são hipocalcemia, retenção de P e deficiência de calcitriol (60-62). Com taxas de filtração glomerular em torno de 60 ml/min, aumento dos níveis séricos de PTH e diminuição dos níveis de calcitriol podem ser observados (63-65). No entanto, possivelmente estas alterações iniciam-se mais precocemente no curso da doença renal, uma vez que os níveis séricos de FGF-23 estão elevados mesmo antes da elevação do PTH ou P durante a progressão da DRC (66, 67).

O estímulo contínuo da paratireóide leva a um quadro severo do HPT, no qual hiperplasia e formação de nódulos monoclonais levam à refratariedade da glândula ao

tratamento clínico e indicação de paratireoidectomia (68-70). Nesta fase do HPT secundário observa-se diminuição da expressão dos receptores da vitamina D (VDR) e dos CaSR nas glândulas da paratireóide (71, 72).

A doença mista é caracterizada por apresentar níveis elevados de PTH e alta remodelação óssea associada com defeito de mineralização. Ela é particularmente prevalente nos pacientes em hemodiálise (HD), mas também está presente em pacientes com DRC estágios 3 a 5 e em pacientes tratados com diálise peritoneal (73).

Por outro lado, as doenças de baixo remanejamento ósseo, como a doença óssea adinâmica e a osteomalácia, cursam, em geral, com níveis séricos reduzidos de PTH em comparação ao observado nas doenças de alto remanejamento. A doença óssea adinâmica é, em muitos casos, associada a um balanço positivo de Ca. Este balanço ocorre pela administração de sais de Ca e calcitriol em altas doses, usados para o controle da hiperfosfatemia e para o tratamento do HPT secundário, respectivamente, além da transferência de Ca durante as sessões de diálise (59, 74-77). Outros fatores de risco associados com doença óssea adinâmica são idade e presença de diabete melito, além de fatores associados à uremia e ao próprio procedimento dialítico, como toxinas urêmicas, acidose metabólica, desnutrição, inflamação, toxicidade por alumínio, entre outros (76-79). A prevalência da doença óssea adinâmica varia nos diferentes estudos, principalmente por uma falta de uniformidade de diagnóstico e classificação, como também a sua presença varia conforme a população estudada. Nos estágios 3 a 5 da DRC, nos quais a terapia renal substitutiva não foi iniciada, a prevalência estimada é de 18%. Nos pacientes em HD, a prevalência de doença óssea adinâmica é de cerca de 19%, enquanto nos pacientes em diálise peritoneal cerca de 50% dos pacientes apresentam esta forma de doença óssea, conforme recente publicação do KDIGO-CKD-MBD (Kidney Disease Improving Global Outcomes for Chronic Kidney DiseaseMineral Bone Disorder) (73), o qual compilou a prevalência de doença óssea adinâmica em diferentes estudos.

A osteomalácia, pouco observada nos dias atuais, foi no passado uma alteração freqüente nos pacientes em HD. Ela se caracteriza por apresentar lesão óssea de baixa remodelação associada com defeito de mineralização. O principal fator associado ao desenvolvimento desta é a intoxicação por alumínio, cujas fontes são a água da diálise e o uso de quelantes de P contendo alumínio (59).

Perda de massa óssea e osteoporose também são frequentemente observadas nos pacientes com DRC estágios 3 a 5 como nos pacientes em diálise. Klawansky e colaboradores avaliaram 13831 adultos no The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994, e mostraram que 23% das mulheres adultas com DRC estágios 3 e 4 apresentavam osteoporose (80). Barreto e colaboradores realizaram biópsia óssea em 96 pacientes em HD e identificaram uma prevalência de 46% de osteoporose (81).

Como anteriormente mencionado, as lesões ósseas observadas nos pacientes com doença renal crônica são classicamente divididas em doenças de alto e de baixo remanejamento ósseo. A presença de doença óssea renal, independente do tipo, pode resultar em complicações como dor e deformidade óssea, dificuldade de deambulação e risco de fraturas (82, 83). Clinicamente, estas desordens são freqüentemente distinguidas pelos níveis séricos de PTH conforme sugerido pelo K/DOQI (Kidney Disease Outcomes Quality Initiative Clinical Practice Guidelines for Metabolism and Disease in Chronic Renal Disease). Níveis de PTH inferiores a 150 pg/ml são sugestivos de doença óssea adinâmica e níveis superiores a 300 pg/ml de doença de alta remodelação (84). No entanto, o valor diagnóstico do PTH como preditivo do tipo de doença óssea é limitado e questionável. Barreto e colaboradores observaram doença

óssea adinâmica em 15 de 40 pacientes em HD (37%) com níveis de PTH acima de 300 pg/ml (85). Níveis entre 100 e 500 pg/ml não parecem ser suficientemente sensíveis e específicos para o acurado diagnóstico. Biópsia óssea, procedimento padrão ouro para diagnóstico, continua útil e necessária em situações de incerteza para guiar a terapia (73, 86).

Outra complicação associada aos DMO-DRC é a presença de calcificação vascular, comum nos pacientes com DRC mesmo antes de iniciar um programa de terapia renal substitutiva. A presença de calcificação arterial encontrada foi de 40 a 60% na população de pacientes com DRC estágios 3 a 5. A severidade da calcificação na população com doença renal é maior comparada com indivíduos sem doença renal (87-91). Spiegel e colaboradores observaram que 57% dos pacientes que iniciavam diálise apresentavam calcificação vascular (92). Em pacientes em diálise a prevalência de calcificação vascular é de aproximadamente 60% a 100% em algumas séries, sugerindo que calcificação vascular apresenta carácter progressivo e aumenta drasticamente após iniciar terapia dialítica (93-96).

Há vários fatores de risco para calcificação vascular e sua progressão, incluindo tanto os fatores considerados tradicionais, como hipertensão arterial, dislipidemia, fumo, diabete e idade avançada, como fatores da própria uremia (97-99). Estes incluem anemia, DMO-DRC, inflamação crônica, estresse oxidativo, hiperhomocisteinemia, entre outros (100-108).

Os pacientes com DRC podem apresentar calcificação da camada média como também da camada íntima das artérias. A primeira resulta em maior rigidez e menor complacência do vaso, levando ao aumento da pressão de pulso e da velocidade da onda de pulso, o que pode contribuir para o desenvolvimento de hipertrofia ventricular esquerda e insuficiência cardíaca, além de causar menor perfusão coronariana,

disfunção autonômica e endotelial (109-112). A calcificação vascular é um processo ativo envolvendo as células da musculatura lisa vascular as quais apresentam transformação fenotípica adquirindo características dos osteoblastos (113-115). Este tipo de calcificação da camada média das artérias tem sido associado aos distúrbios do metabolismo mineral e ósseo e ocorre tanto nas doenças ósseas de alta como de baixa remodelação. Acredita-se que a maior disponibilidade dos íons Ca e P decorrente da reabsorção óssea na alta remodelação óssea ou a menor capacidade de tamponamento ósseo ou mineralização nas doenças de baixa remodelação estão associados à calcificação vascular.

Por outro lado, a calcificação de placas presentes na íntima das artérias, a chamada lesão aterosclerótica, está associada à isquemia crônica e fibrose miocárdica que favorecem a presença de arritmias, insuficiência cardíaca e morte súbita. A presença de ambos os tipos de calcificação arterial pode prever maior morbidade cardiovascular e menor sobrevida (93, 94, 109, 110, 116-120).

Na tentativa de prevenir e tratar as alterações do metabolismo mineral e ósseo, diversos protocolos recomendam uma série de estratégias terapêuticas incluindo o uso de quelantes de P para prevenir e tratar hiperfosfatemia, calcitriol e análogos e, mais recentemente, calcimiméticos para controle do HPT secundário (73, 74, 84, 121). No entanto, na prática clínica pouca atenção é dada à composição de Ca do dialisato. Idealmente, a concentração de Ca no dialisato (Cad) deveria proporcionar um balanço zero; contudo, não há um consenso sobre qual seria a concentração ideal.

1.3. Balanço do cálcio na doença renal crônica

1.3.1. Aspectos históricos

Na década de 60 e 70, época em que a HD foi introduzida como terapia de substituição da função renal, as maiores preocupações eram controlar os níveis séricos de P e de Ca com o objetivo de prevenir doença óssea e calcificação metastática em pacientes mantidos em diálise regular (122, 123). Nesta época, o quelante utilizado para o tratamento da hiperfosfatemia era o hidróxido de alumínio e Ca era suplementado com sais de Ca e pelo Ca do dialisato, visto que a absorção intestinal de Ca era considerada insuficiente nos pacientes com DRC (124). Apesar da Cad considerada adequada ser de 2,5 mEq/L, uma concentração similar aos níveis séricos de Ca ionizado e considerada suficiente para manter seus níveis dentro da normalidade (125), não parecia haver uma uniformidade nas concentrações em uso. Isto pode ser observado pelas diversas Cad usadas na época, que variavam de 2,5 a 4,5 mEq/L (1 mEq/L de Ca no dialisato = 2 mg/dl = 0,5 mmol/L) (126-132). Diversos estudos foram realizados na tentativa de avaliar a melhor Cad para os pacientes (Tabela 1).

Tabela 1. Estudos avaliando diferentes concentrações de cálcio no dialisato.

Autor/ano	N	Cad (mg/dl)	TMC (mg)*	Tipo de	Duração da
				Dialisador	Diálise (h)
Ogden/1966 (126)	NI	4,5	- 124	Kolff Twin coil	5
		5,5	0		
		7,0	426		
Wing/1968 (130)	NI	5,4	0	Kill padrão	12
		6,4	250		
		7,4	500		
Strong/1971 (131)	NI	5,9	0	Kill padrão	3 - 4
		6,9	91		
		7,9	254		
Skrabal/1975 (129)	3	6,0	72	Kolff Twin coil	8
		8,0	240		
Goldsmith/1971 (132)	5	5 a 6	96	Mini Kill	6
		7 a 8	756		

N: Tamanho da amostra; NI: Não informado; Cad: concentração de cálcio no dialisato; TMC: transferência de massa de cálcio; * média dos resultados; h: horas.

Nesta época, Cad inferiores a 3,0 mEq/L foram associadas a maior prevalência de hipocalcemia, hiperparatireodismo secundário e doença óssea renal. Assim, muitos autores propuseram aumentar o Ca no dialisato para 3,5 mEq/L com o objetivo de fornecer uma carga maior de Ca e suprimir a secreção de PTH (133-137). Como mencionado anteriormente, sais de alumínio eram os únicos quelantes de P empregados e, após o reconhecimento de sua toxicidade, quelantes com Ca passaram a ser utilizados para a maioria dos pacientes (138-142). No entanto, hipercalcemia começou a ser observada, especialmente quando se associava calcitriol (143). Consequentemente, no final da década de 80 e início da década de 90, grande parte dos nefrologistas

retornaram ao uso de Cad de 2,5 mEq/L. Esta mudança foi suportada por outros estudos que mostraram que o uso combinado de carbonato de Ca, calcitriol e Cad de 2,5 mEq/L eram efetivos para tratar o HPT secundário (144, 145).

Mais recentemente, sobrecarga de Ca, mesmo na ausência de hipercalcemia, foi associada à maior risco de calcificação vascular, doença óssea de baixa remodelação e mortalidade, aumentando a preocupação com o ganho de Ca pelos pacientes em diálise, seja do quelante ou do dialisato (95, 108, 146). Além disto, a associação de maior risco de mortalidade em pacientes com níveis mais elevados de Ca observado em estudo observacional reforçou esta idéia (57). Young e colaboradores analisando os resultados do primeiro Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS), envolvendo 307 centros de HD dos Estados Unidos, Europa e Japão, encontraram uma elevação de 13% no risco de mortalidade geral para cada aumento de 1 mEq/L de Ca no dialisato (147). No entanto, esta associação não foi observada por Kimata e colaboradores no DOPPS Japonês (148). Esta preocupação com a sobrecarga de Ca foi um dos pontos determinantes para a recomendação de uma concentração de 2,5 mEq/L de Ca no dialisato pelo K/DOQI para a maioria dos pacientes, exceto em situações específicas, quando este pode ser mais alto ou baixo (84). Por outro lado, o consenso realizado em Paris em 2000, o "Accord Workshop", recomendou o uso de uma concentração de 3,0 mEq/L para pacientes em uso de sais de Ca e calcitriol e de 3,5 mEq/L para os que não usavam calcitriol (149). Na prática clínica, o primeiro DOPPS mostrou que apenas 40% dos pacientes estavam em uso de uma Cad recomendada pelo K/DOQI. O uso de uma concentração de 2,5 mEq/L foi principalmente observada nos Estados Unidos com cerca de 64% dos pacientes dialisados nesta solução. Na Europa e Japão, apenas 24% e 20% estavam em uso de Cad de 2,5 mEq/L, respectivamente (147). Como pode ser observado, não há um consenso sobre a melhor Cad. Na realidade, as recomendações

foram principalmente baseadas em opinião de especialistas e de acordo com a situação clínica de cada época, mais do que em evidências. Portanto, não é possível concluir se existe uma concentração ideal de Ca no dialisato que possa ser recomendada para todos os pacientes em HD. Isto vem de acordo com a mais recente recomendação do KDIGO-CKD-MBD que sugere o uso de Cad de 2,5 ou 3,0 mEq/L (73). Provavelmente, a prescrição do dialisato deve ser individualizada e o balanço ideal de Ca para um paciente com DRC em terapia renal substitutiva deve ser neutro, ou seja, nem negativo, para evitar o HPT secundário, tampouco positivo, hoje claramente associado à doença óssea de baixa remodelação e calcificações vasculares.

Estudos avaliando o impacto da escolha da Cad nas diferentes doenças ósseas, na calcificação vascular e na mortalidade são necessários para responder a questão de qual concentração é mais efetiva e segura.

1.3.2. Balanço de cálcio na hemodiálise

Como anteriormente mencionado, a perda progressiva da função renal acarreta alterações da regulação normal do Ca, P, vitamina D e PTH. Retenção de P, hipocalcemia, níveis elevados de PTH e deficiência de vitamina D, em especial calcitriol, são fatores associados com o desenvolvimento do HPT secundário (59, 60). Hipocalcemia é um importante estímulo da paratireóide. Níveis elevados de P causam redução dos níveis de Ca de forma direta e indireta, via inibição da enzima 1α-hidroxilase renal, resultando em supressão da conversão do calcidiol para calcitriol. Esta redução dos níveis de calcitriol leva à diminuição da absorção intestinal de Ca contribuindo para a hjpocalcemia (150). Com a progressão da doença renal para os

estágios finais e necessidade de terapia renal substitutiva, estas anormalidades se acentuam com progressiva piora da doença óssea e calcificação vascular.

Embora hipocalcemia seja observada na evolução natural da DRC, a maioria dos pacientes em HD apresenta balanço positivo de Ca (151, 152). Ao contrário dos indivíduos normais, nos quais a dieta é a principal fonte de Ca, os pacientes em diálise recebem uma grande quantidade de sais de Ca como quelantes de P, enquanto a dieta contribui em menor proporção. Calcitriol, usado para o tratamento do HPT secundário, aumenta absorção intestinal de Ca e P, contribuindo para o aumento dos seus níveis séricos. Como os pacientes com DRC têm pouca ou nenhuma função renal residual, acabam recebendo uma sobrecarga de Ca por falta de excreção.

1.3.3. Efeito da concentração de cálcio do dialisato na transferência de cálcio durante hemodiálise

Durante o procedimento dialítico, os pacientes podem apresentar balanço de Ca positivo, neutro ou negativo, dependendo da ingestão e da Cad. A transferência de Ca entre o sangue e a solução de diálise ocorre por processos de difusão e ultrafiltração. Não é possível avaliar nos estudos a contribuição relativa de cada processo. Considerase a difusão o processo mais importante, e este depende da diferença de concentração entre o Ca sérico ultrafiltrável e o dialisato. Goldsmith e colaboradores demonstraram que o ganho de Ca era dependente da diferença de concentração entre o compartimento sanguíneo e o dialisato (153). Recentemente, Sigrist e colaboradores avaliaram 52 pacientes em HD com uma concentração fixa de Ca no dialisato de 2,5 mEq/L e também observaram uma correlação positiva entre o fluxo de Ca e o gradiente de Ca entre o sangue e o dialisato, ou seja, a remoção de Ca durante a diálise correlacionou-se

com a concentração sérica de Ca iônico pré-diálise e não com a ultrafiltração, sugerindo que o processo de difusão predomina na transferência de Ca (152). Por outro lado, a ultrafiltração pode promover uma perda de Ca por convecção. Esta perda poderia, teoricamente, ultrapassar o ganho de Ca por difusão. São poucos os estudos que avaliaram a transferência de Ca em modalidades de diálise com técnicas convectivas como hemodiafiltração e hemofiltração. Argiles e colaboradores compararam balanço de Ca em 14 pacientes divididos entre as Cad de 2,5 e 3,0 mEq/L e demonstraram um balanço de Ca negativo com a concentração de 2,5 mEq/L e neutro para 3,0 mEq/L. No entanto, a massa transferida de Ca não foi calculada, sendo os resultados baseados na diferença de concentração de Ca entre os dialisatos inicial e final. Eles tampouco avaliaram o impacto da ultrafiltração na transferência de Ca (154).

Há poucos estudos avaliando transferência de Ca durante HD e alguns destes realizados nas décadas de 60 e 70 (Tabela 1). No entanto, estes estudos se caracterizam por apresentarem uma série de diferenças metodológicos que torna a sua comparação um tanto difícil, e todos apresentavam uma amostra pequena de pacientes (126-132). Avanços tecnológicos tornaram o procedimento de HD atual muito diferente do passado, tanto em relação às maquinas de diálise e tipos de filtros de diálise como ao tempo e freqüência das sessões, fluxos de sangue e dialisato, tratamento da água, entre outros aspectos. Portanto, considerar aqueles resultados não parece muito adequado para a prática atual. O estudo clássico de Hou e colaboradores, realizado no início da década de 90, avaliou a transferência de Ca durante a HD em 7 pacientes, demonstrando um ganho de aproximadamente 879 mg desse elemento quando a concentração do dialisato era 3,5 mEq/L e de 216 mg com dialisato contendo 2,5 mEq/L, ocorrendo perda de 231 mg quando o dialisato continha 1,5 mEq/L (155). Outros autores observaram tanto

perda de Ca ou balanço próximo a neutralidade quando a concentração era de 2,5 mEq/L (Tabela 2).

Tabela 2. Estudos de transferência de massa de Ca

Autor/ano	N	Cad	TMC (mg)	Tipo de diálise	Duração da
		(mg/dl)			Diálise (h)
Hou/1991 (155)	7	3,0	- 231 ± 40	HD	4
		5,0	216 ± 136		
		7,0	879 ± 92		
Fernandez/1995 (156)	10	5,0	- 201,6	HD	4
Fabrizi/1996 (157)	6	5,0	$-5,6 \pm 37$	HD	3
		7,0	309 ± 53		
Argiles/1993* (154)	9	5,0	Neutro	HDF (2 sessões) e	
		6,0	Ganho	HD (1 sessão)	
		7,0	Ganho		
Sigrist/2006 (152)	52	5,0	- 187 ± 232	HD	4

N: Tamanho da amostra; TMC: Transferência de massa de cálcio, média ± desvio padrão; *Não calcula a transferência de massa de cálcio. Resultados concluídos por subtrair a concentração de cálcio inicial da final; HD: Hemodiálise; HDF: Hemodiafiltração.

Apesar dos estudos apresentarem uma série de limitações, com resultados muitas vezes discordantes e da dificuldade de uma análise comparativa, seja por diferenças metodológicas ou por amostras pequenas de pacientes, é aceito na comunidade nefrológica que o uso de Cad de 2,5 mEq/L acarreta perda de Ca na maioria dos pacientes; com 3,0 mEq/L não há transferência significativa de Ca e com concentração elevada de 3,5 mEq/L resulta em ganho deste elemento. Conclui-se também que a transferência de Ca ocorre por difusão e depende do gradiente de Ca entre sangue e dialisato. Outros fatores que poderiam influenciar a transferência de Ca durante a HD não foram estudados até o momento (158).

1.4. Impacto clínico e laboratorial das diferentes concentrações de cálcio do dialisato

A transferência de Ca durante a diálise pode ter consequências a curto e a longoprazo. Os efeitos durante ou imediatamente após a HD são basicamente hemodinâmicos com impacto na função cardíaca e tônus vascular. A longo prazo, a modulação do balanço de Ca associada a outras alterações da uremia e do próprio tratamento podem contribuir no desenvolvimento e progressão da doença óssea e calcificação cardiovascular.

1.4.1. Impacto no sistema cardiovascular

Hipotensão arterial é uma das complicações intradialíticas mais comuns. A principal causa é a remoção excessiva de volume; no entanto, o uso de baixas concentrações de Ca no dialisato também é um fator associado. A hipotensão ocorre principalmente em consequência à inadequada resposta vasoconstritora periférica e contratilidade cardíaca dos pacientes durante a diálise (159). Episódios repetitivos de instabilidade hemodinâmica são fator de risco para a chamada insuficiência cardíaca associada à diálise.

O Ca iônico é fundamental para o processo contrátil da célula muscular lisa vascular e cardíaca resultando em vaso-constrição arterial e contratilidade cardíaca, respectivamente. A Cad pode afetar a pressão arterial por alterar a resistência vascular periférica, contratilidade cardíaca ou ambos (160-163). Vários estudos demonstraram a

influência da Cad na pressão arterial. Fellner e colaboradores estudaram 8 pacientes em HD com Cad no dialisato variando de 1 a 5 mEq/L e demonstraram que a pressão arterial altera-se nos diferentes níveis de Ca e é mais baixa quanto menor a concentração deste íon. Eles sugeriram que o Ca mais alto causava um aumento do débito cardíaco e maior estabilidade hemodinâmica (164). Outros autores também demonstraram que concentrações mais baixas em Ca estão associadas com maior risco de hipotensão arterial e concentrações mais elevadas mantém a pressão arterial mais estável durante a diálise independente da função cardíaca (165-168), tanto que o guia Europeu de tratamento da hipotensão intradialítica recomendou o uso de Cad de 3,5 mEq/L (169). Kiriazis e colaboradores avaliaram o uso de um perfil de Ca durante a diálise, usando Cad mais baixas, como 2,5 mEq/L, nas primeiras 2 horas da sessão de HD e uma Cad mais elevada de 3,5 mEq/L nas últimas 2 horas, período de maior instabilidade hemodinâmica, e observaram melhor estabilidade hemodinâmica comparado às sessões com uma única Cad, seja de 2,5 ou 3,0 mEq/L (170).

Além do impacto na pressão arterial, diferentes Cad podem também afetar a repolarização ventricular e ser um fator de risco para arritmias. Recentemente Genovesi e colaboradores avaliaram 16 pacientes em HD randomizados para seis diferentes combinações de dialisato em relação a Cad (2,5, 3,0 e 3,5 mEq/L) e potássio (2 e 3 mmol/L). Aumento do intervalo QT foi observado em Cad de 2,5 mEq/L e o oposto na Cad de 3,5 mEq/L (171). Alterações eletrocardiográficas são comum nos pacientes em HD (172) e a Cad pode ter um papel nestas alterações.

1.4.2. Impacto na calcificação vascular

Sobrecarga de Ca com ou sem hipercalcemia é um dos fatores de risco associado com calcificação vascular. Chertow e colaboradores e Block e colaboradores demonstraram em estudos clínicos que o uso de quelantes de fósforo contendo cálcio aumentou a progressão de calcificação da aorta e das artérias coronárias em pacientes prevalentes e incidentes em HD, respectivamente (108, 146). O ganho de Ca durante a diálise por uso de soluções de diálise com altas concentrações deste elemento poderia teoricamente ser mais um fator de risco para calcificação vascular. Kyriazis e colaboradores demonstraram aumento da complacência arterial e redução da pressão de pulso após 4 sessões de HD com Cad de 2,5 mEq/L comparado com soluções de 3,5 mEq/L (173). Recentemente, este mesmo grupo demonstrou aumento significativo da pressão de pulso em 14 pacientes durante sessões de HD com Cad de 3,5 mEq/L comparado com o uso de concentração de 2,5 mEq/L, sugerindo que a Cad afeta o sistema vascular durante a diálise (174). A presença de calcificação arterial associa-se com perda da complacência arterial conforme demonstrado por medidas da velocidade de onda de pulso (175). No entanto, estes estudos foram de curta duração e não foram realizados exames de imagem para avaliação de presença de calcificação arterial, não sendo possível concluir se a longo prazo o uso de dialisato com concentrações mais elevadas de Ca pode ou não contribuir para calcificação vascular.

A questão se o uso repetitivo de alta Cad pode ser um risco para calcificação vascular, embora atraente, ainda não está definida. Yamada e colaboradores avaliaram presença de calcificação da aorta por tomografia computadorizada abdominal no início do estudo e após 3 anos em 71 pacientes em HD com uma Cad de 3,0 mEq/L. Eles observaram progressão da calcificação arterial e esta foi associada com níveis séricos de

proteína C reativa e aumento do Ca sérico durante HD. Os autores propuseram que a Cad pode ser um fator de risco para calcificação vascular sugerido pelo aumento do Ca sérico durante as sessões com a Cad de 3,0 mEq\L (176). Young e colaboradores, avaliando os resultados do estudo DOPPS observaram um risco aumentado de 13% para cada aumento de 1 mEq/L no Ca do dialisato na mortalidade geral (147). No entanto, recentemente Hwang e colaboradores avaliaram prospectivamente 299 pacientes em HD randomizados para as Cad de 2,5, 3,0 ou 3,5 mEq/L por 5 anos e não encontraram diferenças na mortalidade em análise multivarada (177). Até o momento não é possível concluir o real impacto das diferentes concentrações de Ca no sistema vascular e mortalidade nos pacientes em diálise.

1.4.3. Impacto no metabolismo mineral e ósseo

Desde o início da terapia dialítica, há interesse na dinâmica do Ca e do PTH durante a diálise com diferentes Cad. Em estudos que avaliaram Cad de 2,5 mEq/L, os níveis séricos de PTH e de Ca iônico, em geral, não alteraram significativamente durante as sessões de HD (157, 178). Fernandez e colaboradores observaram um aumento dos níveis do PTH nos primeiros 30 minutos da sessão de diálise e posterior redução para níveis pré-HD (156). Por outro lado, Cad de 3,5 mEq/L favoreceram aumento dos níveis de Ca sérico com redução dos níveis de PTH intacto (157, 178).

Diversos são os estudos avaliando o impacto a longo-prazo da Cad no metabolismo mineral e na doença óssea, utilizando marcadores séricos de remodelação óssea em substituíção da biópsia óssea. Fernandez e colaboradores, após período de 12 meses de observação, observaram agravamento do HPT com aumentos dos níveis de PTH com o uso de Cad de 2,5 mEq/L, apesar da não ocorrência de alterações do Ca ou

aumentos agudos do hormônio durante as sessões de diálise (156). Por outro lado, Slatopolsky e colaboradores observaram uma leve redução dos níveis de PTH na Cad de 2,5 mEq/L quando os pacientes eram tratados com carbonato de Ca e calcitriol (144). No entanto, diferenças metodológicas podem explicar estas discrepâncias. Tanto o Ca sérico foi mais elevado como o tempo de observação foi de seis meses no estudo de Slatopolsky, enquanto no estudo de Fernandez o Ca foi mais baixo e o seguimento foi de 12 meses. Neste último, em seis meses os autores também não observaram variação do PTH. Mais recentemente, Hwang e colaboradores avaliaram prospectivamente, por cinco anos, 299 pacientes prevalentes em HD randomizados para diálise com Cad de 2,5, 3,0 ou 3,5 mEq/L. No final do período de seguimento, os autores observaram níveis mais elevados de PTH apenas no grupo dialisado com Cad de 2,5 meq/L. Embora a média final do Ca sérico foi menor neste grupo, não houve diferença estatística comparado aos grupos com Cad de 3,0 e 3,5 mEq/L (177). Foi sugerido que o aumento observado nos níveis de PTH ocorreu devido à estimulação repetitiva da glândula. Esta estimulação seria resultado de um balanço negativo de Ca associado à redução não significativa ou detectável dos níveis séricos de Ca. Como observado no estudo de Fernandez e colaboradores, o PTH aumentou nos primeiros 30 minutos e este aumento poderia ter causado mobilização de Ca do osso normalizando a calcemia (156). Este processo ocorrendo de forma repetitiva poderia resultar na piora do HPT secundário a longo-prazo.

Por outro lado, pacientes com doença de baixa remodelação podem se beneficiar do uso de concentrações mais baixas em Ca por estimular remodelação óssea. Fiedler e colaboradores analisaram prospectivamente pacientes em HD com marcadores bioquímicos de remodelação óssea sugestivos de doença de baixa remodelação. A Cad destes pacientes foi reduzido de 3,5 mEq/L para 2,5 mEq/L e foi observado aumento

dos níveis de PTH, piridinolina e fosfatase alcalina fração óssea (178). De forma similar, Hamano e colaboradores revisaram 67 pacientes cuja Cad foi alterada de 3,0 mEq/L para 2,5 mEq/L e também observaram aumento dos níveis de PTH. No subgrupo de pacientes com PTH inferior a 100 pg/ml houve melhora dos parâmetros associados à doença óssea adinâmica e, no subgrupo com PTH superior a 300 pg/ml, foi possível aumentar a dose de vitamina D sem hipercalcemia com controle dos níveis de PTH (179).

A forma como a Cad pode influenciar a secreção de PTH foi avaliada em diversos estudos. É conhecido que redução dos níveis séricos de Ca estimula a paratireóide e que a hipercalcemia suprime a secreção. Pacientes com DRC apresentam alteração na função das paratireóides com mudança no ponto de controle (set-point) para a secreção de PTH, ou seja, da sensibilidade da paratireóide ao Ca sérico (180, 181). Felsenfeld e colaboradores compararam a função das paratireóides em pacientes com diferentes tipos de remodelação óssea. Pacientes com HPT secundário apresentaram um desvio do "set-point" e da curva Ca-PTH para a direita quando comparados aos com doenças de baixo remanejamento, sugerindo maior sensibilidade da paratireóide em resposta a reduções do Ca extracelular (183). Desta forma, balanço negativo de Ca durante as sessões de HD poderia provocar reduções transitórias do Ca sérico, com consequente estimulação das paratireóides. Como resultado desta estimulação e maior sensibilidade da paratireóide, ocorreria um aumento da secreção de PTH e mobilização de Ca dos ossos mantendo o Ca sérico normal. Por outro lado, pacientes com HPT secundário que recebem infusão endovenosa de gluconato de Ca apresentam níveis de Ca menores que indivíduos normais ou pacientes com doença adinâmica, sugerindo uma maior capacidade de tamponamento do Ca extracelular pelo osso (183). Na doença óssea adinâmica, o comportamento nas variações da calcemia e

da massa transferida de Ca ainda não está elucidado. Lafage-Proust e colaboradores observaram níveis de Ca sérico maiores em pacientes com doença de baixo remanejamento após infusão de cloreto de Ca, comparados a pacientes com histologia óssea normal ou com HPT secundário, confirmando uma menor capacidade de tamponamento do Ca pelo osso nesses pacientes (184). Embora estes estudos avaliassem a resposta da paratireóide e as variações da calcemia em diferentes tipos de remodelação óssea por indução de hiper ou hipocalcemia, até recentemente nenhum estudo avaliou se a remodelação óssea modifica a transferência de Ca durante a HD.

Recentemente Gotch e colaboradores formularam uma hipótese de que, durante a diálise, Ca poderia ser liberado ou captado por um compartimento de troca rápida de Ca, provavelmente situado na superfície óssea, conforme ocorresse perda ou ganho de Ca durante a sessão, respectivamente (185). Isto foi sugerido pela observação de estudos de transferência de Ca durante HD nos quais os níveis séricos de Ca dos pacientes não entraram em equilíbrio com o do dialisato. Desta forma seria possível preconizar que durante a diálise a liberação ou captação de Ca pelo osso poderia influenciar a transferência de Ca. No entanto, diante dos dados atuais, ainda não é possível afirmar se a transferência de Ca na HD pode ser influenciada pelo remanejamento ósseo.

1.5. Balanço de fósforo na hemodiálise

A manutenção de níveis séricos adequados de P é um desafio constante para os profissionais da saúde ligados à nefrologia como para os pacientes. Retenção de P e hiperfosfatemia são comumente presentes nos pacientes com DRC e são fatores envolvidos na patogênese do HPT secundário e calcificação extra-óssea (60, 147, 186,

187). Níveis elevados de P também são associados à maior mortalidade nos pacientes em diálise (57).

As condutas recomendadas para prevenir e tratar a retenção de P e hiperfosfatemia incluem restrição de P na dieta, uso de quelantes de P e diálise. Restrição de P na dieta em geral não é suficiente para manter os níveis séricos de P dentro dos limites-alvo recomendados pelo K/DOQI (3,5 a 5,5 mg/dl) e KDIGO (limites da normalidade) (73, 84). As maiores dificuldades da dieta são a aderência e o risco de uma restrição de proteína que resulte em desnutrição. A quantidade recomendada de P na dieta é de cerca de 800 a 1000 mg/dia. Os quelantes são prescritos com o objetivo de reduzir a absorção intestinal de P oriundo da dieta. Os mais usados são os sais de Ca e o sevelamer. Outros quelantes mais recentes são o carbonato de lantânio e os compostos de ferro. Hidróxido de alumínio é um potente quelante, mas foi praticamente abandonado na prática clínica por sua toxicidade.

A HD remove P por difusão e convecção, mas em geral de forma insuficiente para manter um balanço neutro. A remoção de P durante HD convencional de 4 horas é de aproximadamente 800 a 1000 mg por sessão (155, 188). Considerando que a maioria dos pacientes realiza três sessões de HD na semana, aproximadamente 2400 a 3000 mg de P é removido. Como anteriormente mencionado, 60 a 70% do P presente na dieta é absorvido no intestino. Portanto, em uma dieta de 800 a 1000 mg de P, cerca de 480 a 700 mg seria absorvido diariamente. Calculando o ganho semanal, este pode ser superior a 3300 mg. Desta forma, a quantidade semanal removida de P é, em geral, insuficiente para manter um balanço neutro deste elemento. A limitação para a remoção do excesso de P durante o procedimento dialítico se deve principalmente a sua cinética entre os compartimentos intra e extracelular. A remoção de P ocorre principalmente nos primeiros 60 a 90 minutos da sessão, decaindo a seguir (189). A redução dos níveis

séricos do P resulta em menor gradiente de concentração entre o sangue e o dialisato durante o procedimento lentificando sua remoção. Isto se deve ao fato do P estar presente em grande quantidade no compartimento intracelular e, à medida que o P é removido do sangue para o dialisato, há uma transferência de P do intracelular para o compartimento sanguíneo, no entanto de forma mais lenta do que sua remoção pela diálise. Após algumas horas do término da sessão de HD, observa-se um efeito rebote nos níveis séricos de P, com elevação do mesmo para níveis similares ou mesmo maiores do que no início da diálise (190).

Diversas condutas foram avaliadas para aumentar a eficiência da diálise em remover P incluindo diferentes dialisadores, outras modalidades de diálise, aumento da eficiência por alteração do fluxo de sangue, aumento no tempo de tratamento e na frequência (191-197). Chauveau e colaboradores e Katopodis e colaboradores não identificaram diferença na remoção de P com diferentes tipos de dialisadores (193, 198). Sessões de diálises mais prolongadas podem resultar em maior remoção total de P (199). Outras medidas como alteração no fluxo sanguineo e do dialisato e mesmo ultrafiltração não mostraram ser efetivas (200, 201). A conduta mais efetiva em manter níveis séricos adequados de P é aumentar a frequência das sessões de HD como observado nas modalidades de HD noturna e diária (202-205).

O principal fator determinante da quantidade de P removido é o seu nível sérico no início da HD. No entanto, outros fatores podem influenciar a sua remoção. Recentemente, Albalate e colaboradores analisaram parâmetros envolvidos na remodelação óssea e na transferência de P em pacientes em HD. Estes autores observaram remoção de P determinada pela sua concentração sérica, mas esta remoção foi incrementada quando a razão PTH/osteoprotegerina era alta. Isto sugere que, quando a reabsorção óssea é mais intensa, mais P é liberado do tecido ósseo elevando a

concentração sérica e facilitando sua remoção durante HD. O bicarbonato sérico maior que 20 mEq/l também favoreceu a remoção. Por outro lado, uma menor remoção foi associada com a idade e uso de calcitriol (206). Especulando os resultados observados por Albalate, é possível que fatores hormonais e o estado de remodelação óssea, assim como variações no pH, influenciem não apenas a transferência de P, mas também a de Ca entre sangue e dialisato.

2. JUSTIFICATIVA

A concentração ideal de Ca no dialisato ainda está em discussão nos dias atuais. Se uma concentração de 2.5 mEq/L deve ser adotada na prática clínica para a maioria dos pacientes não está claro. Nestas circunstâncias, a perda de Ca na HD pode provocar um balanço negativo desse elemento, desenvolvimento de HPT, desmineralização e perda de massa óssea. Por outro lado, concentrações mais altas de Ca no dialisato causam uma sobrecarga do mesmo, favorecendo doença adinâmica, calcificação extra-óssea e maior mortalidade. Provavelmente, a escolha da Cad deve ser individualizada para cada paciente na dependência de sua situação clínica e tratamento vigente incluindo o quelante de P, calcitriol ou análogo, calcimimético e paractireoidectomia.

A transferência de Ca e P durante HD afeta o balanço mineral e ósseo. Por outro lado, o remanejamento ósseo e a interação complexa de fatores regulatórios ou envolvidos no metabolismo ósseo poderiam hipoteticamente influenciar a transferência de Ca e P na HD. Quais fatores que influenciam a transferência de Ca e P entre paciente e dialisato ainda não estão claramente definidos.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Este estudo teve por objetivo avaliar os fatores que influenciam a transferência de Ca e P durante HD e o papel da remodelação óssea nessa transferência.

3.2. Objetivos específicos

- 3.2.1. Avaliar a transferência de cálcio em diferentes concentrações de cálcio no dialisato;
- 3.2.2. Estabeler os fatores envolvidos na transferência de cálcio durante a hemodiálise;
- 3.2.3. Avaliar a contribuíção da remodelação óssea na transferência de cálcio durante a hemodiálise;
 - 3.2.4. Avaliar a remoção de fósforo durante a hemodiálise;
 - 3.2.5. Estabeler os fatores envolvidos na transferência de fósforo;
- 3.2.6. Avaliar a contribuíção da remodelação óssea na transferência de fósforo durante a hemodiálise.

4. MÉTODOS

4.1. Amostra

A amostra foi composta de 55 pacientes com DRC estágio 5 em tratamento de HD na Unidade de Hemodiálise do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (USP). Destes, 23 pacientes preencheram os critérios de inclusão e aceitaram participar do estudo. Os demais 27 pacientes foram excluídos por sorologia positiva para HCV, HD diária, patologia maligna associada com hipercalcemia (mieloma múltiplo) ou paratireoidectomia prévia. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) desta instituição (número SISNEP 038.0.015.000-06).

4.2. Critérios de inclusão

Idade superior a 18 anos, tempo mínimo em HD de 3 meses, consentimento em participar no estudo.

4.3. Critérios de exclusão

Infecção ou inflamação ativa, doença maligna, instabilidade hemodinâmica como síndrome coronariana aguda, insuficiência cardíaca ou outra que causasse alteração na pressão arterial, patologias que causassem hipercalcemia não relacionada à distúrbios do metabolismo mineral da DRC, paratireoidectomia prévia, uso de corticóide ou anticonvulsivos.

4.4. Tratamento de hemodiálise

Cada paciente realizou uma sessão de HD com cada uma das quatro Cad, ou seja: 2,0 mEq/L, 2,5 mEq/L, 3,0 mEq/L e 3,5 mEq/L. As sessões foram consecutivas e a Cad era sorteada de forma aleatória para cada paciente antes da sessão de HD.

As sessões de HD apresentaram duração de 4 horas com fluxo sanguíneo e do dialisato de 350 ml/min. O equipamento utilizado foi do sistema Genius® (Fresenius Medical Care) e o dialisador foi o FX 60 (dialisador de alto fluxo, uma nova membrana de polissulfona, Helixone®, com área de superfície de 1.4 m² e coeficiente de ultrafiltração de 46 ml/h.mmHg). Heparina foi empregada como anticoagulante. Os demais constituintes da solução de diálise foram sódio (138 mEq/L), potássio (2 mEq/L), bicarbonato (35 mEq/L), magnésio (1 mEq/L) e glicose (90 g/L). A taxa de ultrafiltração foi ajustada para o peso seco estimado do paciente e não foi realizado perfil de sódio ou de ultrafiltração.

4.5. Variáveis clínicas

Sexo, idade, etiologia da DRC, tempo em diálise, transplante renal prévio e uso de quelante intestinal de P e/ou análogos da vitamina D foram coletados dos dados dos prontuários médicos e por questionamento dos pacientes.

Pressão arterial e frequência cardíaca foram verificadas imediatamente antes e a cada 30 minutos da sessão de HD. A verificação da pressão arterial foi realizada no braço contralateral da fístula artério-venosa do paciente e frequência cardíaca por ausculta cardíaca. Sintomas intradialíticos como náusea, vômitos, câimbras, palpitação,

cefaléia e dor foram registrados, assim como a necessidade de reposição de solução salina ou medicações outras. Cada paciente teve seu peso averiguado no início e no final de cada sessão. A variação do peso corporal de cada paciente em cada sessão de HD foi calculada subtraindo o peso no final da diálise pelo peso inicial.

4.6. Variáveis laboratoriais

4.6.1. Amostras de sangue

As amostras de sangue para determinação de Ca iônico (Cai), PTH fração intacta (PTH) e P foram coletadas no início e a cada 30 minutos da sessão de HD.

As amostras de sangue para dosagem de Ca total (Ca T), albumina (alb), proteína total (PT), sódio (Na), magnésio (Mg), uréia (Ur), bicarbonato e pH foram coletadas no início e a cada hora da sessão de HD. Amostras de sangue para dosagem de marcadores de remodelação óssea como deoxipiridinolina (DPG), fosfatase alcalina fração óssea (FAO), osteoprotegerina (OPG) e osteocalcina (OC) foram coletadas no início do estudo e estocadas à - 20°C para futura análise. Todas as amostras de sangue foram coletadas na linha arterial do sistema de diálise.

Os exames bioquímicos como Ca T [valor referência (vr): 8,8 – 10,5 mg/dl], P (vr: 2,3 – 4,6 mg/dl), Mg (vr: 1,58 – 2,55 mg/dl) e Ur (vr: 10-50 mg/dl) foram analisados pelo aparelho Auto Analyser (Cobas-Integra; Roche Diagnostics, Mannhein, Alemanha). Cai (vr: 1,11 – 1,40 mmol/L), Na (vr: 135 – 145 mEq/L), pH (vr: 7,35 – 7,45) e bicarbonato (vr: 25 – 30 mEq/L) foram medidos por eletrodos íon seletivo. Proteína total (vr: 6,6 – 8,7 g/dl) e albumina (vr: 3,4 – 4,8 g/dl) foram determinados por método colorimétrico. PTH (vr: 10 – 87 pg/ml) foi analisado por quimioluminescência

(IMMULITE 2000, DPC; Medlab, San Antonio, Texas). Para determinação dos marcadores de remodelação óssea foram usados ensaios específicos: enzyme immunoassay para FAO (vr: 11,6 – 42,7 U/L) (Metra Biosystem Inc., Mountain View, CA, USA), para DPG (vr: 3,25 ± 0,66 mmol/L) (Quidel Corporation, San Diego, CA, USA), para OC intacta (vr: 3,7 – 10 ng/ml) e para OPG (vr – mediana – 36 pg/ml) (Biomédica Gruppe, Wien, Áustria).

Taxa de redução de uréia e Kt/V foram calculados dos níveis séricos de uréia pré e pós diálise como controle da dose de diálise usando as seguintes fórmulas (207):

URR(%) = [(pré-HD Ur - pós-HD Ur)/pré-HD Ur] * 100

 $Kt/V = -\ln (R - 0.008 \times t) + (4 - 3.5 \times R) \times Uf/Pf$

URR = taxa de redução de uréia;

HD = hemodiálise;

Ur = uréia;

R = uréia pós HD/uréia pré HD;

T = tempo da sessão de HD;

Uf = taxa de ultrafiltração;

Pf = Peso corporal no final da HD.

Gradiente de cálcio foi calculado multiplicando o Ca total por 0,58 resultando em um valor aproximado do Ca ultrafiltrável (Ca iônico + complexado).

4.6.2. Amostras do dialisato

As amostras de solução de diálise para dosagem de Ca T e P foram coletadas na entrada do filtro de diálise e no dialisato total final (dialisato final + ultrafiltrado) no início e final da sessão de HD, respectivamente.

4.7. Determinação da transferência de cálcio e remoção de fósforo

A quantidade transferida de Ca e P foi calculada com o auxílio das seguintes fórmulas (152):

Massa removida de cálcio = (Vd total x Cad final) – [(Vd total – Vuf) x Cad inicial)] x 10

Massa removida de fósforo = Concentração de P x Vd total

Onde,

Vuf= volume do ultrafiltrado (L);

Vd total = volume do dialisato final + Vuf (L);

Cad= concentração de Ca do dialisato (mmol/L).

A perda de Ca durante a diálise foi expressa como um número negativo, enquanto o ganho como um número positivo.

4.8. Determinação da remodelação óssea de acordo com os níveis séricos de PTH

Para analisar a participação do PTH na transferência de Ca e na remoção de P, os pacientes foram divididos em dois grupos de acordo com os níveis de PTH, ou seja PTH

≤ 300 pg/ml e PTH > 300 pg/ml (84). O grupo de pacientes com níveis de PTH ≤ 300 pg/ml foi considerado apresentar remodelação óssea normal ou baixa, enquanto o grupo com PTH > 300 pg/ml alta remodelação.

4.9. Comissão de Ética

O projeto foi desenvolvido em acordo com as normas éticas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e previamente autorizado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) sob nº de protocolo 1250/06.

4.10. Análise estatística

As variáveis contínuas foram testadas quanto à sua distribuição normal através do teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão, quando a distribuíção dos dados analisados era normal, e mediana (valor mínimo e máximo), quando a distribuíção não era normal.

Comparações entre grupos foram obtidas com o *teste t não pareado* para variáveis com distribuição normal e o teste não paramétrico *Mann-Whitney* para os sem distribuição gaussiana. Para comparações dentro do mesmo grupo usou-se o *teste t pareado* e o *teste de Wilcoxon* para amostras com e sem distribuição normal, respectivamente.

Para comparações entre mais de dois grupos (amostras independentes) foram utilizadas análise de variância (ANOVA) com *pós-teste modificado de Tukey* para as variáveis com distribuição normal e o *teste não-paramétrico Kruskal-Wallis* e o *teste de Dunn* para as variáveis sem distribuição normal. Para comparação de 3 ou mais

variáveis dentro do mesmo grupo utilizou-se o ANOVA para medidas repetidas com pós-teste de Tukey se distribuição normal e o teste de Friedmann com complemento do teste de Dunns para as sem distribuição normal.

Fatores clínicos, bioquímicos e dialíticos como variáveis contínuas que poderiam estar associados com a transferência de Ca ou a remoção de P foram avaliados inicialmente por testes de correlação de *Spearman* e *Pearson* (de acordo com a normalidade). Para as análises envolvendo transferência de Ca (balanço de Ca) e remoção de P durante HD como variáveis dependentes foram usados os modelos de regressão linear tipo *enter* e *stepwise*. As variáveis independentes com valor P < 0.1 na correlação entraram como variáveis independentes. Como o estudo envolveu medidas repetidas no mesmo sujeito, modelo linear para medidas repetidas foi realizado para determinar se remodelação óssea estimada pelos níveis de PTH poderia ser um fator determinante da transferência de Ca. Nos modelos acima descritos, PTH foi analisado como variável contínua e como variável categórica como marcador de remodelação óssea (ítem 4.8 e descrito nos resultados).

Significância estatística foi considerada quando P < 0.05.

Os programas usados na análise dos dados foram o GraphPad Prism versão 4.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) e o SPSS para Windows versão 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

5. RESULTADOS

5.1. Características gerais dos pacientes

Vinte e três pacientes (12 homens e 11 mulheres) com DRC em tratamento hemodialítico por 55,2 ± 49,7 meses (6 - 108 meses) foram avaliados. A média da idade foi de 43,2 ± 17 anos (21 - 81 anos). As causas da doença renal foram glomerulonefrite crônica (n = 8), nefropatia diabética (n = 6), lupus eritematoso sistêmico (n = 3), hipertensão arterial (n = 1), outras causas (n = 2) e desconhecida (n = 3). Cinco pacientes tinham transplante renal prévio. Dezenove pacientes (82,6%) estavam em uso de quelante de fósforo (2 usavam carbonato de cálcio, 12 sevelamer e 5 ambos os quelantes). Calcitriol oral ou endovenoso estava sendo administrado em 9 pacientes (39,1%). As Cad eram 2,5 mEq/L em 4 pacientes, 3,0 mEq/L em 6 e 3,5 mEq/L em 13.

Todos os pacientes dialisaram com cada uma das quatro Cad, ou seja, 2,0; 2,5; 3,0 e 3,5 mEq/L.

As Tabelas 3 e 4 mostram as características clínicas, bioquímicas e dialíticas dos pacientes nos diferentes tipos de dialisato. Embora não fosse observada diferença entre a variação do peso corporal e a taxa de ultrafiltração entre as Cad, a taxa de ultrafiltração foi significativamente maior do que a variação do peso corporal em todas as Cad. Somente a URR apresentou diferença significativa entre as Cad de 2,5 e 3,0 mEq/L (p<0,0001).

Tabela 3. Características clínicas e dialíticas dos pacientes de acordo com as concentrações de cálcio no dialisato

Variável	Média ± DP	P
Peso inicial (Kg)		0,9
Cad 2,0	$58,6 \pm 12,5$	
Cad 2,5	$58,4 \pm 12,1$	
Cad 3,0	$58,3 \pm 12,1$	
Cad 3,5	$58,2 \pm 12,2$	
PA sistólica (mmHg)		0,3
Cad 2,0	$143,4 \pm 20,4$	
Cad 2,5	$147,7 \pm 22,2$	
Cad 3,0	$141,6 \pm 17,6$	
Cad 3,5	$151,1 \pm 23,5$	
PA diastólica (mmHg)		0,6
Cad 2,0	$83,4 \pm 13,3$	
Cad 2,5	$82,8 \pm 16,6$	
Cad 3,0	$81,0 \pm 11,7$	
Cad 3,5	$86,1 \pm 14,3$	
Variação do peso (Kg)		0,7
$\operatorname{Cad} 2,0^1$	$2,03\pm1,03$	
$Cad 2,5^2$	$2,22\pm1,02$	
$Cad 3,0^3$	$2,11\pm0,92$	
Cad 3,5 ⁴	2,19±1.11	
Ultrafiltração (L)		0,6
$\operatorname{Cad} 2,0^1$	$2,68 \pm 1,05$	
$Cad 2,5^2$	$2,85 \pm 0,95$	
$Cad 3,0^3$	$2,72 \pm 0,86$	
Cad 3,5 ⁴	$2,75 \pm 1,11$	

Cad = concentração de Ca no dialisato em mEq/L; PA = pressão arterial; Variação do peso representa a quantidade do peso corporal perdida durante a sessão de HD (Peso final – peso inicial); ¹P<0,001 entre variação de peso e ultrafiltração na Cad 2,0mEq/L; ²P<0,001 entre variação de peso e ultrafiltração na Cad 2,5mEq/L; ³P<0,001 entre variação de peso e ultrafiltração na Cad 3,0mEq/L; ⁴P<0,001 entre variação de peso e ultrafiltração na Cad 3,5mEq/L.

Tabela 4. Características bioquímicas dos pacientes de acordo com as concentrações de cálcio no dialisato

Variável	Média ± DP	P
Ca iônico (mmol/L)		0,3
Cad 2,0	$1,25 \pm 0,11$	
Cad 2,5	$1,24 \pm 0,12$	
Cad 3,0	$1,27 \pm 0,09$	
Cad 3,5	$1,23 \pm 0,11$	
Ca total (mg/dl)		0,3
Cad 2,0	$8,89 \pm 0,56$	
Cad 2,5	$9,12 \pm 0,96$	
Cad 3,0	$8,86 \pm 0,61$	
Cad 3,5	$8,93 \pm 0,67$	
P (mg/dl)		0,9
Cad 2,0	$5,17 \pm 1,39$	
Cad 2,5	$5,29 \pm 1,48$	
Cad 3,0	$5,12 \pm 1,77$	
Cad 3,5	$5,53 \pm 1,67$	
PTH (pg/ml)		0,5
Cad 2,0	$424,4 \pm 415,7$	
Cad 2,5	$405,8 \pm 273,5$	
Cad 3,0	$381,5 \pm 344,3$	
Cad 3,5	$416,4 \pm 385,5$	
Albumina (g/dl)		0,3
Cad 2,0	$4,23 \pm 0,26$	
Cad 2,5	$4,24 \pm 0,19$	
Cad 3,0	$4,19 \pm 0,28$	
Cad 3,5	$4,15 \pm 0,26$	
Proteína total (g/dl)	-, = -,	0,8
Cad 2,0	$7,06 \pm 0,34$	-,-
Cad 2,5	$7,06 \pm 0,38$	
Cad 3,0	$7,09 \pm 0,42$	
Cad 3,5	$6,99 \pm 0,25$	
Magnésio (mg/dl)	0,55 = 0,25	0,2
Cad 2,0	$2,71 \pm 0,47$	0,2
Cad 2,5	$2,69 \pm 0,52$	
Cad 3,0	$2,67 \pm 0,42$	
Cad 3,5	$2,71 \pm 0,42$	
Sódio (mEq/L)	2,71 = 0,12	0,5
Cad 2,0	$137,1 \pm 2,73$	0,5
Cad 2,5	136.0 ± 2.58	
Cad 3,0	$136,5 \pm 2,37$	
Cad 3,5	136.8 ± 2.94	
pH	130,0 ± 2,74	0,2
Cad 2,0	$7,31 \pm 0,04$	0,2
Cad 2,5	$7,31 \pm 0,04$ $7,30 \pm 0,05$	
Cad 3,0	$7,30 \pm 0,03$ $7,32 \pm 0,04$	
Cad 3,5	$7,32 \pm 0,04$ $7,32 \pm 0,04$	
Bicarbonato (mEq/L)	1,52 ± 0,04	0,5
Cad 2,0	18.7 ± 2.28	0,5
Cad 2,5	$18,63 \pm 2,26$ $18,63 \pm 2,26$	
Cad 2,3 Cad 3,0	$18,65 \pm 2,26$ $18,65 \pm 2,96$	
Cad 3,0 Cad 3,5	$18,03 \pm 2,90$ $18,9 \pm 1,92$	
Taxa de redução da uréia (%)	$10,7 \pm 1,72$	0,001
Cad 2,0	$73,92 \pm 7,06$	0,001
	$73,92 \pm 7,00$ $71,07 \pm 7,49*$	
Cad 3.0		
Cad 3.5	74.2 ± 6.71	
Cad 3,5	$73,29 \pm 6,88$	0.06
Kt/V	1.52+0.21	0,06
Cad 2,0	1,53±0,31	
Cad 2,5	1,41±0,30	
Cad 3,0	1,54±0,33	
Cad 3,5	1,49±0,28	

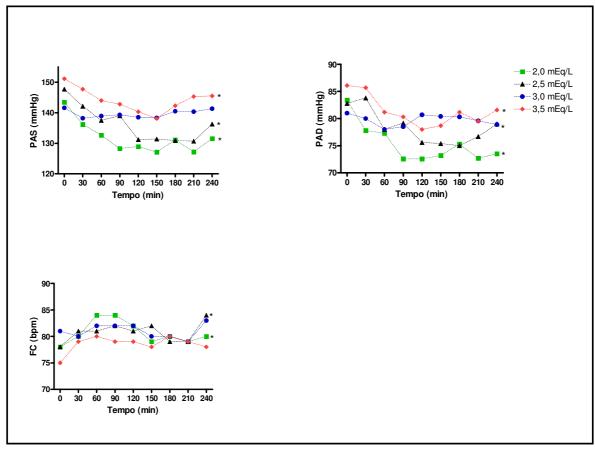
Cad = concentração de cálcio no dialisato em mEq/L; *P<0,001 x Cad 2,5 e 3,0 mEq/L.

Quanto aos marcadores de remodelação óssea, a média da FAO foi 77,36 \pm 56,07 U/L [mediana: 53,9 (14,8 - 238,3)], da OC 95,65 \pm 55 ng/ml [mediana: 86,7 (5,3 - 186,9)], da DPG 72,7 \pm 78,36 nmol/ml [41,86 (2,6 - 314,7)] e da OPG 296,3 \pm 136 pg/ml [261,1 (152 - 782)].

As manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes durante as 92 sessões de diálise nas Cad avaliadas foram sintomas de hipotensão arterial (9,1%) e cãimbras (10,8%), manejadas com reposição de solução salina 0,9% sem necessidade de interromper a sessão de diálise. O número de ocorrências de hipotensão arterial sintomática foi maior nas Cad mais baixas de 2,0 e 2,5 mEq/L do que nas Cad de 3,0 e 3,5 mEq/L (8 vs 1, respectivamente; P=0,03). A presença ou não de cãimbras não foi diferente entre as Cad (P=0,7)).

Na Figura 1 são mostradas as características hemodinâmicas dos pacientes nas diferentes Cad.

Figura 1. Pressão arterial e frequência cardíaca dos pacientes de acordo com a concentração de cálcio no dialisato



PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; FC: freqüência cardíaca; *P<0.05 corresponde a variação na PAS, na PAD e na FC durante os 240 minutos da sessão de diálise para cada Cad.

Durante as sessões de HD, a pressão arterial sistólica (PAS) caiu significativamente nos pacientes em todas as Cad, exceto na de 3,0 mEq/L. Redução significativa da PAS foi mais precoce nas Cad de 2,0 e 2,5 mEq/L, observada aos 90 minutos e aos 120 minutos, respectivamente (*P*<0.05). Na Cad de 3,5 mEq/L, redução significativa da PAS ocorreu aos 180 minutos e após retornou aos níveis basais. A PAS foi significativamente menor na Cad de 2,0 mEq/L comparada com a PAS na Cad de 3,5 mEq/L após 30 minutos do início da HD perdurando esta diferença até os 210 minutos. Em comparação com as outras Cad, a PAS apresentou uma redução significativamente maior na Cad de 2,0 mEq/L nos tempos de 90 minutos (Cad 2,0 vs. 2,5 e 3,0 mEq/L; *P*<0,05) e 150 minutos (Cad 2,0 vs. 3,0 mEq/L; *P*<0,05).

A pressão arterial diastólica (PAD) apresentou comportamento similar à PAS. A PAD também reduziu significativamente durante as sessões em todas as Cad, exceto na de 3,0 mEq/L. Redução significativa foi observada mais precocemente na Cad de 2,0 mEq/L aos 90 minutos e perdurou mais baixa durante todo o período. A PAD dos pacientes não foi diferente entre as Cad.

Com relação à frequência cardíaca, esta aumentou significativamente nas Cad de 2,0 e 2,5 mEq/L durante a HD conforme mostrado na Figura 1. Não foram encontradas diferenças na frequência cardíaca dos pacientes entre as Cad.

5.2. Transferência de cálcio

As transferências de Ca nas quatro Cad avaliadas estão descritas na Tabela 5. Nas Cad de 2,0 e 2,5 mEq/L, a remoção de Ca foi significativamente maior do que nas Cad de 3,0 e 3,5 mEq/L. Diferença na transferência de Ca também foi observada entre as Cad de 3,0 e 3,5 mEq/L.

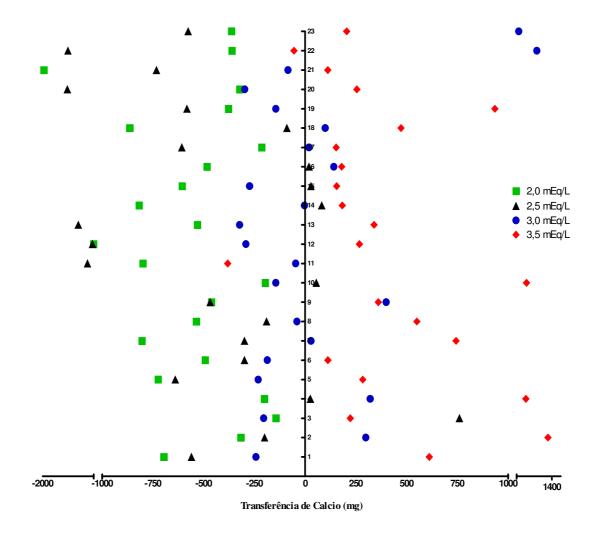
Tabela 5. Transferência de cálcio de acordo com a concentração de cálcio do dialisato

	Transferência de massa de cálcio (mg)				
Cad	Média ± DP	Mediana	(mínimo; máximo)		
2,0 mEq/L	-578 ± 389^{a}	-492	(-144; -1975)		
2,5 mEq/L	-468 ± 563^{a}	-468	(-1519; +760)		
3,0 mEq/L	$+46 \pm 400^{\mathbf{b}}$	-46	(-322,6; +1235)		
3,5 mEq/L	$+405 \pm 413$	268	(-381,1; +1358)		

Cad: Concentração de cálcio no dialisato; ^aP < 0,001 vs. 3,0 e 3,5 mEq/L; ^bP < 0,05 vs. 3,5 mEq/L.

A figura 2 ilustra a transferência de Ca para cada paciente nas quatro Cad. Todos os 23 pacientes apresentaram balanço negativo de Ca na Cad de 2,0 mEq/L. Destes, 17 pacientes também apresentaram balanço negativo na Cad de 2,5 mEq/L, 14 na Cad de 3,0 mEq/L e apenas 2 pacientes na Cad de 3,5 mEq/L.

Figura 2. Transferência de cálcio para cada paciente nas diferentes concentrações de cálcio do dialisato



Como mostrado na Tabela 5 e na Figura 2, uma grande variabilidade pode ser observada na transferência de Ca entre os pacientes, mesmo em concentrações de Ca similares. Com o objetivo de avaliar os fatores associados com o balanço de Ca, uma análise de correlação foi realizada (Tabela 6). A transferência de Ca apresentou uma correlação inversa com PTH, OC, e tempo em tratamento dialítico e uma correlação positiva com o gradiente de Ca. Uma tendência foi observada com FAO, albumina e DPG.

Tabela 6. Correlação linear entre transferência de cálcio e características clínicas, bioquímicas e dialíticas

	Correlação de			
	Spearman			
Transferência de cálcio (mg)	r	P		
Tempo em hemodiálise (meses)	-0,22	0,03		
Cálcio iônico (mmol/L)	-0,04	0,7		
Cálcio total (mg/dl)	0,13	0,2		
Gradiente de cálcio (mg/dl)	0,8	<0,0001		
Fósforo (mg/dl)	-0,08	0,4		
Albumina (g/dl)	-0,19	0,06		
Proteína total (g\dl)	-0,15	0,1		
Magnésio (mg/dl)	0,04	0,6		
PH	-0,03	0,7		
Bicarbonato (mEq/L)	-0,03	0,7		
Sódio (mEq/L)	-0,01	0,9		
Fosfatase alcalina óssea (U/L)	0,19	0,06		
PTH (pg/ml)	-0,27	0,01		
Osteocalcina (ng/ml)	-0,27	0,01		
Deoxipiridinolina (nmol/ml)	-0,18	0,08		
Osteoprotegerina (pg/ml)	-0,09	0,3		
Ultrafiltração (L)	0,009	0,9		
Taxa de redução de uréia (%)	0,009	0,9		
Kt/V	0,002	0,9		

Para determinar os fatores que independentemente influenciaram a transferência de Ca, foi realizada análise de regressão linear multivariada, conforme mostrado na Tabela 7. Usando cinco diferentes modelos matemáticos, o balanço de Ca foi dependente do gradiente de Ca, da albumina, do PTH, da remodelação óssea estimada pelo PTH e da osteocalcina. No primeiro modelo, PTH e osteocalcina entraram como variáveis contínuas e a transferência de Ca foi dependente do gradiente de Ca, da

albumina e da osteocalcina. No segundo modelo, foi excluído a albumina da análise, considerando que esta poderia afetar o Ca sérico e consequentemente o gradiente de Ca. Gradiente de Ca e osteocalcina continuaram determinantes do balanço de Ca. No terceiro modelo, o PTH foi mantido como variável contínua, mas osteocalcina foi excluída da análise, considerando esta também estar aumentada no grupo considerado de alta remodelação óssea e não ser um exame realizado na prática clínica nas unidades de diálise. Neste modelo, a transferência de Ca foi dependente do gradiente de Ca, da albumina e do PTH. No quarto modelo, o PTH e a OC foram consideradas como variáveis categóricas (PTH > ou \leq 300 pg/ml e osteocalcina > or \leq 90 pg/ml) e o balanço de Ca foi dependente do gradiente de Ca, da albumina e do PTH. Excluindo a albumina do modelo 4, tanto gradiente de Ca e PTH como variável categórica continuaram determinantes do balanço de Ca (Modelo 5).

Tabela 7. Regressão linear para transferência de cálcio

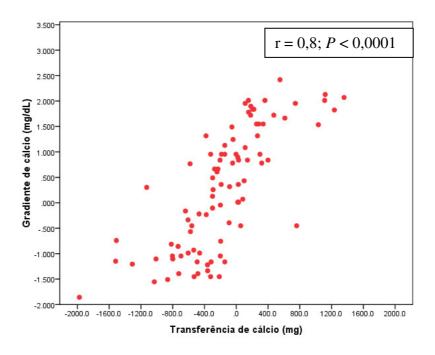
Modelo/variáveis	В	95% intervalo de confiança	P
Modelo 1			
Gradiente de cálcio	251	114,6 a 387,3	<0,0001
OC	-3,24	-5,29 a -1,2	0,002
Albumina	-496,5	-936,8 a -56,2	0,02
Modelo 2			
Gradiente de cálcio	248,8	109,1 a 388,4	0,001
Osteocalcina	-3,6	−5,6 a −1,5	0,001
Modelo 3			
Gradiente de cálcio	261,3	123,9 a 398,6	< 0,0001
PTH	-0,47	-0,78 a -0,16	0,003
Albumina	-717,8	-1166,7 a –268,9	0,002
Modelo 4			
Gradiente de cálcio	274,8	136,9 a 412,7	< 0,0001
PTH > 300 pg/ml	-347,5	-569,1 a -125,8	0,006
Albumina	-620,5	-1059,2 a -181,8	0,002
Modelo 5			
Gradiente de cálcio	270,7	126,7 a 414,5	< 0,0001
PTH > 300 pg/ml	-340,8	-571,3 a -110,3	0,004

Variável dependente: Transferência de cálcio (balanço de cálcio); **Modelo 1:** Variáveis independentes foram tempo de hemodálise, uso de calcitriol, gradiente de cálcio, albumina, fosfatase alcalina, deoxipiridinolina, osteocalcina e PTH como variáveis contínuas; **Modelo 2:** Modelo 1 sem albumina; **Modelo 3:** Modelo 1 sem osteocalcina; **Modelo 4:** Modelo 1 com e sem osteocalcina e PTH como variáveis categoricas; **Modelo 5:** Modelo 1 sem albumina e com osteocalcina e PTH como variáveis categoricas.

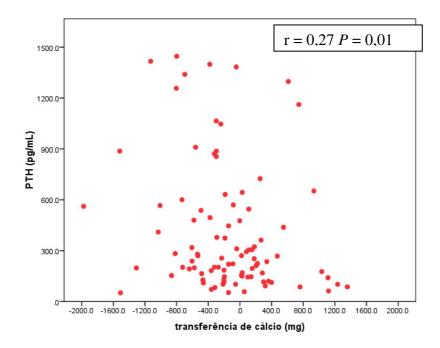
A Figura 3A ilustra a relação positiva entre o gradiente de Ca e sua transferência. Uma clara relação linear pode ser observada. As Figuras 3B e 3C mostram que com níveis mais elevados de osteocalcina e PTH, maior é a remoção de Ca na diálise.

Figura 3. Relação entre transferência de cálcio e gradiente de cálcio, albumina, níveis de osteocalcina e PTH

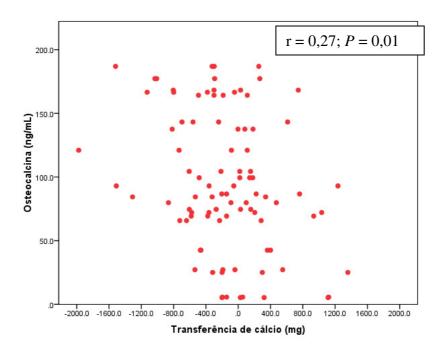
A. Transferência de cálcio e gradiente de cálcio



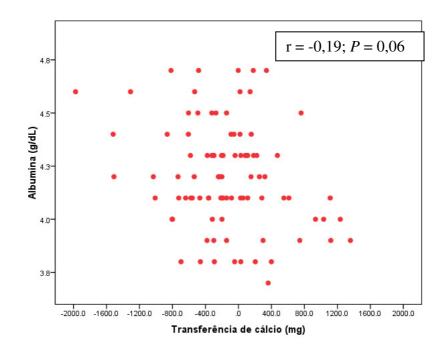
B. Transferência de cálcio e níveis de PTH



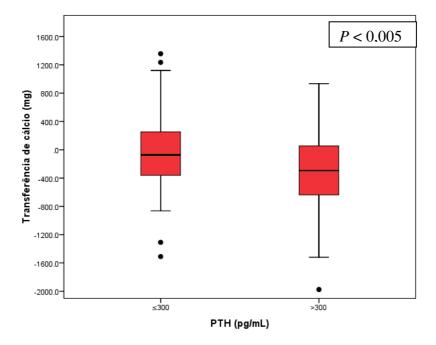
C. Transferência de cálcio e níveis de osteocalcina



D. Transferência de cálcio e níveis de albumina



E. Transferência de cálcio e PTH como variável categórica



Como PTH foi determinante para a transferência de Ca, a quantidade de Ca transferida foi analisada de acordo com a remodelação óssea (estimada pelo PTH).

Cinco pacientes (21,74%) apresentavam níveis de PTH menores do que 150 pg/ml, 8 pacientes (34,78%) apresentavam níveis de PTH entre 150 e 300 pg/ml e em 10 pacientes (43,48%) os níveis de PTH eram maiores do que 300 pg/ml. Os pacientes foram então divididos em dois grupos de acordo com a remodelação óssea. Treze pacientes (56,52%) com níveis de PTH iguais ou menores do que 300 pg/ml foram considerados com remodelação óssea baixa ou normal e dez pacientes com níveis de PTH superiores a 300 pg/ml foram definidos como apresentando alta remodelação óssea. Na Tabela 8, estão descritas as médias dos níveis dos marcadores de remodelação óssea quando os pacientes foram divididos conforme o PTH. Níveis mais altos de FAO, DPG e OC foram observados no grupo de pacientes com PTH superior a 300 pg/ml comparados com o grupo com PTH inferior ou igual a 300 pg/ml.

Tabela 8. Marcadores de remodelação óssea por níveis de PTH

Marcador ósseo	PTH ≤ 300 pg/ml	PTH > 300 pg/ml	P
	(n = 13)	(n = 10)	
Fosfatase alcalina óssea (U/L)	$50,1 \pm 19,4$	$112,8 \pm 68,6$	0,005
Osteocalcina (ng/ml)	$64,5 \pm 34,1$	$136,1 \pm 51,2$	<0,001
Deoxipiridinolina (nmol/ml)	$32,8 \pm 26,4$	$124,5 \pm 93,8$	<0,001
Osteoprotegerina (pg/ml)	$262,6 \pm 90,1$	340 ± 175	>0,05

A Tabela 9 mostra a transferência de Ca em cada grupo de PTH conforme descrito previamente. Nas Cad de 2,0 e 3,0 mEq/L, os pacientes com níveis de PTH > 300 pg/ml perderam mais Ca do que aqueles com PTH mais baixo.

Tabela 9. Transferência de cálcio^a por nível de PTH

	PTH ≤ 300 pg/ml	PTH > 300 pg/ml	P
Cad	(n = 13)	(n = 10)	
2,0 mEq/L	-420 ± 219	-783 ± 472	0,04
2,5 mEq/L	-347 ± 605	-626 ± 487	0,2
3,0 mEq/L	183 ± 486	-131 ± 120	0,04
3,5 mEq/L	455 ± 445	339 ± 380	0,5

^a Transferência de cálcio é expresso (em mg) como média ± desvio padrão.

Comparando a média do balanço de Ca de cada paciente durante os quatro procedimentos, nas Cad de 2,0, 2,5, 3,0 e 3,5 mEq/L, no grupo de pacientes com níveis

de PTH >300pg/ml o balanço de Ca foi de -332 ± 235 mg, enquanto no grupo com PTH ≤ 300 pg/ml o balanço foi de -8 ± 200 mg (P=0,005).

Como cada paciente foi submetido a quatro sessões de HD com diferentes Cad e considerando que eles apresentavam diagnóstico de alta ou de normal/baixa remodelação, situação não passível de modificação a curto-prazo (2 semanas), uma análise linear para medidas repetidas foi realizada (Tabela 10). Nesta análise, remodelação óssea estimada pelos níveis de PTH, gradiente de Ca e albumina confirmaram serem fatores determinantes da transferência de Ca.

Tabela 10. Análise multivariada para transferência de cálcio de acordo com a remodelação óssea

Modelo/variáveis	β	95% intervalo de confiança	P
Intercepto	1768,6	157,3 a 3379,9	0,03
Gradiente de cálcio	246,6	127,3 a 366,02	< 0,0001
Albumina	-490,5	-900,9 a -80,05	0,019
PTH > 300pg/ml	-187,7	15 a 360,4	0,03
Osteocalcina	-1,22	-3,49 a 1,05	0,29
Calcitriol, não	49,04	-123,8 a 221,9	0,5

Como OC foi determinante da transferência de cálcio na análise de regressão linear, os pacientes foram classificados conforme níveis de OC ≤90 ng/ml e OC > 90 ng/ml. Conforme mostrado na Tabela 11, os pacientes com níveis de OC ≤90 ng/ml ganharam mais Ca quando dialisados com a Cad de 3,5 mEq/L. Por outro lado, pacientes com níveis de OC >90 ng/ml apresentaram uma tendência para uma maior perda de Ca durante HD com Cad de 2,0 e 2,5 mEq/L. Ao comparar a média da transferência de Ca,

os pacientes com níveis de OC >90 ng/ml apresentaram um balanço médio de Ca de −299±221 mg, enquanto que o grupo de pacientes com níveis de OC ≤90 ng/ml apresentaram um balanço médio de −12±236 mg (P<0,01).

Tabela 11. Transferência de cálcio^a por nível de osteocalcina

	OC ≤ 90 ng/ml	OC > 90 ng/ml	P
Cad	(n = 12)	(n=11)	
2,0 mEq/L	-443 ± 220	-725 ± 483	0,09
2,5 mEq/L	-266 ± 508	-690 ± 557	0,07
3,0 mEq/L	66 ± 393	25 ± 426	0,8
3,5 mEq/L	593 ± 422	199 ± 299	0,01

^a Transferência de Ca é expresso (em mg) como média ± desvio padrão; OC = Osteocalcina. Mediana da OC foi de 86,7 pg/ml.

Como 9 pacientes (39,1%) estavam em uso de calcitriol, transferência de Ca foi comparada entre os pacientes em uso ou não de calcitriol. Foi observada uma tendência para maior transferência de Ca no grupo de pacientes em uso de calcitriol na Cad de 2,0 mEq/L (P=0,05) (Tabela 12). A média do nível sérico do PTH no grupo de pacientes que não estava recebendo calcitriol foi de 292,9 \pm 344,5 pg/ml, enquanto que no grupo recebendo calcitriol de 575,9 \pm 350,6 pg/ml (P = 0,01). Uma tendência para maior perda de Ca foi observada no grupo de pacientes em uso de calcitriol do que no grupo sem calcitriol, -307 \pm 567,3 mg [mediana -99,4 mg (-1509,6 - +1375,8mg)] vs -47,2 \pm 592,5 mg [mediana -267 mg(-1975,4 - +744mg)], respectivamente; P=0,07.

Tabela 12. Transferência de cálcio^a de acordo com o uso de calcitriol

	Uso de calcitriol	Sem calcitriol	P
Cad	(n=9)	(n = 14)	
2,0 mEq/L	$-789,1 \pm 513,8$	$-442,3 \pm 206,5$	0,05
	-724 (-1213,6; -1975)	-419,4 (-144; -818)	
2,5 mEq/L	$-642,1 \pm 429,7$	$-356,5 \pm 622,6$	0,1
	-607,2 (-90; -1519)	-195 (-1510; 760)	
3,0 mEq/L	$-131,7 \pm 150,9$	$160,9 \pm 469,8$	0,1
	-21,5 (-322,6;1235)	-186 (-297,4; 99)	
3,5 mEq/L	$334,7 \pm 226$	$449,1 \pm 501,2$	0,6
	267,6 (112; 744)	281 (-381,1; 1358)	

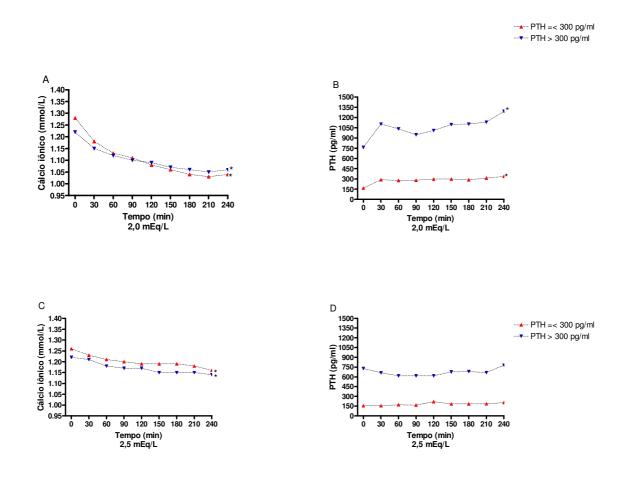
^a Transferência de cálcio é expresso (em mg) como média (± desvio padrão) e mediana (valor mínimo e máximo).

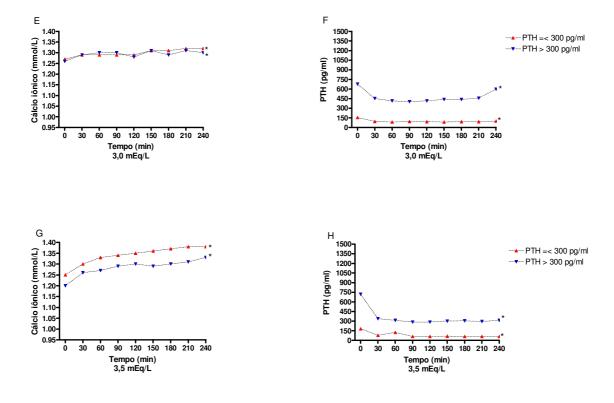
5.3. Comportamento dos níveis séricos do PTH e do cálcio de acordo com a transferência de cálcio

A Figura 4 mostra as curvas de Ca iônico e PTH nas diferentes Cad durante as sessões de HD. Na Cad de 2,0 mEq/L, os pacientes em ambos os grupos de PTH (PTH \leq 300 pg/ml e PTH > 300 pg/ml) apresentaram uma redução significativa do Ca sérico e um aumento significativo do PTH durante o procedimento da diálise (Figuras 4A e 4B). Na Cad de 2,5 mEq/L, diminuíção significativa do Ca foi observada em ambos os grupos de PTH (Figura 4C). No entanto, como mostrado na Figura 4D, houve apenas uma tendência no aumento do PTH (PTH \leq 300 pg/ml, P = 0,06; PTH > 300 pg/ml, P = 0,07). Nas Cad de 3,0 e 3,5 mEq/L, ambos os grupos apresentaram um aumento

significativo do Ca iônico (Figuras 4E e 4G) e uma redução significativa nos níveis de PTH (Figuras 4F e 4H). Em todas as Cad, os níveis de PTH foram significativamente maiores no grupo com PTH > 300 pg/ml do que no grupo com PTH \leq 300 pg/ml (P < 0,001) durante todos os tempos das sessões de HD. Entretanto, não foram encontradas diferenças nos níveis de Ca iônico entre os dois grupos de PTH em qualquer tempo dos procedimentos dialíticos.

Figura 4. Comportamento dos níveis séricos de cálcio iônico e PTH conforme a remodelação óssea estimada pelo PTH durante a hemodiálise

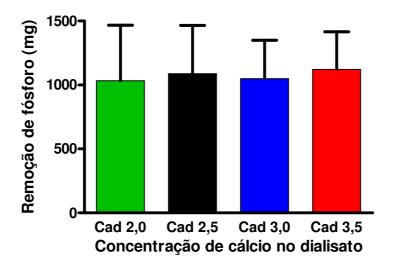




5.4. Remoção de fósforo

A média de remoção de P nas 92 sessões de HD foi de $1073 \pm 351,8$ mg. Como mostrado na Figura 5, a remoção de P não foi diferente nas quatro Cad avaliadas (P=0,59).

Figura 5. Remoção de fósforo em cada concentração de cálcio no dialisato



Para identificar os possíveis fatores que estariam associados com a remoção de P, uma análise de correlação foi realizada (Tabela 13).

Tabela 13. Análise de correlação entre remoção de fósforo e características clínicas, bioquímicas e dialíticas dos pacientes

	Correlação de Pearson	
Remoção de fósforo (mg)	r	P
Tempo em hemodiálise (meses)	0,37	0,0003
Cálcio iônico (mmol/L)	- 0,40	<0,0001
Cálcio total (mg/dl)	- 0,04	0,7
Fósforo (mg/dl)	0,72	<0,0001
Albumina (g/dl)	0,06	0,6
Proteína total (g/dl)	0,33	0,001
Magnésio (mg/dl)	0,45	0,03
РН	- 0,27	0,007
Bicarbonato (mEq/L)	- 0,34	0,001
Sódio (mEq\L)	0,02	0,7
Fosfatase alcalina óssea (U/L)	0,38	0,0002
PTH (pg\ml)	0,66	<0,0001
Osteocalcina (ng/ml)	0,42	<0,0001
Deoxipiridinolina (nmol/ml)	0,46	<0,0001
Osteoprotegerina (pg/ml)	0,11	0,2
Ultrafiltração (L)	0,49	0,001
Taxa de redução de uréia (%)	- 0,31	0,002
Kt/V	- 0,30	0,003

Remoção de P foi associada positivamente com o tempo em tratamento dialítico, volume de ultrafiltração e níveis de P, PT, Mg, FAO, PTH, OC e DPG. Associação negativa foi observada com os níveis de Ca iônico e bicarbonato, com pH, com a taxa de redução de uréia e Kt/V. Na Tabela 14 são mostrados os resultados de três modelos avaliados na análise multivariada. Níveis séricos de P pré-diálise e PTH foram

positivamente associados com a remoção de P, enquanto Ca iônico e Kt/V influenciaram negativamente esta remoção. Quando Ca iônico foi removido do modelo inicial, P, PTH e Kt/V continuaram como os fatores determinantes da remoção de P. PTH continuou sendo um fator independente mesmo quando avaliado como variável categórica (alta ou normal/baixa remodelação). Os resultados foram mantidos mesmo quando pH e taxa de redução de uréia entraram no modelo inicial em substituíção do bicarbonato e do Kt/V, respectivamente (dados não mostrados). Bicarbonato foi analisado como variável categórica, inicialmente divindo os pacientes em grupos de pacientes com bicarbonato <18 ou ≥18 mEq/L, assim como em grupos de pacientes com bicarbonato <20 ou ≥ 20. No entanto, bicarbonato continuou não significativo para remoção de P. Análise para medidas repetidas foi realizada, confirmando os resultados encontrados no modelo de regressão (Tabela 15).

Tabela 14. Regressão linear para remoção de fósforo

Modelo/variáveis	β	95% intervalo de confiança	P
Modelo 1		-	
Fósforo pré-diálise	116,9	85,4 a 148,5	<0,0001
PTH	0,29	0,16 a 0,41	<0,0001
Cálcio iônico	-679,4	-1101,1 a –257,9	0.002
Kt/V	-357,5	-499,9 a –215,1	< 0.0001
Modelo 2			
Fósforo pré-diálise	134,7	103,9 a 165,9	< 0,0001
PTH	0,28	0,14 a 0,41	<0,0001
Kt/V	-353,5	-503,2 a -203,7	<0,0001
Modelo 3			
Fósforo pré-diálise	107,3	70,9 a 143,8	< 0,0001
PTH > 300 pg/ml	196,0	85 a 306,9	0,001
Cálcio iônico	-666,6	-1102,9 a -230,3	0,003
Kt/V	-331,56	-484,5 a −178,6	<0,0001

Variável dependente: Remoção de fósforo; **Modelo 1:** Variáveis independentes foram fósforo, cálcio iônico, magnésio, proteína total, Kt/V, fosfatase alcalina, deoxipiridinolina, osteocalcina, PTH e bicarbonato como variáveis contínuas, uso de calcitriol como categórica; **Modelo 2:** Modelo 1 sem cálcio; **Modelo 3:** Modelo 1 com osteocalcina e PTH como variáveis categoricas. β = coeficiente; IC = intervalo de confiança.

Tabela 15. Análise multivariada para medidas repetidas das variáveis preditivos da remoção de fósforo

Modelo/variáveis	β	95% intervalo de confiança	P
Modelo 1			
Intercepto	1961,9		
Fósforo	112,96	81,4 a 144,5	<0,0001
PTH	0,31	0,17 a 0,46	< 0,0001
Cálcio iônico	-949,7	-1401,3 a –298,1	0,003
Kt/V	-350,1	-476,7 a 223,5	< 0,0001
Calcitriol, não	-92,4	-195,7 a 10,9	0,08
OC	-0,79	-2,35 a 0,78	0,3
Proteína total	-7,7	-158,7 a 143,3	0,9
Bicarbonato	3,98	-12,5 a 20,5	0,3
Modelo/variáveis	β	95% intervalo de confiança	P
Modelo 2			
Intercepto	2118,7		
Fósforo	117,1	76,6 a 157,5	<0,0001
Fósforo PTH > 300 pg/ml	117,1 172,7	76,6 a 157,5 -324,97 a –20,4	<0,0001 0,026
PTH > 300 pg/ml	172,7	-324,97 a –20,4	0,026
PTH > 300 pg/ml Cálcio iônico	172,7 -772,8	-324,97 a -20,4 -1360,6 a -184,98	0,026 0,01
PTH > 300 pg/ml Cálcio iônico Kt/V	172,7 -772,8 -345,08	-324,97 a -20,4 -1360,6 a -184,98 -481,7 a 208,4	0,026 0,01 < 0,0001
PTH > 300 pg/ml Cálcio iônico Kt/V Calcitriol, não	172,7 -772,8 -345,08 -69,8	-324,97 a -20,4 -1360,6 a -184,98 -481,7 a 208,4 -213,9 a 74,5	0,026 0,01 < 0,0001 0,3

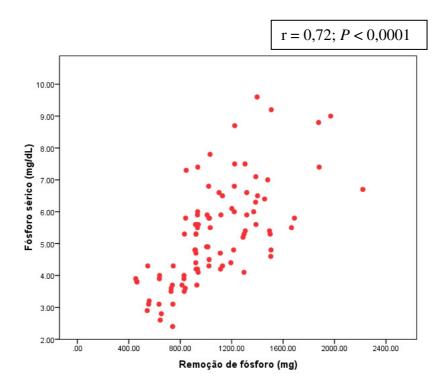
Para análise multivariada foram testadas as variáveis consideradas preditivas da remoção de P. No primeiro modelo, PTH entrou como variável contínua e a remoção de P foi dependente do P pré-diálise, do PTH, do Ca iônico e do Kt/V. No segundo

modelo, o PTH entrou como variável categórica sugerindo baixa/normal ou alta remodelação óssea (PTH ≤ 300 ou > 300 pg/ml) e a remoção de P foi dependente dos mesmos fatores, isto é, do P pré-diálise, da remodelação óssea sugerida pelo PTH, do Ca iônico e do Kt/V.

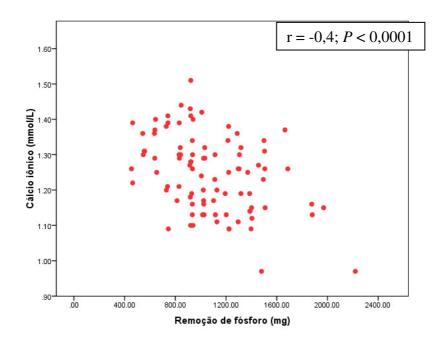
A figura 6 ilustra a relação entre remoção de P e P sérico, PTH, Kt/V e Ca iônico. As Figuras 6A e 6B mostram a relação positiva entre remoção de P e sua concentração sérica e remoção de P com PTH, respectivamente. Relação negativa entre remoção de P e Kt/V e Ca iônico estão ilustradas nas Figuras 6C e 6D, respectivamente.

Figura 6. Relação entre remoção de fósforo e fósforo sérico, cálcio iônico, PTH e Kt/V

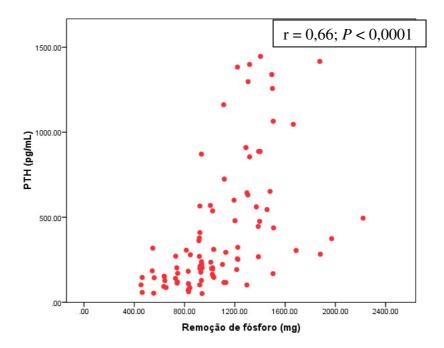
A. Remoção de fósforo e níveis de fósforo pré-diálise



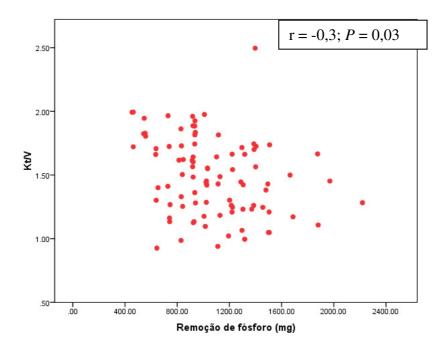
B. Remoção de fósforo e níveis de cálcio iônico



C. Remoção de fósforo e níveis de PTH

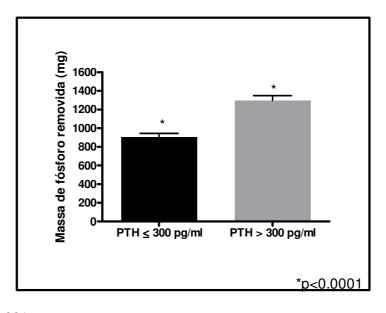


D. Remoção de fósforo e Kt/V



A Figura 7 ilustra a remoção de P de acordo com os níveis de PTH. Pacientes considerados como de alta remodelação óssea (PTH > 300 pg/ml) apresentaram maior remoção de P do que o grupo de pacientes com remodelação óssea normal ou baixa (1328 \pm 176,7 vs. 877 \pm 184,3; P<0,0001).

Figura 7. Remoção de fósforo de acordo com os níveis de PTH

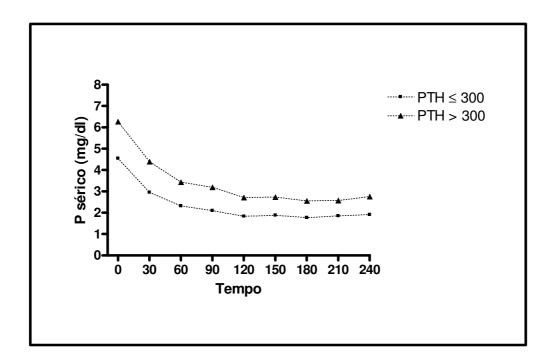


*P<0,001

5.5. Níveis séricos do fósforo de acordo com a remodelação óssea e Kt/V

A Figura 8 mostra a redução dos níveis séricos de P durante a sessão de HD de acordo com os níveis de PTH. Redução significativa do P sérico foi observada em ambos os grupos de PTH (P<0.01). P sérico foi significativamente mais elevado no grupo com PTH > 300 pg/ml em todos os momentos da sessão de diálise (P<0.0001). O P sérico diminuiu significativamente nos primeiros 90 minutos no grupo de pacientes com PTH \leq 300pg/ml, permanecendo estável até o final da HD. No grupo de pacientes com PTH > 300 pg/ml, o P sérico diminuiu significativamente até os 120 minutos, quando atingiu o platô permanecendo estável.

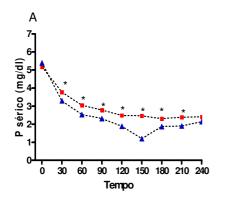
Figura 8. Níveis séricos de fósforo conforme remodelação óssea estimada pelo PTH durante tratamento de hemodiálise

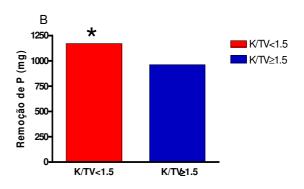


P = Fósforo; * *P*<0,001.

A Figura 9A ilustra a média da concentração sérica de P durante a HD de acordo com o Kt/V. No valor do ponto de corte do Kt/V de 1,5, o P sérico foi significativamente mais elevado no grupo com Kt/V < 1,5 comparado ao grupo com Kt/V \geq 1,5 em todos os tempos entre 30 e 210 minutos da sessão de diálise. A remoção de P foi significativamente maior no grupo com Kt/V < 1,5 (Figura 2B). Quando a remoção de P foi avaliada para as sessões de HD com Kt/V < 1,2 (n=17; 18,7%) comparado com Kt/V \geq 1,2 (n=75; 81,3%), a remoção de P não apresentou diferença (1144 \pm 349 vs. 1057 \pm 353, respectivamente; P=0,3).

Figura 9. Níveis séricos de fósforo e remoção de fósforo conforme Kt/V durante tratamento de hemodiálise





* $P < 0.05 \text{ vs Kt/V} \ge 1.5.$

6. DISCUSSÃO

O presente estudo estabelece uma nova análise da possível influência da remodelação óssea na transferência de cálcio e fósforo durante a HD. Embora o gradiente de Ca e a concentração sérica de P pré-diálise tenham sido os principais determinantes da transferência de Ca e P, respectivamente, remodelação óssea estimada pelos níveis séricos de PTH e níveis de PTH foram independentemente associados com a transferência destes elementos. Estes resultados fornecem uma nova perspectiva na cinética do Ca e do P durante a diálise, mostrando que esta deve ser muito mais complexa e envolvendo uma interação de uma série de fatores entre dialisato, compartimento extracelular, intracelular e ósseo.

Este estudo mostrou que a transferência de Ca foi extremamente variável entre os pacientes, independente da Cad utilizada. Embora todos os pacientes apresentassem balanço negativo de Ca quando dialisados com uma Cad de 2,0 mEq/L, a transferência de Ca por diálise foi de – 144 a – 1975 mg em condições absolutamente iguais no procedimento dialítico. Este mesmo comportamento foi observado em todas as outras Cad. Estes achados vem em concordância com o estudo de Sigrist e colaboradores que avaliaram 52 pacientes dialisados com uma Cad de 2,5 mEq/L (152). Os autores observaram que havia uma variação individual em termos de transferência de Ca, a qual variou de aproximadamente –800 a +500 mg; no entanto, eles não avaliaram outras Cad. Por outro lado, Hou e colaboradores mostraram uma transferência de Ca mais homogênea entre os pacientes em três diferentes Cad. No entanto, a transferência de Ca foi avaliada em apenas 7 pacientes e as concentrações de Ca sérico eram similares entre os mesmos e PTH não foi avaliado (155).

Esta variabilidade na transferência de Ca observada no nosso estudo sugere que fatores outros, além da própria Cad, influenciam a transferência de Ca e, portanto, o balanço final de Ca. Um dos fatores é o gradiente de Ca, calculado usando a diferença entre a concentração de Ca ultrafiltrável e difusível no sangue e a Cad. Como esperado, uma correlação significativa foi encontrada entre o balanço de Ca e o gradiente de Ca, confirmando na análise multivariada que o gradiente é um fator determinante para o balanço final de Ca, como foi previamente demonstrado em outros estudos (152, 153).

O achado relevante do nosso estudo é que a remodelação óssea, estimada pelos níveis de PTH e de outros marcadores de remodelação óssea, influenciou a transferência de Ca durante a diálise. O grupo de pacientes com PTH sérico acima de 300 pg/ml apresentou maior remoção de Ca nas Cad de 2,0 e 3,0 mEq/L e, embora não apresentando diferença estatística, a média de remoção foi maior na Cad de 2,5 mEq/L. Esta associação foi confirmada nas análises de regressão linear e multivariada quando PTH foi avaliado de forma categórica ou quando osteocalcina não foi adicionada como variável independente. Até o momento, nenhum estudo havia avaliado o papel do PTH ou da remodelação óssea como possíveis fatores capazes de influenciar o balanço de Ca durante a diálise. Somente Albalate e colaboradores avaliaram a associação entre remoção de P durante a diálise e marcadores de remodelação óssea em 28 pacientes (206). Eles mostraram que a remoção de P foi dependente não somente dos níveis de P pré-diálise, mas também da razão PTH/osteoprotegerina sérica e sugeriram que pacientes em diálise com alta remodelação óssea apresentam maior remoção de P.

A influência da remodelação óssea na transferência de Ca observada no presente estudo sugere que o processo de regulação do Ca durante o procedimento dialítico é mais elaborado do que previamente definido. Ele não é simplesmente determinado em função do gradiente de Ca entre o sangue e o dialisato. Já foi demonstrado que o Ca é

continuamente removido do osso e incorporado ao mesmo em um processo altamente regulado que mantém tanto a integridade do esqueleto como os níveis de Ca extracelular (17, 37). Este fluxo de Ca ocorre através do processo de remodelação óssea, incluindo a formação e a reabsorção óssea, como também através de um processo físico-químico, utilizando um reservatório de troca de Ca localizado na superfície óssea (16, 17, 21). No entanto, para a troca de Ca ocorrer pelo mecanismo celular, tal como ocorre durante a reabsorção óssea mediada pelo PTH, horas ou mesmo dias seriam necessários. Entretanto, durante uma sessão de HD e como mostrado no presente estudo, a troca de Ca é rápida e, de acordo com a hipótese proposta por Talmage e colaboradores (21), o reservatório de troca de Ca poderia estar envolvido neste processo. Esta hipótese considera o fluxo bidirecional de Ca entre o osso e o fluído extracelular e a manutenção dos níveis extracelular de Ca dentro de limites estreitos. Como a concentração de Ca é menor no osso do que no fluído extracelular, o resultante gradiente favorece um fluxo contínuo de Ca para o osso e a saída do Ca do osso precisa ocorrer contra o gradiente para manter os níveis de Ca extracelular. Conforme Talmage e colaboradores, este processo ocorre em duas fases. Primeiro o Ca é transferido da superfície óssea para as proteínas não colágenas que, virtualmente, revestem toda a superfície óssea. Algumas destas proteínas, como a osteocalcina e a osteonectina, apresentam uma alta afinidade de se ligarem ao Ca. Em um segundo momento, o Ca deveria ser complexado a estas proteínas e uma parte seria viável para equilíbrio com o Ca iônico no fluído extracelular. Como observado durante o procedimento de HD, o Ca sérico se altera rapidamente, mas não entra em equilíbrio com o Ca do dialisato, novamente sugerindo que uma contínua troca rápida de Ca ocorre entre o reservatório e o compartimento extracelular. Este achado foi explorado teoricamente por Gotch e colaboradores ao analisar o comportamento do Ca sérico na amostra de pacientes do estudo de Hou e

colaboradores (155, 185). Desta forma, pacientes que apresentam remodelação óssea aumentada podem, hipoteticamente, ter níveis mais elevados destas proteínas não colágenas o que poderia resultar em uma disponibilidade mais rápida de Ca para o fluído extracelular durante o procedimento dialítico e com isto perderem mais Ca nas Cad mais baixas. No presente estudo, embora não de forma consistente, osteocalcina foi um fator independentemente associado com o balanço de Ca na análise de regressão linear, o que favorece esta hipótese. No entanto, a osteocalcina não mostrou associação com a transferência de cálcio quando a remodelação óssea, sugerida pelos níveis de PTH, foi adicionada nos modelos estatísticos.

A osteocalcina é a proteína não colágena mais abundante no osso. Tanto o PTH como a 1,25-dihidroxivitamin D₃ estimulam osteoblastos para produzir osteocalcina (36). Ela interage com os cristais de hidroxiapatita e é liberada da superfície óssea nas formas intacta ou em fragmentos. Embora seja sugerido que a osteocalcina é envolvida na formação óssea, seus efeitos ainda não foram elucidados e sua utilidade como um marcador bioquímico de remodelação óssea permanece controverso (208). Além disto, níveis séricos de osteocalcina podem não refletir a sua concentração na superfície óssea. Embora os achados deste estudo sugiram que osteocalcina sérica pode ser um preditor de transferência de Ca, futuros estudos que quantifiquem a osteocalcina óssea são necessários para esclarecer o seu papel na transferência de Ca durante o procedimento dialítico.

A transferência de Ca também foi analisada entre os pacientes que estavam ou não recebendo calcitriol. Tendência para uma maior remoção de Ca foi observada no grupo de pacientes recebendo calcitriol como na Cad de 2,0 mEq/L. No entanto, na análise multivariada, o uso de calcitriol não foi achado ser um fator independente e, portanto, determinante do balanço de Ca durante a diálise. Calcitriol é recomendado

para o tratamento do HPT secundário (73, 84). Provavelmente o fato do grupo de pacientes em uso de calcitriol apresentarem níveis mais elevados de PTH, é possível sugerir que este foi um indicador indireto da remodelação óssea. No entanto, é preciso ter cautela em uma conclusão definitiva pelo fato de apenas 9 pacientes estarem em uso de calcitriol. Importante salientar que o calcitriol age inibindo a síntese e secreção de PTH e tem sido utilizado para o tratamento do HPT secundário. Além disto, o calcitriol pode diretamente afetar a remodelação óssea independente do PTH e, muitas vezes, de uma maneira não uniforme, conforme demonstrado por Costa e colaboradores (209). Eles avaliaram resultados de biópsia óssea prévio e após 6 meses de uso de calcitriol injetável em 16 pacientes em HD com HPT secundário. O grupo de pacientes que respondeu ao tratamento apresentavam redução da formação e da reabsorção óssea acompanhado da redução dos níveis de PTH. Por outro lado, o grupo refratário ao tratamento apresentou aumento na reabsorção e diminuíção da formação óssea. A tendência de maior perda de Ca na Cad de 2,0 mEq/L, observada no presente estudo, pode ser secundária a presença de níveis mais elevados de PTH no grupo recebendo calcitriol como tratamento do que no grupo sem calcitriol (575,9 ± 350,6 x 292,9 ± 344,5 pg/ml, respectivamente; P = 0.01). No entanto não é possível descartar que pacientes podem apresentar maior reabsorção óssea pelo uso de calcitriol e liberar mais Ca do osso.

Embora os níveis de PTH, principalmente quando categorizado para estimativa da remodelação óssea, influenciaram a transferência de Ca, o comportamento do Ca iônico entre os grupos de PTH, independente da perda ou ganho de Ca, não foi diferente durante todo o procedimento dialítico. Isto demostra que a transferência de Ca não pode ser inferida apenas pelos níveis do Ca sérico e sua variação durante a diálise. Como era esperado, uma rápida redução dos níveis de Ca sérico, acompanhada por um significante

aumento dos níveis de PTH, foi observada quando a Cad de 2,0 mEq/L foi usada, e o inverso foi observado ao usar a Cad de 3,5 mEq/L. No entanto, na Cad de 2,5 mEq/L, apesar de ter ocorrido uma significativa redução nos níveis de Ca sérico, o PTH não aumentou de forma significativa. Este achado vem de acordo com o estudo de Fernandez e colaboradores que, ao usarem uma Cad de 2,5 mEq/L, observaram um aumento significativo do PTH apenas nos primeiros 30 minutos da sessão de HD, porém este declinou durante a sessão perdendo sua significância estatística (156). No entanto, estes autores avaliaram apenas 4 pacientes, o qual faz qualquer comparação entre os dois estudos problemática. Outro achado interessante foi observado na Cad de 3,0 mEq/L. Durante este procedimento, apesar de um balanço de Ca próximo a neutralidade, ou seja, nem remoção ou ganho de Ca foi observado, os pacientes apresentaram aumento dos níveis séricos de Ca e redução dos níveis de PTH. Também foi demonstrado que os pacientes com PTH > 300 pg/ml apresentavam na média perda de Ca, enquanto que aqueles com provável remodelação óssea normal ou baixa apresentaram na média um ganho de Ca, mas estes achados não refletiram no comportamento do Ca e PTH durante a HD. Há poucos estudos avaliando o uso de Cad de 3,0 mEq/L no comportamento do Ca e do PTH durante a sessão de HD. Fiedler e colaboradores e Hamano e colaboradores observaram a longo-prazo redução dos níveis de PTH e outros marcadores de alta remodelação óssea quando os pacientes foram alterados de uma Cad de 3,5 ou 3,0mEq/L para 2,5 mEq/l (178, 179). O aumento dos níveis de cálcio e redução dos níveis de PTH sugerem que estes pacientes apresentaram ganho de cálcio, no entanto, não é possível concluir no nosso estudo os motivos deste comportamento considerando a transferência de Ca apresentada. Portanto, estudos são necessários para melhor avaliar o impacto da Cad de 3,0 mEq/l a curto e longo-prazo.

Outro aspecto avaliado neste estudo foi a remoção de P e os fatores que poderiam influenciar a sua transferência durante a HD, em particular a remodelação óssea. Medidas para prevenir e tratar a hiperfosfatemia baseiam-se principalmente em uma dieta restrita em P, na administração de quelantes de P e na remoção pela diálise. Apesar de todas estas medidas, o controle do P não é alcançado em mais da metade dos pacientes em HD (147).

A remoção de P durante a HD é em geral subavaliada e é conhecido que HD convencional de 3 sessões semanal não é capaz de remover o excesso de P acumulado oriundo da dieta. Nosso estudo mostrou uma remoção média de P de 1073 ± 351,8 mg, o que está em concordância com estudos prévios cuja remoção de P variou de aproximadamente 800 a 1200 mg por sessão (155, 188, 192, 201, 206). A avaliação dos fatores que podem contribuir para a remoção de P durante a HD é importante tanto para a melhor compreensão da cinética do P como para implementação de possíveis medidas para aumentar sua remoção. Este estudo mostrou que a concentração sérica de P prédiálise, a concentração de Ca iônico, o nível sérico de PTH e o Kt/V foram determinantes para a remoção de P.

A concentração sérico de P foi o principal fator determinate da remoção de P. Como seria esperado e em concordância com outros estudos (201, 206), quanto maior a concentração sérica de P pré-diálise, maior é o seu gradiente entre o sangue e o dialisato e, portanto, maior sua difusão, no caso remoção, em vista da solução de diálise não conter P.

Como observado na transferência de Ca, a remodelação óssea, estimada pelo PTH, também afetou a remoção de P. Níveis mais elevados de PTH foram positivamente associados com maior remoção de P, embora com um impacto muito menor do que a concentração de P sérico. Ao analisar a remoção de P de acordo com a

remodelação óssea, conforme sugerido pelo K/DOQI (84), o grupo de pacientes com níveis de PTH > 300 pg/ml apresentaram uma remoção significativamente maior de P comparado ao grupo com PTH ≤ 300 pg/ml. Este achado corrobora a hipótese de que o grau de remodelação óssea pode influenciar a transferência de P durante a HD. Doença óssea de alta remodelação é associada com níveis séricos mais elevados de P, em consequência da maior reabsorção óssea com liberação tanto de Ca como de P do osso. Desta forma poderíamos supor que a maior remoção de P fosse secundária à maior concentração deste no compartimento extracelular. No entanto, a análise de regressão multivariada suportou a significância da remodelação óssea, mostrando que os níveis de PTH foram independentemente associados com a remoção de P. Isto vem em concordância com os resultados de Albalarte e colaboradores que observaram maior remoção de P em pacientes com níveis de PTH/OPG elevados (206). Nós também observamos que os níveis de PTH/OPG foram determinantes da remoção de P no presente estudo (dados não mostrados).

O achado de que o osso pode ser um dos compartimentos que liberam P durante o curso da diálise pode ser explicado pela hipótese proposta por Spalding e colaboradores de que a cinética do P envolve vários compartimentos (210). Como mostrado no presente estudo e em concordância com outros, nos primeiros 60 a 90 minutos da sessão de HD, o P sérico decai rapidamente, seguido por um platô, ou seja, não se observa uma redução maior nos níveis séricos (188, 210). Algumas horas após o término da sessão de diálise observa-se inclusive um aumento nos níveis séricos de P, o chamado rebote pós diálise (190). Este comportamento tem sido explicado como o resultado da redução do gradiente de P entre o sangue e o dialisato e a lenta difusão do P do compartimento intracelular para o extracelular. No entanto, Spalding e colaboradores postularam que a medida que a concentração sérica de P é reduzida a um determinado

limite, P seria também liberado de um terceiro compartimento com o objetivo de manter um nível sérico alvo entre aproximadamente 2 a 3 mg/dl (210). Como cerca de 86% do P corporal está no esqueleto e em torno de 250 mg é mobilizado durante o processo de remodelamento, o P liberado do terceiro reservatório poderia ser proveniente do esqueleto. Seguindo esta hipótese, nós poderíamos sugerir que pacientes apresentando uma alta remodelação óssea apresentam maior efluxo de P da superfície óssea comparado com aqueles com normal ou baixa remodelação óssea. Interessante no presente estudo foi a observação que a concentração média de P nas últimas 2 horas da HD foi em torno de 2 mg/dl para o grupo de pacientes com PTH ≤ 300 pg/ml e em torno de 3 mg/dl no grupo com PTH > 300 pg/ml. Este fato poderia corroborar a hipótese de maior liberação de P deste terceiro compartimento mantendo um gradiente maior entre o sangue e o dialisato e, consequentemente, maior remoção de P. De maneira interessante, Spalding e colaboradores sugerem a presença de um quarto reservatório, o qual seria acionado de forma intermitente, quando o P diminuísse a níveis críticos. Este quarto reservatório acionado em momentos de "emergência" seria supostamente localizado em componentes presentes no compartimento intracelular (210).

Como o osso libera P durante a HD não pode ser plenamente explicado no presente estudo. Como para o Ca, poderíamos especular possíveis mecanismos envolvidos nesta transferência. No processo de remodelação óssea espera-se um fluxo bidirecional de P do e para o mineral ósseo. Além disto, o crescimento do cristal requer tanto Ca como P e, portanto, é sugerida a existência de um gradiente de P entre o meio extracelular e o mineral ósseo. A reabsorção óssea por osteoclastos libera P para o meio extracelular e a deposição deste elemento na matriz osteóide depende da sua concentração extracelular (2). Portanto, é possível sugerir que durante a diálise, quando ocorre uma redução do P sérico, mais P é liberado do osso que apresenta alta

remodelação. No entanto, como esperado para o Ca, o processo de ativação dos osteoclastos não é rápido suficiente para explicar completamente esta hipótese. Embora osteocalcina não tenha sido um fator determinante para a remoção de P, é possível sugerir uma interação do P com o Ca via processo físico-químico (211). À medida que o Ca é liberado do osso mineral para as proteínas não colágenas da superfície óssea, algum fosfato poderia ser liberado diretamente para o fluído extracelular ósseo e reagir com o processo de equilíbrio do Ca (23). Se outros mecanismos responsáveis pela mineralização óssea, como o hormônio FGF-23 ou outras proteínas como DMP1, MEPE ou osteopontina (53) poderiam exercer algum papel na liberação ou captação de P pelo osso está além do objetivo deste estudo.

A concentração do Ca iônico, mas não Ca total, foi também um fator determinante da remoção de P. O íon Ca se apresenta em três formas no plasma, ou seja, ligado a proteínas, complexado com ânions ou na forma ionizada. Ca iônico apresenta uma associação inversa com os níveis séricos de P (212). Parece claro que quanto maior a concentração de Ca livre, maior é a capacidade para complexar com o P, resultando em uma menor concentração sérica de P. Apesar da possibilidade deste complexo Ca-P poder difundir via membrana de diálise, deposição deste complexo no esqueleto ou em sítios extra-ósseos não pode ser descartada.

O presente estudo também mostrou uma relação inversa entre Kt/V e remoção de P. Ao avaliar dois pontos de corte para Kt/V, a média de remoção de P foi maior no grupo de pacientes com Kt/V < 1,5 do que no grupo com Kt/V \geq 1,5. No entanto, a média de remoção de P não foi estatisticamente diferente entre os grupos de pacientes com Kt/V < 1,2 e Kt/V \geq 1,2, valor considerado como uma diálise adequada. Kt/V é um marcador usado para estimar adequação da diálise e baseia-se na depuração da uréia, um soluto de baixo peso molecular, durante o procedimento dialítico. Embora pudéssemos

supor que o Kt/V fosse diretamente associado com a remoção de P, resultados de estudos prévios mostraram resultados diversos. Gutzwiller e colaboradores mostraram uma associação significativa entre Kt/V e remoção de P, embora esta relação fosse considerada de pouco impacto pelos autores ($r^2=0.28$; p<0.0001) (188). Por outro lado, outros autores não encontraram qualquer correlação entre K/tV e remoção de P (199, 201, 206). Kt/V é a medida da depuração da uréia calculada pela uréia sérica e pode não refletir a remoção total de outros solutos com diferentes pesos moleculares e cinéticas, tal como o P. A cinética da uréia é bicompartimental e apresenta uma remoção constante no curso da sessão de HD, enquanto o P tem um comportamento multicompartimental conforme previamente descrito (210). Kt/V depende da dose da diálise e, mesmo em diálises de alto-fluxo e alta eficiência com tempo reduzido, níveis adequados de Kt/V são atingidos, enquanto a remoção de P depende mais do tempo da sessão de diálise (199, 213, 214). Ellot e colaboradores analisaram pacientes tratados com sessões de HD de 4hs, 6hs e 8 hs de duração. Eles mostraram que a remoção total de solutos, incluindo P, uréia, creatinina e β2-microglobulina, aumentou com o tempo de diálise mais longa independente de nenhuma diferença no Kt/V (199).

Outros fatores que poderiam teoricamente afetar a remoção de P não apresentaram significância. Estes incluem os níveis séricos de bicarbonato, magnésio e proteína total, e a taxa de ultrafiltração.

Teoricamente, o equilíbrio ácido-básico poderia afetar a remoção de P. Como anteriormente mencionado, a remoção de P na diálise é limitado pela sua lenta mobilização do compartimento intracelular. Alcalose pode aumentar a transferência de fosfato para dentro de eritrócitos reduzindo sua disponibilidade para remoção. Um efeito oposto pode ser observado na acidose (215). Níveis de bicarbonato pré-diálise, assim como o pH, não foram fatores determinantes na remoção total de P no presente

estudo. Estes resultados estão em concordância com estudo prévio de Harris e colaboradores (216). Estes autores avaliaram 9 pacientes adultos em três diferentes concentrações de bicarbonato no dialisato. Em duas das modalidades, os pacientes recebiam bicarbonato oral com objetivo de manter o bicarbonato sérico pré-diálise entre 24 a 26 mmol/L e um grupo sem suplementação para manter seu nível sérico entre 18 e 20 mmol/L. Eles não observaram diferença na remoção total de P entre os três grupos, ou seja, tanto o bicarbonato sérico pré-diálise como o uso de dialisato com concentrações mais elevadas de bicarbonato não afetaram a sua remoção. Por outro lado, Albalarte e colaboradores mostraram maior remoção de P no grupo de pacientes com níveis de bicarbonato ≤ 20 mEq/L do que no grupo com > 20 mEq/L (206). No presente estudo, remoção de P não foi diferente entre os pacientes com bicarbonato sérico maior e menor do que 20 mEq/l (dados não mostrados).

Remoção de volume (ultrafiltração) foi outro fator não associado com remoção de P neste estudo. Gallar e colaboradores também não encontraram uma associação entre estes dois fatores (201). O P é removido da circulação por difusão e convecção. No entanto, estudos comparando diferentes modalidades de diálise com transporte convectivo como hemodiafiltração e hemofiltração mostram resultados discordantes. Man e colaboradores não observaram diferença na remoção total de P entre HD, hemofiltração e hemodiafiltração (217). Por outro lado, Minutolo e colaboradores e Lornoy e colaboradores observaram remoção de aproximadamente 44% e 19% maior de P com hemodiafiltração do que com HD, respectivamente (191, 195). Interessante que a remoção de P no nosso estudo foi na média de 1073 ± 351 mg, resultado similar ao de Minutolo e colaboradores (1171 ± 90 mg) e Lornoy e colaboradores (1159 ± 296 mg) na modalidade de hemodiafiltração (190, 194). Inclusive a remoção foi mesmo maior em pacientes com alta remodelação óssea. É possível sugerir que, embora modalidades de

diálise com componente convectivo apresentem maior depuração de P, a quantidade total de P removida pode não ser substancialmente maior, fato explicado pelo comportamento cinético do P. Portanto, a explicação da ultrafiltração não ser determinante para a quantidade total de P removido pode ser plenamente explicado pela cinética do P como também pela limitação da quantidade de ultrafiltração do equipamento Genius© que limita a capacidade de ultrafiltração em 1 litro/hora.

Este estudo apresenta diversas limitações. Primeiro este estudo foi de curta duração e os pacientes realizaram apenas uma sessão de diálise com cada uma das quatro Cad. Portanto, não é possível prever se os resultados poderiam mudar com o tempo de acordo com as condições clínicas do paciente, do tratamento de diálise ou das medicações usadas no tratamento da doença óssea. Também não é possível extrapolar estes resultados nos efeitos de longo-prazo das diferentes Cad, embora este não tenha sido o objetivo deste estudo. Uma segunda limitação foi que a remodelação óssea foi determinada baseada no PTH sérico, e não em achados de biópsia óssea. Entretanto, a remodelação óssea foi também estimada baseada em outros marcadores bioquímicos associados com reabsorção e formação óssea, os quais aumentam a sensibilidade e especificidade (85). Terceiro, não é possível extrapolar estes resultados para outras formas de diálise como hemofiltração, hemodiafiltração ou modalidades de diálise peritoneal. Por fim, os balanços de Ca e P durante HD foram realizados no sistema Genius. O procedimento de HD na Genius difere do procedimento padrão, principalmente com relação ao fluxo do dialisato de 350 ml ao invés de 500 a 800 ml rotineiramente empregado na prática clínica. O menor fluxo do dialisato poderia causar uma menor dialisância e afetar a transferência dos elementos analisados. No entanto, a remoção de P observada neste estudo foi comparável e mesmo maior em relação a outros usando HD convencional. Além disto, o objetivo do estudo foi avaliar se a remodelação óssea poderia afetar a transferência de Ca e P durante a diálise. Para tal, todos os pacientes realizaram igual procedimento, inclusive com randomização da Cad para evitar qualquer viés que pudesse comprometer os resultados. Portanto, acredita-se que os resultados não seriam diferentes caso este estudo fosse realizado em máquinas convencionais de HD com fluxo maior de dialisato.

Para o nosso conhecimento, este foi o primeiro estudo na prática que avaliou o papel da remodelação óssea na transferência de Ca durante a diálise, e o segundo a avaliar sua influência na remoção de P. O estudo claramente mostrou que existe uma grande variabilidade individual na transferência de Ca, e mesmo de P, independente da Cad, durante a HD. Além dos gradientes de concentração entre o sangue e o dialisato afetarem a transferência destes elementos, a remodelação óssea também mostrou ser determinante.

Com relação ao balanço de Ca, estes achados são particularmente importantes em vista de não haver, até os dias de hoje, um consenso sobre a melhor Cad a ser usada. Além disto, as recomendações em relação a Cad nas principais diretrizes internacionais que abordam o manejo dos distúrbios do metabolismo mineral e ósseo da DRC foram baseadas muito mais em opinião do que em evidências. Isto pode ser observado na mais recente recomendação sobre a escolha da Cad proposta pelo KDIGO: "Em pacientes com DRC estágio 5 em diálise, nós sugerimos usar uma Cad entre 2,5 e 3,0 mEq/l" (73). Eles também sugerem que seria prudente manter uma certa flexibilidade na escolha da Cad, o qual deveria ser individualizada, se possível, para encontrar o melhor equilíbrio para os pacientes. Os resultados do balanço de Ca deste estudo sugerem um novo aspecto da cinética do Ca e chamam a atenção sobre a idéia de tentar padronizar uma mesma Cad para todos os pacientes com DRC. Estes resultados deveriam encorajar a comunidade nefrológica a considerar a remodelação óssea quando escolher a Cad a ser

usada, auxiliando na seleção da mais apropriada para cada paciente. Embora este estudo não tenha sido prospectivo e o uso prolongado de uma determinada Cad possa alterar o balanço de Ca a longo-prazo, nós podemos refletir a partir dos resultados e da literatura vigente, sobre o uso de determinadas Cad em situações específicas. Por exemplo, Cad iguais ou menores a 2,5 mEq/L deveriam ser usadas com cautela em pacientes com níveis séricos de PTH elevados. Excessiva remoção de Ca poderia agravar o HPT secundário e causar significativa perda de massa óssea (156, 218). Por outro lado, os resultados mostraram que o uso de Cad de 3,5 mEq/L foi associado com um balanço positivo de Ca em uma parcela considerável dos pacientes. Isto deveria ser avaliado, especialmente em pacientes com níveis de PTH mais baixo, os quais geralmente apresentam doença óssea adinâmica, menor capacidade de tamponar Ca e maior risco para calcificação vascular.

Em relação à remoção de P, a sua cinética não é completamente entendida, provavelmente pela sua distribuição multicompartimental. Os fatores envolvidos e a possível interação entre eles podem afetar a transferência deste elemento entre os diferentes compartimentos. A possibilidade da remodelação óssea afetar esta transferência, fato também demonstrado por Albalarte e colaboradores (206), é um passo a mais na compreensão da cinética do P. Isto se torna relevante à medida que entender mecanismos implicados na remoção pode auxiliar na avaliação de possíveis medidas para auxiliar no controle do P nos pacientes com DRC, em particular medidas que possam melhorar sua remoção pela diálise.

7. CONCLUSÃO

7.1. Conclusões específicas

- 7.1.1. Os resultados deste estudo mostraram uma grande variabilidade na transferência de Ca durante a sessão de HD entre os pacientes independente da Cad utilizada. Na média, remoção de Ca ocorreu nas Cad mais baixas de 2,0 e 2,5 mEq/L. Na Cad de 3,0 mEq/L, o balanço de Ca foi próximo a neutralidade, enquanto ganho de Ca ocorreu na Cad de 3,5 mEq/L.
- 7.1.2. O gradiente de Ca entre o compartimento sanguíneo e o dialisato foi o fator determinante mais importante na transferência de Ca.
- 7.1.3. O estado de remodelação óssea, avaliada por níveis de PTH, contribuiu para o balanço de Ca durante a sessão de HD, em particular durante HD com Cad mais baixas.
- 7.1.4. A remoção de P foi determinada principalmente pela concentração de P pré-D diálise, refletindo o gradiente de P entre o compartimento sanguíneo e o dialisato.
- 7.1.5. A remodelação óssea inferida pelos níveis de PTH foi independentemente associada com a remoção de P.
- 7.1.6. Ca iônico e adequação da diálise, avaliada pelo índice de Kt/V, apresentaram associação inversa com a remoção de P.

7.2. Conclusão final

Os resultados deste estudo sugerem que a remodelação óssea influencia a transferência de Ca e a remoção de P durante a diálise. Nós sugerimos que a remodelação óssea seja levada em consideração nos futuros modelos de cálculo da

cinética do Ca e do P, assim como na escolha da Cad mais apropriada para cada paciente em tratamento hemodialítico.

8. ANEXOS

ANEXO A. PERSPECTIVAS FUTURAS

Este estudo sugere que remodelação óssea é um fator determinante no balanço do Ca e do P durante a sessão de HD. No entanto, remodelação óssea foi avaliada indiretamente através dos níveis de PTH, o que apresenta limitações no diagnóstico. Também níveis de osteocalcina sérica poderia apresentar um papel na tranferência de Ca. Isto sugere que proteínas não colágenas, que poderiam estar implicadas no controle rápido do Ca extracelular via processo físico-químico, também jogam um papel na transferência de Ca, mas não do P, durante a HD. No entanto, níveis séricos podem não refletir a sua presença no osso. A partir dos resultados deste estudo, outros são necessários para maior compreensão dos resultados observados. Para tal, protocolos de pesquisa com os seguintes objetivos seriam apropriados:

- Avaliação da transferência de Ca e P em pacientes com diagnóstico de doença óssea renal comprovadas com biópsia óssea, além dos marcadores séricos de remodelação óssea.
- Avaliar se a presença de osteocalcina e sua expressão na superfície óssea correlaciona com o seu nível sérico, assim como com o balanço de Ca durante a HD.
- Avaliar se as condutas atualmente usadas no tratamento das anormalidades do metabolismo mineral e ósseo, incluindo paratireoidectomia, uso de

calcimiméticos ou calcitriol e seus análogos, indicados no HPT secundário, poderiam alterar a transferência de Ca e P durante o procedimento dialítico.

- Avaliar o impacto a longo-prazo das diferentes Cad de forma individualizada para os pacientes conforme remodelação óssea e transferência de Ca, assim como seu impacto na calcificação vascular.
- Avaliar se a remodelação óssea também pode afetar a transferência de cálcio e fósforo na diálise peritoneal.

ANEXO B. APROVAÇÃO PELA COMISSÃO DE ÉTICA



APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 20.12.06, APROVOU o Protocolo de Pesquisa nº 1250/06, intitulado: "Influência da remodelação óssea na transferência de cálcio e fósforo durante hemodiálise em pacientes com doença renal", apresentado pelo Departamento de CLÍNICA MÉDICA, inclusive Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde 196 de 10.10.1996, inciso IX.2, letra "C").

Pesquisador (a) Responsável: **Dr. Vanda Jorgetti**Pesquisador (a) Executante: **Sra. Cristina Karohl**

CAPPesq, 20 de dezembro de 2006.

helde Calif

PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO Presidente da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP e da FMUSP
Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Rua Ovidio Pires de Campos. 225, 5º andar - CEP 05403 010 - São Paulo - SP
Fone: 011 - 30696442 fax: 011 - 3069 6492 – e-mail: cappesa@hcnet.usp.br / secretariacappesa2@hcnet.usp.br / secretariacappesa2@hcnet.usp.br matc

9. REFERÊNCIAS

- Murray J. Favus and David Goltzman. Regulation of Calcium and Magnesium. In: Cliford J. Rosen. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 7th edition. Published by the American Society for Bone and Mineral Research. Washington, D.C. 2008. p. 104-108.
- 2. Bushinsky DA, Monk RD. Electrolyte quintet: Calcium. Lancet. 1998; 352:306-311.
- Rizzoli R, Bonjour JP. Physiology of calcium and phosphate homeostases. In: Markus J. Seibel, Simon P. Robins, and John P. Bilezikian. Dinamics of Bone and Cartilage Metabolism. 2 nd. Edition. Burlington-USA; Elsevier inc. 2006. p. 345-357.
- Ruppe MD, Jan de Beur SM. Disorders of phosphate homestasis. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 7th edition. Published by the American Society for Bone and Mineral Research. Washington, D.C. 2008. p. 123-127.
- 5. Brown EM. PTH secretion in vivo and in vitro. Regulation by calcium and other secretagogues. *Miner Electrolyte Metab.* 1982; 8:130-150.
- 6. Reichel H, Koeffler HP, Norman AW. The role of the vitamin D endocrine system in health and disease. *N Engl J Med.* 1989; 320: 980-991.
- 7. Kurokawa K. Calcium-regulating hormones and the kidney. *Kidney Int.* 1987; 32:760-771.
- 8. Brown EM, Gamba G, Riccardi D, Lombardi M, Butters R, Kifor O, Sun A, Hediger MA, Lytton J, Hebert SC. Cloning and characterization of an extracellular Ca-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature*. 1993; 366:575–580.

- 9. Brown EM, Hebert SC. Calcium-receptor-regulated parathyroid and renal function. *Bone*. 1997; 20:303-309.
- 10. Berndt T, Schiavi S, Kumar R. "Phosphatonins" and the regulation of phosphorus homeostasis. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005; 289:1170-1182.
- 11. Kumar R. Vitamin D and calcium transport. Kidney Int. 1991; 40:1177-1189.
- 12. Bouhtiauy I, Lajeunesse D, Christakos S, Brunette MG. Two vitamin D3-dependent calcium binding proteins increase calcium reabsorption by different mechanisms. II. Effect of CaBP 9K. *Kidney Int.* 1994; 45: 469–474.
- 13. Heney RP. Vitamin D endocrine physiology. J Bone Miner Res. 2007; 22:25-27.
- 14. Rizzole R, Fleisch H, Bonjour JP. Role of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on intestinal phosphate absortion with normal vitamin D supply. *J Clin Invest.* 1977; 60:639-647.
- 15. Friedman EA. An introduction to phosphate binders for the treatment of hyperphosphatemia in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl*.2005; 96:S2-S6.
- 16. Heaney RP: How does bone support calcium homeostasis? *Bone.* 2003; 33:264-268.
- 17. Parffit AM: Misconceptions (3): calcium leaves bone only by resorption and enters only by formation. *Bone*. 2003; 33:259-263.
- 18. Chow J, Chambers TJ. An assessment of the prevalence of organic material on bone surfaces. *Calcif Tissue Int.* 1992; 50:118-122.
- 19. Robey PG, Boskey AL. The Composition of Bone. In: Cliford J. Rosen. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 7th edition. Published by the American Society for Bone and Mineral Research. Washington, D.C. 2008. p. 32-38.

- 20. Reeve J. The turnover time of calcium in the exchangeable pools of bone in man and the long-term effect of a parathyroid hormone fragment. *Clin Endocrinol*. 1978; 8:445-455.
- 21. Talmage RV, Matthews JL, Mobley HT, Lester GE. Calcium homeostasis and bone surface proteins, a postulated vital process for plasma calcium control. *J Musculoskel Neuron Interact.* 2003; 3:194-200.
- 22. Krause C, Gorter DJJ, Karperien M, Dijke P. Signal Transduction Cascades Controlling Osteoblast Differentiation. In: Cliford J. Rosen. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 7th edition. Published by the American Society for Bone and Mineral Research. Washington, D.C. 2008. p. 10-16.
- 23. Ross FP. Osteoclast Biology and Bone Resorption. In: Cliford J. Rosen. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 7th edition. Published by the American Society for Bone and Mineral Research. Washington, D.C. 2008. p. 16-22.
- 24. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008; 131-139.
- 25. Mundy GR, Guise TA. Hormonal control of calcium homeostasis. *Clin Chem.* 1999; 45:1347-1352.
- 26. Holtrop ME, King GJ. The ultrastructure of the osteoclast and its functional implications. *Clin Orthop.* 1977; 123:177-196.
- 27. Chambers TJ, Moore A. The sensitivity of isolated osteoclasts to morphological transformation by calcitonin. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983; 57:819-824.
- 28. Talmage RV, Lester GE, Hirsch PF. Parathyroid hormone and plasma calcium control: an editorial. *J Musculoskel Neuron Interact*. 2000; 1:121-126.

- 29. Neuman WF, Neuman MW, Diamond AG, Menanteau J, Gibbons WS. Blood:bone disequilibrium VI. Studies of the solubility characteristics of brushite: apatite mixtures and their stabilization by noncollagenous proteins of bone. *Calcif Tissue Int*. 1982; 34:149-157.
- 30. Talmage RV, Talmage DW. Calcium homeostasis: Solving the solubility problem. *J Muskuloskelet Neuronal Interact.* 2006; 6:402-407.
- 31. Talmage DW, Talmage RV. Calcium homeostasis: How bone solubility relates to all aspects of bone physiology. *J Muskuloskelet Neuronal Interact*. 2007; 7:108-112.
- 32. Talmage RV, Elliott HR. Parathyroid function as studied by continuous peritoneal lavage in nephrectomized rats. *Endocrinology*. 1957; 61:256-263.
- 33. Talmage RV, Doppelt SH, Fondren FB. An interpretation of acute changes in plasma ⁴⁵Ca following parathyroid hormone administration to thyroparathyroidectomized rats. *Calcif Tiss Res.* 1976; 22:117-128
- 34. Talmage RV, Mobley HT. Calcium homeostasis: Reassessment of the actions of parathyroid hormone. *Gen Comp Endocrinol*. 2008; 156:1-8.
- 35. Divieti P, Inomata N, Chapi K, Singh R, Juppner H, Brinkhurst FR. Receptors for the carboxyl-terminal region of PTH(1-84) are highly expressed in osteocytic cells. *Endocrinology*. 2001; 142:916-925.
- 36. Yu S, Franceschi RT, Luo M, Zhang X, Jiang D, Lai Y, Jiang Y, Zhang J, Xiao G. Parathyroid hormone increases activating transcription factor 4 expression and activity in osteoblasts: Requirement for *Osteocalcin* gene expression. *Endocrinology*. 2008; 149:1960-1968.
- 37. Marenzana M, Shipley AM, Squitiero P, Kunkel JG, Rubinacci A. Bone as an ion exchange organ: Evidence for instantaneous cell-dependent calcium efflux from bone not due to resorption. *Bone*. 2005; 37:545-554.

- 38. Dvorak MM, Riccardi D. Ca²⁺ as an extracellular signal in bone. *Cell Calcium*. 2004; 35:249-255.
- 39. Lorget F, Kamel S, Mentaverri R, Wattel A, Naassila M, Maamer M, Brazier M. High extracellular calcium concentration directly stimulate osteoclast apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; 268:899-903.
- 40. Kanatani M, Sugimoto T, Kanzawa M, Yano S, Chihara K. High extracellular calcium inhibits osteoclast-like cell formation by directly acting on the calcium sensing receptor existing in osteoclast precursor cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 261:144-148.
- 41. Kameda T, Mano H, Yamada Y, Takai H, Amizuka N, Kobori M, Izumi N, Kawashima H, Ozawa H, Ikeda K, Kameda A, Hakeda Y, Kumegawa M. Calciumsensing receptor in mature osteoclasts, which are bone resorbing cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 245:419-422.
- 42. Mentaverri R, Yano S, Chattopadhyay N, Petit L, Kifor O, Kamel S, Terwilliger EF, Brazier M, Brown EM. The calcium sensing receptor is directly involved in both osteoclast differentiation and apoptosis. *FASEB J.* 2006; 20:1945-1954.
- 43. Dvorak MM, Chen TH, Orwoll B, Garvey C, Chang W, Bikle DD, Shoback DM. Constitutive activity of the osteoblast Ca²⁺-sensing receptor promotes loss of cancellous bone. *Endocrinology*. 2007; 148:3156-3163.
- 44. Huan J, Martuseviciene G, Olggard K, Levin E. Calcium-sensing receptor and recovery from hypocalcaemia in thyroparathyroidectomized rats. *Eur J Clin Invest*. 2007; 37:214-221.
- 45. Potts JT. Parathyroid hormone: past and present. J Endocrinol. 2005; 187:311-325.

- 46. Guerreiro PM, Renfro JL, Power DM, Canario AVM. The parathyroid hormone family of peptides: structure, tissue distribution, regulation, and potential functional roles in calcium and phosphate balance in fish. *J Physiol.* 2007; 292:679–696.
- 47. Brown EM, Pollak M, Seidman CE, Seidman JG, Chou YH, Riccardi D, Hebert SC. Calcium-ion-sensing cell-surface receptors. *N Engl J Med.* 1995; 333:234-240.
- 48. Brown EM. Four-parameter model of the sigmoidal relationship between parathyroid hormone release and extracellular calcium concentration in normal and abnormal parathyroid tissue. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983; 56:572-581.
- 49. Nissenson RA, Juppner H. Parathyroid Hormone. In: Cliford J. Rosen. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 7th edition. Published by the American Society for Bone and Mineral Research. Washington, D.C. 2008. p. 123-127.
- 50. Bacic D, Wagner CA, Hernando N, Kaissling B, Biber J, Murer H. Novel aspects in regulated expression of the renal type IIa Na/Pi-cotransporter. *Kidney Int Suppl*. 2004; 66:5-12.
- 51. Kempson SA, Lotscher M, Kaissling B, Biber J, Murer H, Levi M. Parathyroid hormone action on phosphate transporter mRNA and protein in rat renal proximal tubules. *Am J Physiol.* 1995; 268:784-791.
- 52. Saito H, Maeda A, Ohtomo S, Hirata M, Kusano K, Kato S, Ogata E, Segawa H, Miyamoto K, Fukushima N. Circulating FGF-23 is regulated by 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and phosphorus in vivo. *J Biol Chem.* 2005; 280:2543-2349.
- 53. Feng JQ, Ye L, Schiavi S. Do osteocytes contribute to phosphate homeostasis? *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2009; 157(1):104-117.
- 54. Moe S, Drueke T, Cunningham J, Goodman W, Martin K, Olgaard K, Ott S, Sprague S, Lameire N, Eknoyan G. Definition, evaluation, and classification of

- renal osteodystrophy: A position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int.* 2006; 69:1945-1953.
- 55. Malluche H, Faugere MC. Renal bone disease 1990: an unmet challenge for the nephrologist. *Kidney Int.* 1990; 38:193-211.
- 56. Sherrard DJ, Hercz G, Pei Y, Maloney NA, Greenwood C, Manuel A, Saiphoo C, Fenton SS, Segre GV. The spectrum of bone disease in end-stage renal failure an evolving disorder. *Kidney Int.* 1993; 43:436-442.
- 57. Block GA, Klassen PS, Lazarus JM, Ofsthun N, Lowrie EG, Chertow GM. Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. *J Am Soc Nephrol.* 2004; 15:2208-2218.
- 58. Hruska KA, Teitelbaum SL. Renal osteodystrophy. N Engl J Med. 1995; 333:166-174.
- 59. Martin KJ, Gonzalez EA. Metabolic bone disease in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2007; 18:875-885.
- 60. Slatopolsky E, Brown A, Dusso A. Pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int.* 1999; 73:14-19.
- 61. Slatopolsky E, Bricker NS. The role of phosphorus restriction in the prevention of secondary hyperparathyroidism in chronic renal disease. *Kidney Int.* 1973; 4:141-145.
- 62. Naveh-Many T, Rahamimov R, Livni N, Silver J. Parathyroid cell proliferation in normal and chronic renal failure rats. The effects of calcium, phosphate, and vitamin D. *J Clin Invest*. 1995; 96:1786-1793.
- 63. Llach F, Massry SG. On the mechanism of secondary hyperparathyroidism in moderate renal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1985; 61:601-606.

- 64. Llach F. Secondary hyperparathyroidism in renal failure: the trade-off hypothesis revisited. *Am J Kidney Dis.* 1995; 25:663-679.
- 65. Levin A, Bakris GL, Molitch M, Smulders M, Tian J, Williams LA, Andress DL. 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; 71:31-38.
- 66. Gutierrez O, Isakova T, Rhee E, Sha A, Holmes J, Collerone G, Jüppner H, Wolf M. Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:2205-2214.
- 67. Larsson T, Nisbeth U, Ljunggren O, Jüppner H, Jonsson KB. Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. *Kidney Int.* 2003; 64:2272-2279.
- 68. Indridason OS, Heath H, Khosla S, Yohay DA, Quarles LD. Non-suppressible parathyroid hormone secretion is related to gland size in uremic secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int.* 1996; 50:1663-1671.
- 69. Arnold A, Brown MF, Urena P, Gaz RD, Sarfati E, Drueke TB. Monoclonality of parathyroid tumors in chronic renal failure and in primary parathyroid hyperplasia. *J Clin Invest.* 1995; 95:2047-2053.
- 70. Drueke TB. The pathogenesis of parathyroid gland hyperplasia in chronic renal failure. *Kidney Int.* 1995; 48:259-272.
- 71. Gogusev J, Duchambon P, Hory B, Giovannini M, Goureau Y, Sarfati E, Drueke TB. Depressed expression of calcium receptor in parathyroid gland tissue of patients with hyperparathyroidism. *Kidney Int.* 1997; 51:328-336.

- 72. Yano S, Sugimoto T, Tsukamoto T, Chihara K, Kobayashi A, Kitazawa S, Maeda S, Kitazawa R. Association of decreased calcium-sensing receptor expression with proliferation of parathyroid cells in secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int.* 2000; 58:1980-1986.
- 73. KDIGO Clinical Practice Guideline for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;113:S1-S130.
- 74. Martin KJ, Olgaard K, Coburn JW, Coen GM, Fukagawa M, Langman C, Malluche HH, McCarthy JT, Massry SG, Mehls O, Salusky IB, Silver JM, Smogorzewski MT, Slatopolsky EM, McCann L. Diagnosis, assessment, and treatment of bone turnover abnormalities in renal osteodystrophy. Am J Kidney Dis. 2004; 43:558-565.
- 75. Salusky IB, Goodmann WG. Adynamic renal osteodystrophy: is there a problem? *J Am Soc Nephrol.* 2001; 12:1978-1985.
- 76. Andress DL. Adinamic bone in patients with chronic kidney diasease. *Kidney Int.* 2008; 73:1345-1354.
- 77. Kurz P, Monier-Faugere MC, Bognar B, Werner E, Roth P, Vlachojannis J, Malluche HH. Evidence for abnormal calcium homeostasis in patients with adynamic bone disease. *Kidney Int.* 1994; 15:855-861.
- 78. Malluche HH, Monier-Faugere MC. Risk of adynamic bone disease in dialyzed patients. *Kidney Int Suppl.* 1992; 38:62-67.
- 79. Hercz G, Pei Y, Greenwood C, Manuel A, Saiphoo C, Goodman WG, Segre GV, Fenton S, Sherrard DJ. Aplastic osteodystrophy without aluminum: the role of "suppressed" parathyroid function. *Kidney Int.* 1993; 44:860-866.

- 80. Klawansky S, Komaroff E, Cavanaugh Jr PF, Mitchell DY, Gordon MJ, Connely JE, Ross SD. Relationship between age, renal function and bone mineral density in the US population. *Osteoporos Int.* 2003; 14:570–576.
- 81. Barreto FC, Barreto DV, Moysés RM, Neves CL, Jorgetti V, Draibe AS, Canziani ME, Carvalho AB. Osteoporosis in hemodialysis patients revisited by bone histomorphometry: new insight into na old problem. *Kidney Int.* 2006; 69:1852-1857.
- 82. Coco M, Rush H. Increased incidence of hip fracture in dialysis patients with low serum parathyroid hormone. *Am J Kidney Dis.* 2000; 36:1115-1121.
- 83. Alem AM, Sherrard DJ, Gillen DL, Weiss NS, Beresford SA, Heckbert SR, Wong C, Stehmen-Breen C. Increased risk of hip fracture among patients with end-stage renal disease. *Kidney Int.* 2000; 58:396-399.
- 84. Eknoyan G, Levin A, Levin NW. Bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis.* 2003; 42:1-201.
- 85. Barreto FC, Barreto DV, Moysés RMA, Neves KR, Canziani MEF, Draibe AS, Jorgetti V, Carvalho AB. K/DOQI-recommended intact PTH levels do not prevent low-turnover bone disease in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2008; 73:771-777.
- 86. Sprague SM. The role of the bone biopsy in the diagnosis of renal osteodystrophy. *Semin Dial.* 2000; 13:152-155.
- 87. Russo D, Palmiero G, De Blasio AP, Balletta MM, Andreucci VE. Coronary artery calcification in patients with CRF not undergoing dialysis. *Am J Kidney Dis.* 2004; 44:1024-1030.
- 88. Tomiyama C, Higa A, Dalboni MA, Cendoroglo M, Draibe SA, Cuppari L, Carvalho AB, Neto EM, Canziani ME. The impact of traditional and non-traditional

- risk factors on coronary calcification in pre-dialysis patients. *Nephrol Dial transplant*. 2006; 21:2464-2471.
- 89. Kramer H, Toto R, Peshock R, Cooper R, Victor R. Association between chronic kidney disease and coronary artery calcification: the Dallas Heart Study. *J Am Soc Nephrol.* 2005; 16:507-513.
- 90. Garland JS, Holden RM, Groome PA, Lam M, Nolan RL, Morton AR, Pickett W. Prevalence and association of coronary artery calcification in patients with stages 3 to 5 CKD without cardiovascular disease. *Am J Kidney Dis.* 2008;52:849-858.
- 91. Adeney KL, Siscovick DS, Ix JH, Seliger SL, Shlipak MG, Jenny NS, Kestenbaum BR. Association of serum phosphate with vascular and valvular calcification in moderate CKD. J Am Soc Nephrol. 2009;20:381-387.
- 92. Spiegel DM, Raggi P, Mehta R, Lindberg JS, Chonchol M, Ehrlich J, James G, Chertow GM, Block GA. Coronary and aortic calcifications in patients new to dialysis. *Hemodialysis Int.* 2004; 8:265-272.
- 93. Fensterseifer DM, Karohl C, Schvartzman P, Costa CA, Veronese FJ. Coronary calcification and its association with mortality in haemodialysis patients. *Nephrology*. 2009; 14:164-170.
- 94. Jean G, Bresson E, Terrat JC, Vanel T, Hurot JM, Lorriaux C, Mayor B, Chazot C. Peripheral vacular calcification in long-haemodialysis patients: associated factors and survival consequences. *Nephrol Dial Transplant*. 2009; 24:948-955.
- 95. Goodman WG, Goldin J, Kuizon BD, Yoon C, Gales B, Sider D, Wang Y, Chung J, Emerick A, Greaser L, Elashoff RM, Salusky IB. Coronary artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med.* 2000; 342:1478-1483.

- 96. Braun J, Oldendorf M, Moshage W, Heidler R, Zeitler E, Luft FC. Electron beam computed tomography in the evaluation of cardiac calcification in chronic dialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 1996; 27:394-401.
- 97. Longenecker JC, Coresh J, Powe NR, Levey AS, Fink NE, Martin A, Klag MJ. Traditional cardiovascular disease risk factors in dialysis patients compared with the general population: the CHOICE Study. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13:1918-1927.
- 98. Xue JL, Frazier ET, Herzog CA, Collins AJ. Association of heart disease with diabetes and hypertension in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis.* 2005; 45:316-323.
- 99. Cheung AK, Sarnak MJ, Yan G, Dwyer JT, Heyka RJ, Rocco MV, Teehan BP, Levey AS. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2000; 58:353-362.
- 100. Jurkovitz CT, Abramson JL, Vaccarino LV, Weintraub WS, McClellan WM. Association of high serum creatinine and anemia increases the risk of coronary events: results from the prospective community-based atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *J Am Soc Nephrol.* 2003; 14:2919-2925.
- 101. Guerin AP, London GM, Marchais SJ, Metivier F. Arterial stiffening and vascular calcification in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2000; 15:1014-1021.
- 102. Stompór T, Pasowicz M, Sullowicz W, Dembinska-Kiec A, Janda K, Wojcik K, Tracz W, Zdzienicka A, Klimeczek P, Janusz-Grzybowska E. An Association Between Coronary Artery Calcification Score, Lipid Profile and Selected Markers of Chronic Inflammation in ESRD Patients Treated with Peritoneal Dialysis. *Am J Kidney Dis.* 2003; 41:203-211.

- 103. Tamashiro M, Iseki K, Sunagawa O, Inoue T, Higa S, Afuso H, Fukiyama K. Significant association between the progression of coronary artery calcification and dyslipidemia in patients on chronic hemodialysis. *Am J Kidney Dis.* 2001; 38:64-69.
- 104. Stenvinkel P. Inflammatory and atherosclerotic interactions in the depleted uremic patient. Blood Purif. 2001; 19:53-61.
- 105. Manns BJ, Burgess ED, Hyndman ME, Parsons HG, Schaefer JP, Scott-Douglas NW. Hyperhomocyst(e)inemia and the prevalence of atherosclerotic vascular disease in patients with end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis.* 1999; 34:669-677.
- 106. Barreto DV, Barreto FC, Carvalho AB, Cuppari L, Cendoroglo M, Draibe AS, Moyses RM, Neves KR, Jorgetti V, Blair A, Guiberteau R, Fernandes Canziani ME. Coronary calcification in hemodialysis patients: the contribution of traditional and uremic-related risk factors. *Kidney Int.* 2005; 67:1576-1582.
- 107. Neves KR, Graciolli FG, dos Reis LM, Graciolli RG, Neves CL, Magalhaes AO, Custodio MR, Batista DG, Jorgetti V, Moyses RM. Vascular calcification: contribution of parathyroid hormone in renal failure. *Kidney Int.* 2007; 71:1262-1270.
- 108. Chertow GM, Burke SK, Raggi P. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2002; 62:245-252.
- 109. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM. Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. *Hypertension*. 2001; 38:938-942.
- 110. London GM, Guerin AP, Marchais F, Metivier F, Pannier B, Adda H. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial transplant*. 2003; 18:1731-1740.

- 111. London GM, Marchais SJ, Guerin AP, Metivier F, Adda H. Arterial structure and function in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2002; 17:1713-1724.
- 112. Glassock RJ, Pecoits-Filho R, Barberato SH: Left ventricular mass in chronic kidney disease and ESRD. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4:S79-S91.
- 113. Moe SM, O'Neill KD, Duan D, Ahmed S, Chen NX, Leapman SB, Fineberg N, Kopecky K. Medial artery calcification in ESRD patients is associated with deposition of bone matrix proteins. *Kidney Int.* 2002; 61:638-647.
- 114. Moe SM, Duan D, Doehle BP, O'Neill KD, Chen NX. Uremia induces the osteoblast differentiation factor Cbfa1 in human blood vessels. *Kidney Int.* 2003; 63:1003-1011.
- Giachelli C. Vascular calcification mechanisms. J Am Soc Nephrol. 2004;
 15:2959-2964.
- 116. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation*. 1999; 99:2434-2439.
- 117. Adragão T, Pires A, Lucas C, Birne R, Magalhaes L, Gonçalves M, Negrão AP. A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19:1480-1488.
- 118. Matsuoka M, Iseki K, Tamashiro M, Fujimoto N, higa N, Touma T, Takishita S. Impact of high coronary artery calcification score (CACS) on survival in patients on chronic hemodialysis. *Clin Exp Nephrol.* 2004;8:54-58.
- 119. Okuno S, Ishimura E, Kitatani K, Fujino Y, Kohno K, Maeno Y, Maekawa K, Yamakawa T, Imanishi Y, Inaba M, Nishizawa Y. Presence of abdominal aortic

- calcification is significantly associated with all-cause and cardiovascular mortality in maintenance hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2007; 49:417-425.
- 120. Adragão T, Pires A, Birne R, Curto JD, Lucas C, Gonçalves M, Negrão AP. A plain x-ray vascular calcification score is associated with arterial stiffness and mortality in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2009; 24:997-1002.
- 121. Moe SM, Drueke TB. Management of secondary hyperparathyroidism: the imortance and the challenge of controlling parathyroid hormone levels without elevating calcium, phosphorus, and calcium-phosphorus product. *Am J Nephrol*. 2003; 23:369-379.
- 122. Slatopolsky E. Recommendations for treatment of renal osteodystrophy in dialysis patients. *Kidney Int.* 1975; 7(suppl 2):253-255.
- 123. Pendras JP, Erickson RV. Hemodialysis: A successful therapy for chronic uremia. *Annals Intern Med.* 1966; 64:293-310.
- 124. Coburn JW, Hartenbower DL, Massry SG. Intestinal absortion of calcium and the effect of renal insufficiency. *Kidney Int.* 1973; 4;96-104.
- 125. Johnson WJ, Goldsmith RS, Beabout JW, Jowsey J, Kelly PJ, Arnaud CD. Prevention and reversal of progressive secondary hyperparathyroidism in patients maintained by hemodialysis. *Am J Med.* 1974; 56:827-832.
- 126. Ogden DA, Holmes JH. Changes in total and ultrafiltrable plasma calcium and magnesium during hemodialysis. *Trans Am Soc Artif Internal Organs*. 1966; 12:200-203.
- 127. Kaye M, Mangel R, Neubauer E. Studies in calcium metabolism in patients on chronic hemodialysis. *Excerpta Med.* 1967; 131:17-23.
- 128. Tamm HS, Nolph KD, Maher JF. Factors affecting plasma calcium concentration during hemodialysis. *Archs Intern Med.* 1971; 128:769-773.

- 129. Skrabal F, Dittrich P, Gabi F. Calcium uptake and phosphate removal durinh hemodialysis with varying dialysate calcium. *Klin Wschr.* 1974; 52: 266-271.
- 130. Wing AJ. Optimun calcium concentration of dialysis fluid for maintenance haemodialysis. *Br Med J.* 1968; 4:145-149.
- 131. Strong HE, Schatz BC, Shinaberger JH, Coburn JW. Measurement of dialysance and bi-directional fluxes of calcium in vivo using radiocalcium. *Trans Am Soc Artif Organs*. 1971; 17:108-115.
- 132. Goldsmith RS, Furszyfer J, Johnson WJ, Fournier AE, Arnaud CD. Control of secondary hyperparathyroidism during long-term hemodialysis. *Am J Med.* 1971; 50:692-699.
- 133. Jowsey J, Johnson WJ, Taves DR, Kelly PJ. Effects of dialysate calcium and fluoride on bone disease during regular hemodialysis. *J Lab Clin Med.* 1972; 79:204-214.
- 134. Bone JM, Davison AM, Robson JS. Role of dialysate calcium concentration in osteoporosis in patients on haemodialysis. *Lancet*. 1972; 1:1047-1049.
- 135. Fuchs C, Brasche M, Donath-Wolfram U, Kubosch J, Quellhorst E, Scheler F. Dialysate calcium and plasma calcium fractions during and after haemodialysis.
 Klin Wschr. 1975; 53:39-42.
- 136. Fournier AE, Johnson WJ, Taves DR, Beabout JW, Arnaud CD, Goldsmith RS. Etiology of hyperparathyroidism and bone disease during chronic hemodialysis. I. Association of bone disease with potentially etiologic factors. *J Clin Invest.* 1971; 50:592-598.
- 137. Johnson WJ. Optimum dialysate calcium concentration during maintenance hemodialysis. *Nephron.* 1976; 17:241-258.

- 138. Andress DL, Maloney NA, Endres DB, Sherrard DJ. Aluminum-associated bone disease in chronic renal failure hight prevalence in a long-term dialysis population. *J Bone Miner Res.* 1986; 1:391-398.
- 139. Cannata-Andia JB, Fernandez-Martin JL. The clinical impact of aluminum overload in renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 2002; 17 (suppl 2):9-12.
- 140. Fournier A, Monniere P, Ben Hamida F, el Esjer N, Shenovda M, Ghazali A, Bouzernidj M, Achard JM, Westeel PF. Use of alkaline calcium salts as phosphate binder in uremic patients. *Kidney Int suppl.* 1992; 38:50-61.
- 141. Slatopolsky E, Weerts C, Lopez-Hilker S, Norwood K, Zink M, Windus D, Delmez J. Calcium carbonate as a phosphate binder in patients with chronic renal failure undergoing dialysis. *N Engl J Med.* 1986; 315:157-161.
- 142. Mai ML, Emmett M, Sheikh MS, Santa Ana CA, Schiller L, Fordtran JS.
 Calcium acetate, an effective phosphorus binder in patients with renal failure. *Kidney Int.* 1989; 36:690-695.
- 143. Meric F, Yap P, Bia MJ. Etiology of hypercalcemia in hemodialysis patients on calcium carbonate therapy. *Am J Kidney Dis.* 1990; 16:459-464.
- 144. Slatopolsky E, Weerts C, Norwood K, Giles K, Fryer P, Finch J, Windus D, Delmez J. Long-term effects of calcium carbonate and 2.5 mEq/L calcium dialysate on mineral metabolism. *Kidney Int.* 1989; 36:897-903.
- 145. Sawyer N, Noonan K, Altmann P, Marsh F, Cunningham J. High-dose calcium carbonate with stepwise reduction in dialysate calcium concentration: effective phosphate control and aluminum avoidance in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 1989; 4:105-109.

- 146. Block GA, Spiegel DM, Ehrlich J, Mehta R, Lindbergh J, Dreisbach A, Raggi P. Effects of sevelamer and calcium on coronary artery calcification in patients new to hemodialysis. *Kidney Int.* 2005; 68:1815-1824.
- 147. Young EW, Albert JM, Satayathum S, Goodkin DA, Pisoni RL, Akiba T, Akizawa T, Kurokawa K, Bommer J, Piera L, Port FK. Predictors and consequences of altered mineral metabolism:the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. *Kidney Int.* 2005; 67:1179-1187.
- 148. Kimata N, Albert JM, Akiba T, Yamazaki S, Kawaguchi Y, Fukuhara S, Akizawa T, Saito A, Asano Y, kurokawa K, Pisoni RL, Port FK. Association of mineral metabolism factors with all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients: The Japan dialysis outcomes and practice patterns study. Hemodial Int. 2007; 11:340-348.
- 149. Locatelli F, Cannata-Andia JB, Drueke TB, Horl WH, Fouque D, Heimburger O, Ritz E. Management of disturbances of calcium and phosphate metabolism in chronic renal insufficiency, with emphasis on the control of hyperphosphataemia. Nephrol Dial Transplant. 2002; 17:723-732.
- 150. Slatopolsky E, Brown A, Dusso A. Role of phosphorus in the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *Am J kidney Dis.* 2001; 37(1 suppl 2):S54-S57.
- 151. Hsu CH. Are we mismanaging calcium and phosphate metabolism in renal failure? *Am J Kidney Dis.* 1997; 29:641-649.
- 152. Sigrist M, McIntyre CW. Calcium exposure and removal in chronic hemodialysis patients. *J Renal Nutr.* 2006; 16:41-46.
- 153. Goldsmith RS, Johnson WJ, Arnaud CD. The hyperparathyroidism of renal failure. Pathophysiology and treatment. *Clin Endocrinol Metab.* 1974; 3:305-321.

- 154. Argiles A, Kerr PG, Canaud B, Flavier JL, Mion C: Calcium kinetics and the long-term effects of lowering dialysate calcium concentration. *Kidney Int.* 1993; 43:630-640.
- 155. Hou SH, Zhao J, Ellman CF, Hu J, Griffin Z, Spiegel DM, Bordeau JE. Calcium and phosphorus fluxes during hemodialysis with low calcium dialysate. *Am J Kidney Dis.* 1991; 18:217-224.
- 156. Fernandez E, Borras M, Pais B, Montoliu J. Low–calcium dialysate stimulates parathormone secretion and its long-term use worsens secondary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol.* 1995; 6:132-135.
- 157. Fabrizzi F, Bacchini G, Di Filippo, Pontoriero G, Locatelli. Intradialytic calcium balances with different calcium dialysate levels. Effects on cardiovascular stability and parathyroid function. *Nephron.* 1996; 72:530-535.
- 158. McIntyre CW. Calcium balance during hemodialysis. Semin Dial. 2008; 21:38-42.
- 159. van der Sande FM, Kooman JP, Leunissen KM. Intradialytic hypotension--new concepts on an old problem. *Nephrol Dial Transplant*. 2000; 15:1746-1748.
- 160. Scholze A, Maier A, Stocks F, Karamohamad F, Vetter R, Zidek W, tepel M. Sustained increase of extracellular calcium concentration causes arterial vasoconstriction in humans. *J Hipertens*. 2005; 23:2049-2054.
- 161. Lang R, Fellner S, Neumann A, Bushinsky D, Borow K. Left ventricular contractility varies directly with blood ionized calcium. *Ann Intern Med.* 1998; 108:524-529.
- 162. Maynard JC, Cruz C, Kleerekoper M, Levin NW. Blood pressure response to changes in serum ionized calcium during hemodialysis. *Ann Intern Med.* 1986; 104:358-361.

- 163. Gabutti L, Bianchi G, Soldini D, Marone C, Burnier M. Haemodinamic consequences of changing bicarbonate and calcium concentration in haemodialysis fluids. *Nephrol Dial Transplant*. 2009; 24:973-981.
- 164. Fellner SK, Lang RM, Neumann A, Spencer KT, Bushinsky DA, Borow KM. Physiological mechanisms for calcium-induced changes in systemic arterial pressure in stable dialysis patients. *Hypertension*. 1989; 13:213-218.
- 165. Sherman R, Bialy G, Gazinski B, Bernholc A, Eisinger R. The effect of dialysate calcium levels on blood pressure during hemodialysis. *Am J Kidney Dis.* 1986; 8:244-247.
- 166. Henrich W, Hunt J, Nixon J. Increased ionized calcium and left ventricular contractility during hemodialysis. *N Engl J Med.* 1984; 310:19-23.
- 167. van Kuijk WH, Mulder AW, Peels CH, Harff GA, Leunissen KM. Influence of changes in ionized calcium on cardiovascular reactivity during hemodialysis. *Clin Nephrol.* 1997; 47:190-196.
- 168. van der sande FM, Cheriex EC, van Kuijk WH, Leunissen KM. Effect of dialysate calcium concentrations on intradialytic blood pressure course in cardiac compromised patients. *Am J Kidney Dis.* 1998; 32:125-131.
- 169. Jeroen K, Ali B, Francesco P. EBPG guideline on haemodynamic instability. Nephrol Dial Transplant. 2007. 22:22-44.
- 170. Kyriazis J, Glotsos J, Bilirakis L, Smirnioudis N, Tripolitou M, Georgiakodis F, Grimani I. Dialysate calcium profiling during hemodialysis: use and clinical implications. *Kidney Int.* 2002; 61:276-287.
- 171. Genovesi S, Dossi, Vigano MR, Galbiati E, Prolo F, Stella A, Stramba-Badiale
 M. Electrolyte concentration during haemodialysis and QT interval prolongation in uremic patients. *Europace*. 2008; 10(6):771-777.

- 172. Voroneanu L, Covic A. Arrhythmias in hemodialysis patients. *J Nephrol.* 2009; 22(6):716-725.
- 173. Kyriazis J, Stamatiadis D, Mamonna A. Intradialytic and interdialytic effects of treatment with 1.25 and 1.75 Mmol/L of calcium dialysate on arterial compliance in patients on hemodialysis. *Am J Kidney Dis.* 2000; 35:1096-1103.
- 174. Kyriazis J, Katsipi I, Stylianou K, Jenakis N, Karida A, Daphnis E. Arterial stiffness alterations during hemodialysis: the role of dialysate calcium. *Nephron Clin Pract.* 2007; 106:34-42.
- 175. Bellasi A, Ferramosca E, Muntner P, Ratti C, Wildman RP, Block GA, Raggi P: Correlation of simple imaging tests and coronary artery calcium measured by computed tomography in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2006;70:1623-1628.
- 176. Yamada K, Fujimoto S, Nishiura R, Komatsu H, Tatsumoto M, Sato Y, Hara S, Hisanaga S, Ochiai H, Nakao H, Eto T. Risk factors of the progression on calcification in patients on chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2007; 22:2032-2037.
- 177. Hwang JC, Chen CA, Wang CT, Chen HC. Long-term effect of different dialysate calcium concentrations on parathyroid hormone levels in hemodialysis patients. *Renal Failure*. 2008; 30:943-951.
- 178. Fiedler R, Deuber HJ, Langer T, Osten B, Mohan S, Jehle PM. Effects of reduced dialysate calcium on calcium-phosphorus product and bone metabolism in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract.* 2004; 96(1):c3-c9.
- 179. Hamano T, Oseto S, Fujji N, Ito T, Katayama M, Horio M, Imai E, Hon M. Impact of lowering dialysate calcium concentration on serum bone turnover markers in hemodialysis patients. *Bone*. 2005; 36:909-916.

- 180. Felsenfeld AJ, Rodríguez M, Aguilera-Tejero E. Dynamics of parathyroid hormone secretion in health and secondary hyperparathyroidism. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007; 2:1283-1305.
- 181. Felsenfeld AJ, Llach F. Parathyroid gland function in chronic renal failure. *Kidney Int.* 1993; 43:771-789.
- 182. Felsenfeld AJ, Rodriguez M, Dunlay R, Llach F. A comparison of parathyroid-gland function in haemodialysis patients with different forms of renal osteodystrophy. *Nephrol Dial Transplant*. 1991; 6:244-251.
- 183. Ramirez JA, Goodman WG, Gornbein J, Menezes C, Moulton L, Segre GV, Salusky IB. Direct *in vitro* comparison of calcium-regulated parathyroid hormone secretion in normal volunteers and patients with secondary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 76:1489-1494.
- 184. Lafage-Proust MH, C, Barthe N, Aparício M. Bone Mass and Dynamic Parathyroid Function According to Bone Histology in Nondialyzed Uremic Patients after Long-term Protein and Phosphorus Restriction. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999; 84:512-519.
- 185. Gotch F, Kotanko P, Handelman G, Levin N. A kinetic model of calcium mass balance during dialysis therapy. *Blood Purif.* 2007; 25:139-149.
- 186. Kates DM, Sherrard DJ, Andress DL. Evidence that serum phosphate is independently associated with serum PTH in patients with chronic renal failure. *Am J Kidney Dis.* 1997; 30:809-813.
- 187. Ganesh SK, Stack AG, Levin NW, Hulbert-Shearon T, port FK. Association of elevated serum PO₄, Ca x PO₄ product, and parathyroid hormone with cardiac mortality risk in chronic hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2001; 12:2131-2138.

- 188. Gutzwiller JP, Schneditz D, Huber AR, Schindler C, Gutzwiller F, Zehnder CE. Estimating phosphate removal in hemodialysis: an additional tool to quantify dialysis dose. *Nephrol Dial Transplant*. 2002; 17:1037-1044.
- 189. Schuck O, Kaslikova J. Kinetics of phosphorus during hemodialysis and the calculation of its effective dialysis clearance. *Clin Nephrol.* 1997; 47:379-383.
- 190. Minutolo R, Bellizzi V, Cioffi M, Iodice C, Giannattasio P, Andreucci M, Terracciano V, Di Iorio BR, Conte G, De Nicola L. Postdialytic rebound of serum phosphorus: Pathogenetic and clinical insights. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13:1046-1054.
- 191. Vaithilingam I, Polkinghorne KR, Atkins RC, Kerr PC. Time and exercise improve phosphate removal in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2004; 43:85-89.
- 192. Zucchelli P, Santoro A. Inorganic phosphate removal during different dialytic procedures. *Int J Art Organ.* 1987; 10:173-178.
- 193. Chaveau P, Piognet JL, Kano T. Phosphate removal rate: a comparative study of five high-flux dialysers. *Nephrol Dial Transplant*. 1991; 6(suppl 2):114-115.
- 194. Lornoy W, De Meester J, Becaus I, Billiouw JM, Van Malderen PA, Van Pottelberge M. Impact of convective flow on phosphorus removal in maintenance hemodialysis patients. *J Renal Nutr.* 2006; 16:47-53.
- 195. Leypoldt JK. Kinetics of β2-microglobulin and phosphate during hemodialysis: Effects of treatment frequency and duration. *Semin Dial.* 2005; 18:401-408.
- 196. Pogglitsch H, Petek W, Ziak E, Sterz F, Holzer H. Phosphorus kinetics during haemodialysis and haemofiltration. *Proc Eur Dial Transplant Assoc Eur Ren Assoc*. 1985; 21:461-468.

- 197. Lindsay RM, Alhejaili F, Nesrallah G, Leitch R, Clement L, Heidenheim P, Kortas C. Calcium and phosphate balance with quotidian hemodialysis. Am J Kidney Dis. 2003; 42:24-29.
- 198. Katopodis KP, Chala A, Koliousi E, Takouli L, Kalaitzidis R, Theodorou J, Siamopoulos KC. Role of the dialyzer membrane on the overall phosphate kinetics during hemodialysis. *Blood Purif.* 2005; 23(5):359-364.
- 199. Ellot S, Van Biesen W, Dhondt A, Van de Wynkele H, Glorieux G, Verdonck P, Vanholder R. Impact of hemodialysis duration on the removal of uremic retention solutes. *Kidney Int.* 2008; 73:765-770.
- 200. Gutzwiller JP, Schneditz D, Huber AR, Schindler C, Garbani E, Zehnder CE. Increasing blood flow increases KtV(urea) and potassium removal but fails to improve phosphate removal. *Clin Nephrol.* 2003; 59:130-136.
- 201. Gallar P, Ortiz M, Ortega O, Rodriguez I, Seijas V, Carraño A, Oliet A, Vigil A. Factores en la eliminación de P en hemodialysis. *Nefrología*. 2007; 27:46-52.
- 202. Hothi DK, Harvey E, Piva E, Keating L, Secker D, Geary DF. Calcium and phosphate balance in adolescents on home nocturnal haemodialysis. *Pediatr Nephrol.* 2006; 21:835-841.
- 203. Toussaint S, Boddington J, Simmonds R, Waldron C, Somerville C, Agar J. Calcium phosphate metabolism and bone mineral density with nocturnal hemodialysis. *Hemodialysis Int.* 2006; 10:326-337.
- 204. Mucsi I, Hercz G, Uldall R, Ouwendyk M, Francoeur R, Pierratos A. Control of Serum phosphate without any phosphate binders in patients treated with nocturnal hemodialysis. *Kidney Int.* 1998; 53:1399-1404.

- 205. Ayus JC, Achinger SG, Mizani MR, Chertow GM, Furmaga W, Lee S, Rodriguez F. Phosphorus balance and mineral metabolism with 3 h daily hemodialysis. *Kidney Int.* 2007; 71:336-342.
- 206. Albalate M, Piedra C, Fernandez C, Lefort M, Santana H, Hernando P, Hernandez J, Caramelo C. Association between phosphate removal and markers of boné turnover in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2006; 21:1626-1632.
- 207. Daugirdas JT, Van Stone JC. Physiologic principles and urea kinetic modeling, in Handbook of Dialysis (3rd ed), eds. Daugirdas JT, Blake PG. Ing TS, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001, pp 15-45.
- 208. Ureña P, de Vernejoul MC. Circulating biochemical markers of bone remodeling in uremic patients. *Kidney Int.* 1999; 55: 2141–2156.
- 209. Costa AFP, Reis LM, Ribeiro MC, Moysés RMA, Jorgetti V. Effects of calcitriol on parathyroid function and on bone remodeling in secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant*. 2003; 18:743-749.
- 210. Spalding EM, Chamney PW, Farrington K. Phosphate kinetics during hemodialysis: Evidence for biphasic regulation. *Kidney Int.* 2002; 61:655-667.
- 211. Talmage RV, Mobley HT. The concentration of the free calcium in plasma is set by the extracellular action of noncollagenous proteins and hydroxyapatite. *Gen Comp Endocrinol*. 2009; 162:245-250.
- 212. Ferrari P, Singer R, Agarwal A, Hurn A, Townsend MA, Chubb P. Serum phosphate is an important determinat of corrected serum calcium in end-stage kidney disease. *Nephrology*. 2009; 14:383-388.

- 213. Mactier RA, Madi AM, Allam BF. Comparison of high-efficiency and standard haemodialysis providing equal urea clearances by partial and total dialysate quantification. *Nephrol Dial Transplant*. 1997; 12:1182-1186.
- 214. Ratanarat R, Brendolan A, Volker G, Bonello M, Salvatori G, Andrikos E, Yavuz A, Crepaldi C, Ronco C. Phosphate kinetics during different dialysis modalities. *Blood Purif.* 2005; 23(1):83-90.
- 215. Bevington A, Brough D, Baker FE, Hattersley J, Walls J. Metabolic acidosis is a potent stimulus for cellular inorganic phosphate generation in uremia. *Clin Sci* (*Lond*). 1995; 88(4):405-412.
- 216. Harris DCH, Yuill E, Chesher, DW. Correcting acidosis in hemodialysis: effect on phosphate clearance and calcification risk. *J Am Soc Nephrol*. 1995; 6:1607-1612.
- 217. Man NK, Chauveau P, Kuno T, Poignet JL, Yanai M. Phosphate removal during hemodialysis, hemodiafiltration, and hemofiltration. A reappraisal. *ASAIO Trans*. 1991; 37(3):M463-M465.
- 218. Saisu T, Wakabayashi Y, Yamada K, Shigematsu T, Goto S, Nishimura M, Miura Y, Nakano H, Moriya H. Effect of low-calcium hemodialysate on bone metabolism. *J Bone Miner Metab*. 2000; 18(2):57-62.

10. APÊNDICE

10.1. Artigo publicado no jornal Nephrol

Nephrol Dial Transplant (2010) 25: 1244–1251 doi: 10.1093/ndt/gfp597

Advance Access publication 29 January 2010

Effects of bone remodelling on calcium mass transfer during haemodialysis

Cristina Karohl^{1,2}, Juliana de Paiva Paschoal¹, Manuel Carlos Martins de Castro¹, Rosilene Motta Elias¹, Hugo Abensur¹, João Egídio Romão Jr¹, Jutta Passlick-Deetjen^{3,4}, Vanda Jorgetti¹ and Rosa Maria Affonso Moysés¹

¹Nephrology Division, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil, ²Nephrology Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil, ³Fresenius Medical Care, Bad-Homburg, Germany and ⁴Department of Nephrology, Heinrich Heine University of Duesseldorf, Duesseldorf, Germany

Correspondence and offprint requests to: Rosa Maria Affonso Moysés; E-mail: katza@uol.com.br

Abstract

Background. During haemodialysis, calcium balance can affect, or be affected by, mineral metabolism. However, when dialysate calcium concentration (d[Ca]) is chosen or kinetic models are employed to calculate calcium balance, bone remodelling is rarely considered. In this study, we examined whether bone remodelling affects calcium mass transfer during haemodialysis.

Methods. We dialysed 23 patients using a d[Ca] of 1.0, 1.25, 1.5 or 1.75 mmol/L. Calcium mass transfer was measured and associated with remodelling bone factors.

Results. Calcium balance varied widely depending on the d[Ca]. Calcium removal was -578 ± 389 , -468 ± 563 , $+46\pm400$ and $+405\pm413$ mg when a d[Ca] of 1.0, 1.25, 1.5 or 1.75 mmol/L was used, respectively (1.0 and 1.25 vs 1.5 and 1.75 mmol/L, P<0.001; 1.5 vs 1.75 mmol/L, P<0.05). Univariate analysis showed that calcium balance correlated with calcium gradient, parathyroid hormone (PTH), osteocalcin and dialysis vintage. Multivariate analysis revealed that calcium balance was dependent on calcium gradient, PTH and osteocalcin.

Conclusions. These results suggest that bone remodelling could affect calcium mass transfer during haemodialysis.

Keywords: calcium balance; calcium kinetic; hemodialysis; parathormone; renal osteodystrophy

Introduction

Disturbances in mineral and bone metabolism are highly prevalent and are a major cause of morbidity and mortality among chronic kidney disease (CKD) patients [1–3]. To address this issue, current guidelines recommend a number of therapeutic strategies [4], such as the use of phosphate binders, vitamin D analogues or calcimimetics. However, in current clinical practice, little attention is given to the dialysate composition.

Since the dawn of the renal replacement therapy era, most decisions related to the dialysate calcium concentra-

tion (d[Ca]) were based on expert opinion rather than on evidence. Initially, a d[Ca] of 1.25 mmol/L was recommended because it was similar to the normal serum calcium concentration [5]. However, since many patients began to develop a severe form of high-turnover bone disease, the recommendation was changed to 1.75 mmol/L in the 1970s [6]. In the 1980s, calcitriol- and calcium-based binders became the treatment of choice for patients on dialysis and many practitioners returned to the 1.25-mmol/L d[Ca] in order to avoid hypercalcaemia [7,8]. More recently, calcium overload, even in the absence of hypercalcaemia episodes, became a matter of concern because it is associated with vascular calcification, low-turnover bone disease and a higher mortality risk [1,9]. Whereas in Japan, Australia and Europe a d[Ca] of 1.5 mmol/L is common [3], the KDOQI Guideline recommends a d[Ca] of 1.25 mmol/L for most patients [10]. However, this recommendation is based on a study performed nearly 20 years ago by Hou et al. who evaluated only seven patients [11]. Therefore, to date, there is no evidence or real consensus regarding the optimal d[Ca]. Since there have been very few studies evaluating calcium balance during haemodialysis and since the studies that have been conducted have produced conflicting results, this debate continues.

Various studies have shown that, over the long term, d [Ca] affects parathyroid hormone (PTH) secretion and, consequently, bone turnover [12–14]. However, patient bone turnover status is not typically considered when kinetic models are employed to calculate calcium and phosphorus balance. In this study, we attempted to determine whether the bone turnover rate, as estimated by quantifying serum levels of PTH and levels of other biochemical markers, could itself affect calcium mass transfer during haemodialysis.

Materials and methods

Patients

Fifty-five CKD patients on haemodialysis in the Nephrology Department of the University of São Paulo School of Medicine Hospital das Clínicas

Bone turnover and calcium balance 1245

were enrolled in the study, which was reviewed and approved by the local ethics committee. Twenty-three patients fulfilled the inclusion criteria as follows: age >18 years and haemodialysis vintage ≥3 months. Exclusion criteria were as follows: acute inflammatory disease, haemodynamic instability, unstable coronary disease, any disease (other than CKD) that might cause hypercalcaemia, previous parathyroidectomy, current use of corticosteroids or anti-seizure drugs and daily dialysis. All participating patients gave written informed consent.

The most common CKD aetiology was chronic glomerulonephritis (n=8), followed by diabetic nephropathy (n=6), hypertension (n=1) and other causes (n=5). The aetiology of renal failure was unknown in three patients. Of the 23 patients studied, 19 (82.6%) were currently being treated with phosphate binders (two with calcium-based phosphate binders, 12 with sevelamer and five with both), whereas nine (39.1%) were being treated with calcitriol (oral or intravenous). None of the patients were taking calcimimetics. The current d[Ca] was 1.25 mmol/L in four patients, 1.5 mmol/L in six and 1.75 mmol/L in 13.

All patients were submitted to consecutive, randomly assigned, haemodialysis sessions with d[Ca]s of 1.0, 1.25, 1.5 and 1.75 mmol/L. The remaining constituents of the dialysate were the same in all dialysis sessions (sodium, 138 mEq/L; potassium, 2 mEq/L; bicarbonate, 35 mEq/L; magnesium, 1 mEq/L; and glucose, 90 mg/dl). Each 4-h dialysis session was performed using a Genius® dialysis system (Fresenius Medical Care, Bad-Homburg, Germany) with an FX 60 hollow fibre dialyser (Helixone®, surface area=1.4 m², ultrafiltration coefficient of 46 ml/h mmHg; Fresenius Medical Care). Blood and dialysate flow rates were both 350 ml/min. The ultrafiltration rate was adjusted according to the dry weight of each patient. Arterial blood pressure and heart rate were obtained prior to and once every 30 min during each dialysis session. Body weight was obtained prior to and at the end of each dialysis session.

Biochemical parameters

Blood samples. Blood samples for the determination of ionized calcium, intact PTH and phosphate were collected prior to and once every 30 min during each dialysis session. Blood samples for the determination of total calcium, albumin, urea, magnesium and bicarbonate were collected prior to and once every hour during the dialysis session. Blood samples for the determination of deoxypyridinoline, bone alkaline phosphatase, osteoprotegerin and osteocalcin were collected only once, at the baseline, and were stored at -80°C until analysis.

We used an automated analyser (Cobas-Integra; Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) in order to determine total calcium (reference range (RR)=8.8 to 10.5 mg/dl), urea (RR=10 to 50 mg/dl), magnesium (RR= 1.58 to 2.55 mg/dl) and serum phosphate (RR=2.3 to 4.5 mg/dl). A colorimetric assay was employed to measure albumin (RR=3.4 to 4.8 g/dl). Ionized calcium (RR=1.11 to 1.40 mmol/L) and bicarbonate (RR=25 to 30 mEq/L) were measured by an ion-selective electrode. Bone alkaline phosphatase (RR=11.6 to 42.7 U/L) was measured by enzyme immunoassay (Metra Biosystem Inc., Mountain View, CA, USA), Serum deoxypyridinoline (RR= 3.25 ± 0.66 nmol/L) was determined by enzyme immunoassay (Quidel Corporation, San Diego, CA, USA). Intact osteocalcin (RR=3.7 to 10 ng/ml) was determined by enzyme immunoassay (Quidel Corporation, San Diego, CA, USA). Serum osteoprotegerin (median reference value, 36 pg/ml) was determined by enzyme immunoassay (Biomedica Gruppe, Wien, Austria). Serum intact PTH (RR=10 to 87 pg/ml) was measured by chemiluminescence assay (IMMULITE 2000, DPC; Medlab, San Antonio, TX, USA).

Urea reduction ratio was calculated according to the following formula[15]:

$$URR(\%) = [(Upre-Upost)/Upre]*100$$

where URR is the urea reduction ratio and U is urea.

Dialysate samples. Dialysate samples for the determination of calcium and urea were collected from the total fresh and spent dialysate prior to and at the end of each dialysis session, respectively. The fresh dialysate was sampled at the inlet before the dialysate entered the dialyser, and the spent dialysate was collected from the ultrafiltrate receptacle, after which it was mixed thoroughly in order to quantify calcium concentration in the

total spent dialysate. Calcium mass transfer was calculated according to the following formula [16]:

Ca mass transfer = [total waste dialysate volume(L)

*total spent dialysate Ca(mg/dl)]

-[90 *total inlet dialysate Ca(mg/dl)] *10.

Calcium removal during dialysis is expressed as a negative number, whereas calcium gain during dialysis is expressed as a positive number.

The calcium gradient between blood and dialysate was calculated according to the following formula:

Ca gradient = (pre-dialysis serum total calcium

(mg/dl)*0.58)-d[Ca](mg/dl).

Statistical analysis

Graph Pad Prism version 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) and Statistical Package for the Social Sciences for Windows, version 10.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) were used. All data are expressed as the mean \pm SD, except for those with non-Gaussian distribution, which are identified and also expressed as median (range). Unpaired t test or one-way analysis of variance were applied when the distribution was Gaussian, whereas Mann-Whitney test or Friedman test were applied when the distribution was non-Gaussian. The correlation between calcium balance and other variables was assessed using the Spearman correlation coefficient. Multivariate linear regression analysis was used to determine which independent variables significantly influenced the dependent variable (calcium balance). Independent variables included in the multivariate analysis were those that had proven to be significant in the univariate analysis. Values of $P\!<\!0.05$ were considered statistically significant.

Results

Biochemical characteristics and mass balance

Twenty-three patients (12 males; 11 females), aged $43.2 \pm$ 17 years (range, 21 to 81 years), on haemodialysis for $55.2 \pm$ 49.7 months (range, 6 to 168 months), were evaluated. These patients were dialysed using a d[Ca] of 1.0, 1.25, 1.5 or 1.75 mmol/L. As shown in Table 1, the urea reduction ratio was lower only at a d[Ca] of 1.25 mmol/L. At baseline, bone alkaline phosphatase was 77.36±56.07 U/L, osteocalcin was 95.65±55 ng/ml, deoxypyridinoline was 72.7±78.36 nmol/ml and osteoprotegerin was 296.3± 136 pg/ml. As shown in Table 2, calcium mass transfer varied widely depending on the d[Ca]. However, the calcium balance was negative in all 23 patients when a d[Ca] of 1.0 was used, in 17 of the patients when a d[Ca] of 1.25 mmol/L was used, in 14 of the patients when a d[Ca] of 1.5 mmol/L was used and in two of the patients when a d [Ca] of 1.75 mmol/L was used. As expected, calcium removal was higher when the d[Ca] was 1.0 or 1.25 mmol/L than when it was 1.5 or 1.75 mmol/L, as well as when the d [Ca] was 1.5 mmol/L than when it was 1.75 mmol/L. Statistical significance was not achieved only between 1.0 and 1.25 mmol/L.

As can be seen in Figure 1, there was wide variation among patients in terms of calcium balance, even at similar d[Ca]s. In order to evaluate which factors influence calcium balance, univariate analysis was performed, which revealed that calcium balance correlated with serum PTH (r=-0.27; P=0.0096), osteocalcin (r=-0.27; P=0.0099), calcium gradient (r=0.45; P<0.0001) and dialysis vintage

1246 C. Karohl *et al.*

Table 1. Baseline characteristics of haemodialysis patients

Parameter	$Mean \pm SD$	P value
Ionized calcium (mmol/L)		0.3
1.0 d[Ca]	1.25 ± 0.11	
1.25 d[Ca]	1.24 ± 0.12	
1.5 d[Ca]	1.27 ± 0.09	
1.75 d[Ca]	1.23 ± 0.11	
Total calcium (mg/dl)		0.3
1.0 d[Ca]	8.89 ± 0.56	
1.25 d[Ca]	9.12 ± 0.96	
1.5 d[Ca]	8.86 ± 0.61	
1.75 d[Ca]	8.93 ± 0.67	
Phosphate (mg/dl)		0.9
1.0 d[Ca]	5.17 ± 1.39	
1.25 d[Ca]	5.29 ± 1.48	
1.5 d[Ca]	5.12 ± 1.77	
1.75 d[Ca]	5.53 ± 1.67	
PTH (pg/ml)		0.5
1.0 d[Ca]	424.4 ± 415.7	
1.25 d[Ca]	405.8 ± 273.5	
1.5 d[Ca]	381.5 ± 344.3	
1.75 d[Ca]	416.4 ± 385.5	
Albumin (g/dl)		0.3
1.0 d[Ca]	4.23 ± 0.26	
1.25 d[Ca]	4.24 ± 0.19	
1.5 d[Ca]	4.19 ± 0.28	
1.75 d[Ca]	4.15 ± 0.26	
Magnesium (mg/dl)		0.2
1.0 d[Ca]	2.71 ± 0.47	
1.25 d[Ca]	2.69 ± 0.52	
1.5 d[Ca]	2.67 ± 0.42	
1.75 d[Ca]	2.71 ± 0.42	
Bicarbonate (mEq/L)		0.5
1.0 d[Ca]	18.7 ± 2.28	
1.25 d[Ca]	18.63 ± 2.26	
1.5 d[Ca]	18.65 ± 2.96	
1.75 d[Ca]	18.9 ± 1.92	
Urea reduction ratio (%)		0.001
1.0 d[Ca]	73.92 ± 7.06	
1.25 d[Ca]	$71.07 \pm 7.49*$	
1.5 d[Ca]	74.2 ± 6.71	
1.75 d[Ca]	73.29 ± 6.88	
Ultrafiltration (L)		0.6
1.0 d[Ca]	2.68 ± 1.05	
1.25 d[Ca]	2.85 ± 0.95	
1.5 d[Ca]	2.72 ± 0.86	
1.75 d[Ca]	2.75 ± 1.11	

^{*}P<0.01 vs 1.0 and 1.5 d[Ca].

Table 2. Calcium mass transfer by d[Ca]

	Calcium mass transfer (mg)			
d[Ca]	Mean±SD	Median	(25–75% range)	
1.0 mmol/L 1.25 mmol/L 1.5 mmol/L 1.75 mmol/L	-578±389* -468±563* 46±400** 405±413	-492 -468 -46 268	(-799 to -323) (-733 to +19) (-231 to +142) (+155 to +1358)	

^{*}P<0.001 vs 1.5 and 1.75 mmol/L.

(r=-0.21; P=0.0380). There was also a trend toward a significant correlation with bone alkaline phosphatase (r=-0.19; P=0.06), serum albumin (r=-0.19; P=0.07) and deoxypyridinoline (r=-0.18; P=0.08).

Since we found a significant correlation between PTH and calcium balance, we investigated whether bone remodelling (as estimated by PTH) could affect calcium mass transfer. There were five patients (21.74%) with PTH levels lower than 150 pg/ml, eight patients (34.78%) with PTH levels between 150 and 300 pg/ml and 10 patients (43.48%) with PTH levels higher than 300 pg/ml. Therefore, patients were divided in two groups according to bone remodelling: low/normal bone remodelling (PTH levels ≤300 pg/ml) and high bone remodelling (PTH levels >300 pg/ml), as suggested in the K/DOQI guidelines [10]. As shown in Table 3, 13 (56.52%) patients with PTH levels ≤300 pg/ml also presented significantly lower levels of bone alkaline phosphatase, deoxypyridinoline and osteocalcin. At a d[Ca] of 1.0 or 1.5 mmol/L, the 10 patients presenting PTH levels >300 pg/ml lost a significantly greater amount of calcium than did the 13 patients presenting PTH levels ≤300 pg/ml (Table 4). When we compare the mean calcium balance of each patient during all four procedures (1.0, 1.25, 1.5 and 1.75 mmol/L), patients with PTH levels >300 pg/ml presented a mean balance of -332 ±235 mg, whereas patients with PTH levels ≤300 pg/ml had a mean balance of $-8\pm200\,\mathrm{mg}$ (P<0.005). When we analysed calcium transfer according to osteocalcin levels, patients with an osteocalcin level ≤90 pg/ml gained a significantly greater amount of calcium than did those with an osteocalcin level >90 pg/ml at a d[Ca] of 1.75 mmol/ L. In addition, patients with an osteocalcin level >90 pg/ml presented a trend toward losing more calcium at d[Ca]s of 1.0 and 1.25 mmol/L (Table 5). Comparing the mean calcium balance, patients with an osteocalcin level >90 pg/ml presented a mean balance of -299±221 mg, whereas those with an osteocalcin level ≤90 pg/ml had a mean balance of -12 ± 236 mg (P<0.01).

Table 6 shows the results of the multivariate linear regression. Using three different mathematical models, we found calcium balance to be dependent on calcium gradient and bone remodelling (as estimated by PTH and osteocalcin). In the first model, we considered PTH and osteocalcin as continuous variables; calcium balance was found to be dependent on calcium gradient and osteocalcin. In the second model, still considering PTH as a continuous variable, we excluded osteocalcin from the analysis because this measurement is not performed routinely in dialysis units; calcium balance was found to be dependent on calcium gradient and PTH. In the third model, we considered PTH and osteocalcin as categorical variables (PTH >300 or ≤300 pg/ml and osteocalcin >90 or ≤90 pg/ml); calcium balance was found to be dependent on calcium gradient and PTH.

There were no significant differences between patients being treated with calcitriol and those not being treated with any vitamin D analogue in terms of calcium mass transfer; nor did calcium mass transfer differ significantly between patients being treated with sevelamer and those being treated with calcium salts (data not shown).

d[Ca] and course of PTH and calcium during dialysis

At a d[Ca] of 1.0 mmol/L, the patients in both PTH groups (PTH \leq 300 and \geq 300 pg/ml groups) presented a signifi-

^{**}P<0.05 vs 1.75 mmol/L.

0

1400

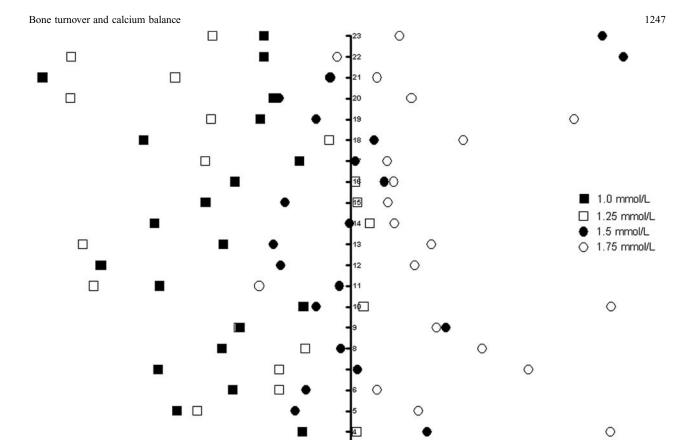


Fig. 1. Calcium mass transfer distribution for each patient when dialysed using a d[Ca] of 1.0 mmol/L (closed squares), 1.25 mmol/L (open squares), 1.5 mmol/L (closed circles) and 1.75 mmol/L (open circles).

Calcium Mass Transfer (mg)

0

Table 3. Bone markers by serum PTH level

Bone marker	PTH≤300 pg/ml (<i>n</i> =13)	PTH>300 pg/ml (<i>n</i> =10)	P value
Bone alkaline phosphatase (U/L)	50.06±19.37	112.8±68.62	0.005
Osteocalcin (ng/ml)	64.51 ± 34.05	136.1 ± 51.24	0.0006
Deoxypyridinoline (nmol/ml)	32.85 ± 26.44	124.5 ± 93.82	0.0029
Osteoprotegerin (pg/ml)	378.6 ± 454.1	774.5 ± 609	NS

NS, non-significant.

-2000

Table 4. Calcium mass transfer by serum PTH level

	Calcium mass transfer (mg)		
d[Ca]	PTH≤300 pg/ml (<i>n</i> =13)	PTH>300 pg/ml (n=10)	P value
1.0mmol/L	-420±219	-783±472	0.04
1.25 mmol/L	-347 ± 605	-626 ± 487	0.2
1.5 mmol/L	183 ± 486	-131 ± 120	0.04
1.75 mmol/L	455±445	339 ± 380	0.5

-1000-900 -800 -700 -600 -500 -400 -300 -200 -100

Data are expressed as mean±SD.

cant decrease in serum calcium and a significant increase in PTH during the haemodialysis procedure (Figure 2A and B). At a d[Ca] of 1.25 mmol/L, there was a significant decrease in serum calcium in both groups (Figure 2C), whereas, as shown in Figure 2D, there was only a trend toward an increase in PTH (PTH \leq 300 pg/ml, P=0.06; PTH > 300 pg/ml, P=0.07). At the d[Ca]s of 1.5 and 1.75 mmol/L, both groups presented a significant increase in serum calcium (Figure 2E and G) and a significant decrease in PTH (Figure 2F and H). At all d[Ca]s, PTH levels were higher in the PTH > 300 pg/ml group than in the

0

100 200 300 400 500 600 700 800 900 1000

1248 C. Karohl *et al.*

Table 5. Calcium mass transfer by serum osteocalcin level

	Calcium mass transfer (mg)		
d[Ca]	$OC \le 90 \text{ pg/ml}$ (n=12)	OC>90pg/ml (n=11)	P value
1.0 mmol/L 1.25 mmol/L 1.5 mmol/L 1.75 mmol/L	-443±220 -266±508 66±393 593±422	-725±483 -690±557 25±426 199±299	0.09 0.07 0.8 0.01

Data are expressed as mean ± SD. OC, osteocalcin.

Table 6. Multivariate linear regression models

Model/variable	β	95% confidence interval	P value
Model 1			
Calcium gradient	248.8	109.1 to 388.4	0.001
OC	-3.6	−5.6 to −1.5	0.001
Model 2			
Calcium gradient	688.9	528.4 to 849.5	< 0.0001
PTH>300 pg/ml	-351	−591 to −110	0.005
Model 3			
Calcium gradient	270.7	126.7 to 414.5	< 0.0001
PTH>300 pg/ml	-340.8	−571.3 to −110.3	0.004

OC, osteocalcin. Model 1, OC and PTH as continuous variables; model 2, PTH as a continuous variable without OC; model 3, OC and PTH as categorical variables.

PTH \leq 300 pg/ml group (P<0.001) during all haemodialysis sessions. Nevertheless, we found no significant difference between the groups in terms of serum calcium values at any time point during the procedures.

Discussion

Our findings show that calcium mass transfer varies widely, not only from d[Ca] to d[Ca] but also from patient to patient. Although all of our patients presented a negative calcium balance when a 1.0-mmol/L d[Ca] was used, the values for those patients/dialysis sessions ranged from –144 to –1975 mg under absolutely equal conditions. Similar variations were observed for all other d[Ca]s. These results suggest that calcium mass transfer depends not only on d[Ca] but also on individual factors, which is in agreement with the findings of a recent haemodialysis study, in which Sigrist *et al.* evaluated 52 patients dialysed against a d[Ca] of 1.25 mmol/L [16]. The authors observed that there was individual variation in terms of calcium mass transfer, which ranged from approximately –800 mg to approximately +500 mg.

Therefore, there are other factors that might affect calcium balance during dialysis besides d[Ca]. One such factor is pre-dialysis serum calcium or the calcium gradient, calculated using the difference between the calcium concentration in the blood and that found in the dialysate. We found a significant correlation between calcium balance and calcium gradient. In addition, the multivariate analysis confirmed that the difference between the serum calcium

concentration and the d[Ca] is an independent factor that contributes to calcium balance, confirming previous descriptions [16].

Another relevant finding of our study is that bone remodelling, as estimated by determining serum PTH levels and levels of other biochemical markers, influenced calcium removal during dialysis. Albalate *et al.* evaluated the association between phosphate removal during dialysis and bone remodelling markers in 28 patients [17]. The authors found that phosphate removal was dependent not only on pre-dialysis serum phosphate concentration, but also on the PTH/serum osteoprotegerin ratio. According to those authors, dialysis patients with higher bone remodelling present greater phosphate removal.

The influence that bone remodelling had on calcium mass transfer in the present study strongly suggests that the process of calcium regulation during dialysis is more elaborate than previously thought. It is not simply a function of the calcium gradient between dialysate and plasma. Calcium is continuously removed from and incorporated into bone in a closely regulated process that maintains bone integrity and serum calcium levels. This calcium flux occurs through remodelling (bone formation and resorption) and through a pool of exchangeable calcium, located on the quiescent bone surface [18-22]. For this exchange to occur through a cellular mechanism, such as a PTH-mediated increase in bone resorption, it would take many hours or days. In the present study, the calcium exchange was more rapid. According to the hypothesis put forth by Talmage et al. [20], the exchangeable calcium pool might be involved in this process. It is known that calcium concentration is lower in bones than in the extracellular fluid. This gradient should promote continuous calcium flux to the bones. However, that does not occur. Talmage et al. also stated that calcium returns to the extracellular fluid against the established gradient, continuously moving from bone surfaces to plasma, and purported that this process occurs in two steps [22]. The first step is the predicted calcium transfer directly from bone surfaces to non-collagenous proteins, which coat virtually all bone surfaces. Some of these proteins are noted for their high calcium-binding capacity as osteocalcin and osteonectin. In the second step, this calcium would be complexed to existing proteins and a portion would automatically become available for equilibration with ionized calcium in the extracellular fluid. The gradient toward bone and the proposed two-step return occur in the extracellular fluid of bone and would be considered normal physicochemical processes. These processes are critical for mineral ion homeostasis in mammals. In a dialysis procedure in which serum calcium changes rapidly, these non-collagenous proteins could serve as a calcium reservoir, and patients in whom the levels of these proteins are higher might lose more calcium. In the present study, serum osteocalcin was an independent factor associated with calcium balance, thereby lending credence to this hypothesis. If the hypothesis holds true, PTH would play two different roles in this process: increasing bone formation and resorption (a cellular process) and increasing the availability of non-collagenous proteins, mainly osteocalcin (a physicochemical process).

Bone turnover and calcium balance

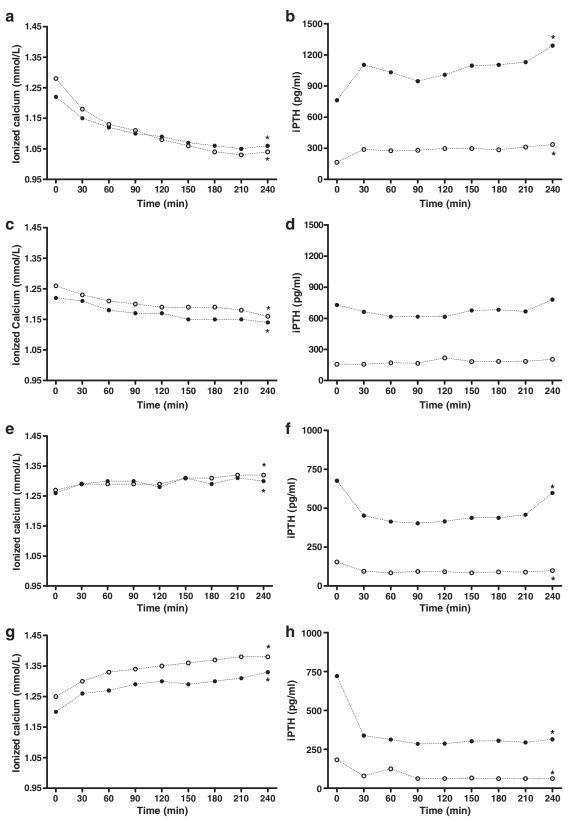


Fig. 2. Ionized calcium and intact PTH curves during haemodialysis grouped for PTH \leq or >300 pg/ml at a d[Ca] of 1.0 mmol/L (**A** and **B**), at a d[Ca] of 1.25 mmol/L (**C** and **D**), at a d[Ca] of 1.5 mmol/L (**E** and **F**) and at a d[Ca] of 1.75 mmol/L (**G** and **H**); *P<0.001 between the beginning (time 0) and the end (time 240 min) of the haemodialysis session (open circles, PTH \leq 300 pg/ml group; closed circles, PTH \geq 300 pg/ml group).

1250 C. Karohl et al.

Osteocalcin is the most abundant non-collagenous protein in bone. It is produced by osteoblasts stimulated by PTH and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ [23,24], interacts with hydroxyapatite crystals and is released from the bone surface in the intact form or in fragments. Although it is believed that osteocalcin is involved in bone formation, its effects have yet to be fully explained and its usefulness as a biochemical marker of bone remodelling remains controversial. Our findings suggest that serum osteocalcin is a good predictor of calcium mass transfer, as evidenced by the significant correlation between calcium balance and serum osteocalcin. Further studies that could confirm this hypothesis are needed.

As expected, regardless of the calcium mass transfer, there was a rapid decrease in serum calcium levels, accompanied by a significant increase in serum PTH levels, when a 1.0-mmol/L d[Ca] was used, whereas the inverse was observed when a 1.75-mmol/L d[Ca] was used. At a d[Ca] of 1.25 mmol/L, there was a significant decrease in serum calcium, although an increase in PTH was not observed. In contrast, Fernandez et al. observed a significant increase in serum PTH levels 30 min after the start of haemodialysis, although it declined until the end of the procedure when using a 1.25-mmol/L d[Ca] [12]. However, those authors evaluated only four patients, which makes any comparison between the two studies problematic. Again, we found no significant difference between patients who were losing a significant amount of calcium and those who were not in terms of serum calcium levels. This corroborates the hypothesis raised by Gotch et al. [25] in which there is necessarily a buffer reservoir (probably the bone) that is responsible for rapid calcium regulation during dialysis. At a d[Ca] of 1.5 mmol/L, most of our patients presented a neutral calcium balance during dialysis. However, at that same d[Ca], we noted a significant increase in serum calcium levels, accompanied by a significant decrease in serum PTH levels. Nevertheless, evaluating the long-term effects of the continuous use of these different d[Ca]s is beyond the scope of the study.

Conclusion

In summary, our findings shed light on another aspect of calcium kinetics during dialysis and call into question the idea that the same d[Ca] should be used for all CKD patients. These data should encourage nephrologists to take bone remodelling into consideration when determining the d[Ca] to be used, helping them select the best d[Ca] for each patient. However, it must be borne in mind that this was a short-term study and that results might vary over the long term. Nevertheless, d[Ca]s of 1.25 mmol/L or lower should be used with caution in patients with markedly high serum PTH levels. Excessive calcium removal could lead to worsening of secondary hyperparathyroidism and significant bone loss [12,13,26]. However, we found that the use of a 1.75-mmol/L d[Ca] was associated with a significantly positive calcium balance in some patients. This should be taken into account, especially in patients with normalto-low serum PTH levels, since such patients are likely to present adynamic bone disease.

Our study presents certain limitations. One such limitation is that it is not possible to extrapolate our results to patients treated with haemodiafiltration. Another limitation is that bone remodelling was estimated based on serum PTH rather than on bone biopsy findings [27–30]. However, bone remodelling status was determined based on the other bone biochemical markers, which increases the sensitivity and specificity.

To our knowledge, this was the first study to evaluate the role of bone remodelling in calcium mass transfer during dialysis. We also showed that there is significant individual variability in calcium mass transfer during haemodialysis. We suggest tailored d[Ca] prescription that takes bone remodelling into consideration. Bone remodelling should also be considered in the development of new models of calcium dynamics.

Acknowledgements. This study was presented, in part, at the ASN Renal Week, San Francisco, USA, 2007. We would like to thank the nurses F. Romão, E. Guimarães Silva and W. Silva for their contribution, as well as Jefferson D. Boyles for the editorial assistance. The machines, dialysers and dialysate solutions used in this study were generously provided by Fresenius Medical Care of Brazil. Financial support was provided by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Foundation for the Support of Research in the State of São Paulo; grant no. 06/61712-4).

Conflict of interest statement. Jutta Passlick-Deetjen is an employee of Fresenius Medical Care. All of the other authors declared no competing interests.

References

- Block GA, Klassen PS, Lazarus JM et al. Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. J Am Soc Nephrol 2004; 15: 2208–2218
- London GM, Guerin AP, Marchais F et al. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. Nephrol Dial Transplant 2003; 18: 1731–1740
- Young EW, Albert JM, Satayathum S et al. Predictors and consequences of altered mineral metabolism: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. Kidney Int 2005; 67: 1179–1187
- Moe S, Drueke T, Cunningham J et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). Kidney Int 2006; 69: 1945–1953
- Johnson WJ, Goldsmith RS, Beabout JW et al. Prevention and reversal of progressive secondary hyperparathyroidism in patients maintained by hemodialysis. Am J Med 1974; 56: 827–832
- Johnson WJ. Optimum dialysate calcium concentration during maintenance hemodialysis. Nephron 1976; 17: 241–258
- Slatopolsky E, Weerts C, Lopez-Hilker S et al. Calcium carbonate as a phosphate binder in patients with chronic renal failure undergoing dialysis. N Engl J Med 1986; 315: 157–161
- Slatopolsky E, Weerts C, Norwood K et al. Long-term effects of calcium carbonate and 2.5 mEq/L calcium dialysate on mineral metabolism. Kidney Int 1989; 36: 897–903
- Goodman WG, Goldin J, Kuizon BD et al. Coronary artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. N Engl J Med 2000; 342: 1478–1483
- Eknoyan G, Levin A, Levin NW. National Kidney Foundation: K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. Am J Kidney Dis 2003; 42: 1–201
- Hou SH, Zhao J, Ellman CF et al. Calcium and phosphorus fluxes during hemodialysis with low calcium dialysate. Am J Kidney Dis 1991; 18: 217–224

- Fernandez E, Borras M, Pais B et al. Low-calcium dialysate stimulates parathormone secretion and its long-term use worsens secondary hyperparathyroidism. J Am Soc Nephrol 1995; 6: 132–135
- Argiles A, Kerr PG, Canaud B et al. Calcium kinetics and the longterm effects of lowering dialysate calcium concentration. Kidney Int 1993; 43: 630–640
- Hamano T, Oseto S, Fujji N et al. Impact of lowering dialysate calcium concentration on serum bone turnover markers in hemodialysis patients. Bone 2005; 36: 909–916
- Daugirdas JT, Van Stone JC. Physiologic principles and urea kinetic modeling. *Handbook of Dialysis*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001; 3rd ed; 15–45
- Sigrist M, McIntyre CW. Calcium exposure and removal in chronic hemodialysis patients. J Ren Nutr 2006; 16: 41–46
- Albalate M, Piedra C, Fernandez C et al. Association between phosphate removal and markers of bone turnover in hemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant 2006; 21: 1626–1632
- Heaney RP. How does bone support calcium homeostasis?. Bone 2003; 33: 264–268
- Parffit AM. Misconceptions (3): calcium leaves bone only by resorption and enters only by formation. Bone 2003; 33: 259–263
- Talmage RV, Matthews JL, Mobley HT et al. Calcium homeostasis and bone surface proteins, a postulated vital process for plasma calcium control. J Musculoskelet Neuronal Interact 2003; 3: 194–200
- Marenzana M, Shipley AM, Squitiero P et al. Bone as an ion exchange organ: evidence for instantaneous cell-dependent calcium efflux from bone not due to resorption. Bone 2005; 37: 545–554

- Talmage RV, Talmage DW. Calcium homeostasis: solving the solubility problem. J Musculoskelet Neuronal Interact 2006; 6: 402–407
- Ureña P, de Vernejoul MC. Circulating biochemical markers of bone remodeling in uremic patients. Kidney Int 1999; 55: 2141–2156
- Yu S, Franceschi RT, Luo M et al. Parathyroid hormone increases activating transcription factor 4 expression and activity in osteoblasts: requirement for Osteocalcin gene expression. Endocrinology 2008; 149: 1960–1968
- Gotch F, Kotanko P, Handelman G et al. A kinetic model of calcium mass balance during dialysis therapy. Blood Purif 2007; 25: 139–149
- Saisu T, Wakabayashi Y, Yamada K et al. Effect of low-calcium hemodialysate on bone metabolism. J Bone Miner Metab 2000; 18: 57–62
- Sherrard DJ, Hercz G, Pei Y et al. The spectrum of bone disease in end-stage renal failure—an evolving disorder. Kidney Int 1993; 43: 436–442
- Wang M, Hercz G, Sherrard DJ et al. Relationship between intact 1– 84 parathyroid hormone and bone histomorphometric parameters in dialysis patients without aluminum toxicity. Am J Kidney Dis 1995; 26: 836–844
- Martin K, Olgaard K. Diagnosis, assessment and treatment of bone turnover abnormalities in renal osteodystrophy. Am J Kidney Dis 2004; 43: 558–565
- Barreto FC, Barreto DV, Moysés RM et al. K/DOQI-recommended intact PTH levels do not prevent low-turnover bone disease in hemodialysis patients. Kidney Int 2008; 73: 771–777

Received for publication: 2.2.09; Accepted in revised form: 19.10.09

Nephrol Dial Transplant (2010) 25: 1251-1257

doi: 10.1093/ndt/gfp588

Advance Access publication 19 November 2009

Effect of a novel kappa-receptor agonist, nalfurafine hydrochloride, on severe itch in 337 haemodialysis patients: a Phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled study

Hiroo Kumagai¹, Toshiya Ebata², Kenji Takamori³, Taro Muramatsu⁴, Hidetomo Nakamoto⁵, and Hiromichi Suzuki⁶

¹Department of Nephrology, National Defense Medical College, ²Chitofuna Dermatology Clinic, ³Department of Dermatology, Urayasu Hospital, Juntendo University School of Medicine, ⁴Department of Neuropsychiatry, Keio University School of Medicine, ⁵Department of Comprehensive Internal Medicine and ⁶Department of Nephrology, Saitama Medical University Hospital, Japan

Correspondence and offprint requests to: Hiroo Kumagai; E-mail: hkumagai@ndmc.ac.jp

Abstract

Background. Pruritus in haemodialysis patients is an intractable disease and substantially impairs their quality of life. Based on the results of our earlier clinical study, we hypothesized that the μ -(mu) opioid system is itch-inducible, whereas the κ (kappa) system is itch-suppressive.

Methods. The efficacy and safety of nalfurafine hydrochloride (a novel κ-receptor agonist) were prospectively investigated by randomly (1:1:1) administering 5 or 2.5 μg of the drug or a placebo orally for 14 days using a

double-blind design in 337 haemodialysis patients with itch that was resistant to currently available treatments, such as antihistamines.

Results. The mean decrease in the visual analogue scale (VAS) from baseline, the study's primary endpoint, was significantly larger in the 5- μ g nalfurafine hydrochloride group (n=114) than in the placebo group (n=111, P=0.0002, one-sided test at 2.5% significance level). The decrease in the VAS in the 2.5- μ g group (n=112) was also significantly larger than that in the placebo group (P=0.0001). The inci-