ALISSON DIEGO MACHADO

Fatores dietéticos associados à calcificação vascular em
pacientes com doença renal crônica em tratamento
conservador

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Programa de Nefrologia
Orientadora: Profa. Dra. Silvia Maria de
Oliveira Titan

São Paulo
2017

ALISSON DIEGO MACHADO

Fatores dietéticos associados à calcificação vascular em
pacientes com doença renal crônica em tratamento
conservador

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Programa de Nefrologia
Orientadora: Profa. Dra. Silvia Maria de
Oliveira Titan

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 5890, de 20 de dezembro de 2010.
A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Machado, Alisson Diego

Fatores dietéticos associados à calcificação vascular em pacientes com doença renal crônica em tratamento conservador / Alisson Diego Machado. -- São Paulo, 2017.

Dissertação (mestrado) -- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Nefrologia.

Orientadora: Silvia Maria de Oliveira Titan.

Descritores: 1.Calcificação vascular 2.Dieta 3.Micronutrientes 4.Fósforo 5.Cálcio 6.Potássio 7.Insuficiência renal crônica 8.Inquéritos epidemiológicos

USP/FM/DBD-450/17

À minha mãe, Divina, por todo seu amor e apoio.

Agradecimentos

À minha mãe, Divina, pelo amor, carinho e amizade que sempre me ofereceu.

À minha irmã, Adriana, pelo amor e cuidado que sempre teve comigo.

Ao Eduardo, pelo apoio e companheirismo.

Às amigas Márcia, Cris, Bia e Lari, pelos ótimos momentos e por me ouvirem tão pacientemente.

À Dra. Silvia Titan, orientadora deste trabalho, por me aceitar tão gentilmente como orientando e por contribuir de maneira tão importante com o meu crescimento, tanto profissional quanto pessoal.

À Luz Gómez, pelo auxílio com as análises estatísticas e por tanto ter contribuído com este trabalho.

À Profa. Dirce Marchioni, por me receber em seu grupo de pesquisa e pelas contribuições valiosas a este e outros trabalhos.

Ao Grupo de Estudos Epidemiológicos e Inovação em Alimentação e Saúde, pela troca de informações e experiências.

Às professoras do curso de Nutrição da Universidade Presbiteriana Mackenzie, por contribuírem para a minha formação como nutricionista e pesquisador, em especial à Profa. Andrea Guerra e às Profas. Isabela, Ana Paula e Rosana, minhas orientadoras de iniciação científica.

À Fernanda e Maria Alice, pela ajuda na revisão dos bancos de dados.

A todos os participantes do estudo PROGREDIR, pois sem vocês este trabalho não existiria. Espero que este e outros trabalhos possam trazer benefícios a vocês e à população com DRC.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo financiamento do estudo PROGREDIR.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo auxílio financeiro concedido.

“A dúvida permite extrair um núcleo de certeza, que cresce à medida que ela se radicaliza: é indubitável que, se duvido, penso.” (René Descartes)

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

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de Andrade Lourenção Freddi, Maria Fazanelli Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3.ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

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

Sumário

Lista de figuras

Lista de tabelas

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Definição e importância clínica da calcificação vascular	2
1.2 Calcificação vascular na doença renal crônica.....	3
1.3 Fisiopatologia da calcificação vascular na doença renal crônica	4
1.3.1 Fósforo	6
1.3.2 Fator de crescimento de fibroblastos 23 e Klotho	8
1.3.3 Paratormônio.....	10
1.3.4 Cálcio e vitamina D	11
1.3.5 Esclerostina.....	13
1.3.6 Fatores inibidores de calcificação vascular na doença renal crônica.....	14
1.3.7 Toxinas urêmicas e envelhecimento vascular na doença renal crônica.....	15
1.4 Dieta e calcificação vascular	17
2 OBJETIVOS	22
3 MÉTODOS	24
3.1 Amostra e coleta de dados.....	25

3.2 Ética em pesquisa	28
3.3 Consumo alimentar	29
3.4 Escore de cálcio	31
3.5 Análise estatística	32
4 RESULTADOS	35
5 DISCUSSÃO	48
6 CONCLUSÕES	56
7 ANEXO.....	58
8 REFERÊNCIAS.....	82

Lista de figuras

Figura 1 - Distribuição da CAC dos participantes do estudo

PROGREDIR..... 33

Figura 2 - Regressão de LASSO entre a CAC e características sociodemográficas, de estilo de vida e clínicas e o consumo de nutrientes dos participantes incluídos no estudo 47

Lista de tabelas

Tabela 1 - Pontos de corte para a classificação de CC muito aumentada	26
Tabela 2 - Métodos e kits utilizados nas análises laboratoriais do estudo PROGREDIR.....	27
Tabela 3 - Características sociodemográficas, de estilo de vida e clínicas dos participantes incluídos no estudo	36
Tabela 4 - Consumo de energia, macro e micronutrientes dos participantes incluídos no estudo	37
Tabela 5 - Distribuição dos dados dos participantes incluídos e não incluídos nas análises	38
Tabela 6 - Características sociodemográficas, de estilo de vida e clínicas dos participantes incluídos no estudo de acordo com tercis de CAC.....	39
Tabela 7 - Modelos lineares generalizados univariados entre a CAC e as características sociodemográficas, de estilo de vida e clínicas dos participantes incluídos no estudo	40

Tabela 8 - Modelos lineares generalizados multivariados entre a CAC e as características sociodemográficas, de estilo de vida e clínicas dos participantes incluídos no estudo	41
--	----

Tabela 9 - Consumo de energia, macro e micronutrientes dos participantes incluídos no estudo de acordo com tercís de CAC.....	42
---	----

Tabela 10 - Modelos lineares generalizados univariados entre a CAC e o consumo de energia, macro e micronutrientes dos participantes incluídos no estudo	44
--	----

Tabela 11 - Modelos lineares generalizados multivariados entre a CAC e o consumo de energia e nutrientes dos participantes incluídos no estudo	45
--	----

Tabela 12 - Modelos lineares generalizados mistos entre a CAC e o consumo de nutrientes dos participantes incluídos no estudo.....	46
--	----

Tabela 13 - Correlação entre o consumo de nutrientes dos participantes incluídos no estudo	46
--	----

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

µg	micrograma
25(OH)D	25-hidroxivitamina D
ADMA	dimetilarginina assimétrica
AGEs	produtos finais da glicação avançada
ANK	<i>ankylosis gene</i>
ANOVA	análise de variância
BMP	<i>bone morphogenetic protein</i>
BMPR	<i>bone morphogenetic protein receptor</i>
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CAC	calcificação arterial coronária
Cbfa1	<i>Core-binding factor alpha 1</i>
CC	circunferência da cintura
CKD-EPI	<i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Colaboration</i>
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
cm	centímetro
CMLV	células do músculo liso vascular
CV	calcificação vascular
dL	decilitro
DRC	doença renal crônica
ELSA	Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto
ENPP1	<i>ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1</i>
et al.	e outros

eTFG	taxa de filtração glomerular estimada
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FGF	fator de crescimento de fibroblastos
g	grama
GAS6	<i>growth arrest-specific 6</i>
GRP	<i>Gla-rich protein</i>
H	homens
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP
HDL-C	lipoproteína de alta densidade
Hg	mercúrio
HIV	vírus da imunodeficiência humana
HU	Hounsfield
HU-USP	Hospital Universitário da Universidade de São Paulo
IAC	índice de adiposidade corporal
IC	intervalo de confiança
IL-6	interleucina 6
IMC	índice de massa corporal
iPTH	paratormônio intacto
ISE	eletrodos íon-seletivo
kcal	quilocaloria
kg	quilograma
kV	quilovolt
L	litro
LASSO	<i>least absolute shrinkage and selection operator</i>
LDL-C	lipoproteína de baixa densidade

m	metro
M	mulheres
mEq	miliequivalente
mg	miligrama
MGP	proteína Gla da matriz
min	minuto
mL	mililitro
mm	milímetro
n	número
ng	nanograma
NHANES	<i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>
Npt2a/2c	transportador de fosfato dependente de sódio do tipo 2a/2c
p	probabilidade
PAD	pressão arterial diastólica
PAS	pressão arterial sistólica
PCP	partículas de calciproteínas
PCR	proteína C reativa
pg	picograma
pH	potencial hidrogeniônico
PiT-1	transportador de fosfato dependente de sódio do tipo III
PTH	paratormônio
QFA	questionário de frequência alimentar
r	coeficiente de correlação
RAE	equivalente de atividade de retinol
RAGEs	receptores dos produtos finais da glicação avançada

RU	unidade relativa
RUNX2	<i>Runt-related transcription factor 2</i>
s	segundo
SM22 α	<i>smooth muscle protein 22-alpha</i>
SMMHC	<i>smooth muscle myosin heavy chain</i>
TRPV6	<i>transient receptor potential cation channel member 6</i>
U	unidade
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>
VOP	velocidade de onda de pulso

Resumo

Machado AD. *Fatores dietéticos associados à calcificação vascular em pacientes com doença renal crônica em tratamento conservador* [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

INTRODUÇÃO: A calcificação vascular (CV) é uma condição comum na doença renal crônica (DRC) e está associada a um maior risco de mortalidade, eventos cardiovasculares e outras comorbidades. A dieta pode ser importante na fisiopatologia da CV e um alvo em potencial para medidas terapêuticas, mas o seu papel ainda não é claro. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a associação entre o consumo de energia, macro e micronutrientes e CV em pacientes com DRC em tratamento conservador. **MÉTODOS:** Foram analisados os dados da linha de base de 454 participantes do estudo PROGREDIR. O consumo alimentar foi avaliado por meio de um questionário de frequência alimentar e a ingestão de nutrientes foi ajustada pela energia pelo método dos resíduos. A calcificação arterial coronária (CAC) foi mensurada por tomografia computadorizada sem contraste e apresentada pelo escore de cálcio de Agatston. Após a exclusão dos participantes que utilizavam stent coronário, as análises foram realizadas em 373 pacientes. Inicialmente, considerando-se a distribuição assimétrica da CAC e a não independência entre a ingestão de nutrientes, a associação entre a CAC e o consumo alimentar foi avaliada modelos lineares generalizados mistos. Devido à colinearidade entre os nutrientes, em seguida foi utilizada a regressão de

LASSO para identificar os nutrientes mais relacionados à variabilidade da CAC.

RESULTADOS: A mediana da idade e da CAC foi de 68 (60, 76) anos e 165 (8, 785), respectivamente. O maior tercil de CAC se associou diretamente à ingestão de fósforo, cálcio e magnésio. Houve um maior consumo de vitamina A, ácido pantotênico e potássio no segundo tercil. Após ajustes para variáveis de confusão (idade, sexo, diabetes *mellitus* e tabagismo como efeitos fixos e o indivíduo como efeito aleatório), a ingestão de ácido pantotênico ($\beta = 0,48$; IC95% 0,22, 0,75; $p < 0,001$), fósforo ($\beta = 0,38$; IC95% 0,10, 0,65; $p = 0,01$), cálcio ($\beta = 0,0008$; IC95% 0,0001, 0,0017; $p = 0,04$) e potássio ($\beta = 0,0005$; IC95% 0,0001, 0,0009; $p = 0,02$) permaneceram associadas à CAC nos modelos lineares generalizados mistos. Devido à colinearidade entre esses nutrientes, foi utilizada a regressão de LASSO para avaliar os nutrientes mais associados à variabilidade da CAC. Nessa abordagem, os nutrientes que mais explicaram a variância da CAC foram o fósforo ($\beta = 0,25$), o cálcio ($\beta = 0,09$) e o potássio ($\beta = 0,06$).

CONCLUSÕES: Houve associação entre a CAC e o consumo de fósforo, cálcio e potássio em uma população com DRC. Estudos futuros são necessários para confirmar esses resultados e avaliar o papel de intervenções sobre a prevenção e progressão da CAC baseadas nesses micronutrientes.

Descritores: Calcificação vascular; Dieta; Micronutrientes; Fósforo; Cálcio; Potássio; Insuficiência renal crônica; Inquéritos epidemiológicos.

Abstract

Machado AD. *Dietary factors associated with vascular calcification in non-dialysis chronic kidney disease patients* [Dissertation]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2017.

BACKGROUND: Vascular calcification (VC) is a widespread condition in chronic kidney disease (CKD) and is associated with a higher risk of mortality, cardiovascular events, and other comorbidities. Diet may play an important role in VC and is a potential target for therapeutic measures, but this role is not clear. Thus, the aim of this study was to evaluate the association between energy, macro-and micronutrient intakes and VC in non-dialysis CKD patients.

METHODS: We analyzed the baseline data from 454 participants of PROGREDIR study. Dietary intake was evaluated by a validated food frequency questionnaire and nutrient intakes were adjusted for energy by residual method. Coronary artery calcification (CAC) was measured by non-contrast computed tomography and was presented by Agatston calcium score. After exclusion of participants with coronary stent, 373 people remained for the analyses. Initially, taking into account the asymmetrical distribution of CAC and the non-independence between nutrient intakes, we evaluated the association between CAC and dietary intake by generalized linear models and generalized linear mixed models. To address the collinearity between nutrients, we next evaluated the nutrients mostly related to CAC variability by LASSO regression. **RESULTS:** Median age and CAC were 68 (60, 76) years old and 165 (8, 785), respectively.

The highest tertile of CAC was directly associated with the intake of phosphorus, calcium and magnesium. There was a higher intake of vitamin A, pantothenic acid and potassium in the second tertile. After adjustment for confounding variables (age, gender, diabetes mellitus and tobacco use as fixed effects and individual as random effect), the intake of pantothenic acid ($\beta = 0.48$; CI95% 0.22, 0.75; $p < 0.001$), phosphorus ($\beta = 0.38$; CI95% 0.10, 0.65; $p = 0.01$), calcium ($\beta = 0.0008$; CI95% 0.0001, 0.0017; $p = 0.04$) and potassium ($\beta = 0.0005$; CI95% 0.0001, 0.009; $p = 0.02$) remained associated with CAC in the generalized linear mixed models. In order to handle the collinearity between these nutrients, we used the LASSO regression to evaluate the nutrients associated with CAC variability. In this approach, the nutrients that most explained the variance of CAC were phosphorus ($\beta = 0.25$), calcium ($\beta = 0.09$) and potassium ($\beta = 0.06$). CONCLUSIONS: We found an association between CAC and the intake of phosphorus, calcium and potassium in a CKD population. Future studies are needed to confirm these findings and assess the role of interventions on these micronutrients on CAC prevention and progression.

Descriptors: Vascular calcification; Diet; Micronutrients; Phosphorus; Calcium; Potassium; Renal insufficiency, chronic; Health surveys.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Definição e importância clínica da calcificação vascular

A calcificação vascular (CV) é definida como a deposição de hidroxiapatita (fosfato de cálcio) nos vasos sanguíneos e em outras estruturas cardiovasculares, como valvas cardíacas e miocárdio (1). Anteriormente compreendida como um processo bioquímico benigno, associado ao envelhecimento, a CV é vista atualmente como uma condição patológica e um importante fator de risco cardiovascular.

Inúmeros estudos demonstraram que a CV está associada a um maior risco de carga aterosclerótica, eventos coronários e mortalidade cardiovascular (2-11). Essa associação ganhou tanta importância que a mensuração da calcificação arterial coronária (CAC) por meio de tomografia computadorizada foi incorporada nos últimos anos como um método não invasivo para a estratificação de risco cardiovascular, uma vez que o valor preditivo negativo de eventos coronários para indivíduos pouco ou nada calcificados é elevado (12). Em um estudo realizado com 3745 participantes, com um seguimento de 10 anos, foi verificado que a quantificação do escore de cálcio, quando somada aos valores propostos por diretrizes para a mensuração do risco cardiovascular, melhorou a estratificação dos sujeitos com riscos baixo e elevado para eventos coronários (13).

No entanto, a relação da CV com o risco cardiovascular vai além do seu papel como biomarcador. Acredita-se atualmente que os processos biológicos que resultam em última instância em CV contribuam ativamente para a intensificação dos processos patogênicos de doenças cardiovasculares. Sob

essa ótica, a compreensão desses mecanismos torna-se necessária, por ser um novo alvo para medidas de intervenção e tratamento.

1.2 Calcificação vascular na doença renal crônica

Os fatores de risco mais conhecidamente relacionados à CV são a idade, o sexo masculino, o diabetes *mellitus*, o tabagismo e a doença renal crônica (DRC) (14-16). Entretanto, é na DRC que a CV ocorre com maior intensidade, tanto pela sua prevalência elevada quanto pela sua magnitude. Enquanto a CV acomete de 20% a 35% na população em geral e em indivíduos com alto risco cardiovascular, respectivamente (17,18), a prevalência de CV na DRC varia de 45% a 70% em pacientes em tratamento conservador (16,19-21), atingindo até 90% em pacientes em diálise (22).

Além disso, as doenças cardiovasculares são a principal causa de mortalidade em pacientes com DRC, responsáveis por mais de 50% dos óbitos nessa população (23-25), sendo de 15 a 30 vezes maior que na população em geral (23,26), permitindo a hipótese de que os mecanismos de CV contribuam para a elevada mortalidade cardiovascular observada na DRC.

Paradoxalmente, é justamente na população com DRC que o papel do escore de cálcio como marcador de risco cardiovascular é questionável (27,28). Conforme discutido anteriormente, na população em geral a utilização do escore de cálcio pode melhorar a estratificação de indivíduos com risco coronário elevado (12), ao passo que na DRC essa associação é polêmica

(29), provavelmente em função da prevalência muito disseminada de CV. Além disso, também é possível que os pontos de corte utilizados para a população em geral não se associem a desfechos em pacientes com DRC (30).

Diversos fatores contribuem para a ocorrência tão disseminada de CV na DRC. Primeiramente, a DRC frequentemente aparece como uma comorbidade em indivíduos com risco cardiovascular elevado ou diabéticos de longa data havendo, portanto, uma sobreposição de doenças e fatores de risco. Segundo, a insuficiência renal agrava diversos mecanismos relacionados à CV, sobretudo a hipertensão arterial, somado a outros fatores como estresse oxidativo, inflamação e resistência periférica à insulina. Por último, a doença renal acrescenta novos mecanismos predisponentes à CV, como os distúrbios do metabolismo mineral, a redução de fatores inibidores de calcificação e o aumento de degradação de elastina na parede vascular (31).

1.3 Fisiopatologia da calcificação vascular na doença renal crônica

A CV é um processo ativo, semelhante à ossificação, em que as células do músculo liso vascular (CMLV) sofrem um processo de transdiferenciação e adquirem um fenótipo semelhante aos osteoblastos (32). Nas CMLV a BMP-2 liga-se ao receptor BMPR-II, formando um heterodímero com a BMPR-I. Esse heterodímero ativa a sinalização intracelular fosforilando a Smad1/5/8, formando um complexo com a Smad4. No núcleo há aumento de RUNX2/Cbfa1, com consequente redução da expressão de marcadores de

CMLV, como SM22 α e SMMHC, e aumento de expressão de marcadores osteocondrogênicos, como Msh homeobox 2, Osterix, osteocalcina e fosfatase alcalina, ocorrendo a secreção de hidroxapatita e transdiferenciação das CMLV em células com fenótipo semelhante aos osteoblastos (33-36). Diversos fatores parecem modular a BMP-2, como hiperfosfatemia, consumo elevado de fósforo e de cálcio e inflamação (37-40).

A calcificação pode ocorrer tanto na camada íntima quanto na camada média, dois processos que nem sempre são simultâneos. A discussão sobre o significado desses dois tipos de processos é antiga na literatura. Sugere-se que a calcificação da camada íntima tenha uma maior relação com o risco de eventos coronários, estando relacionada à extensão da lesão aterosclerótica (41), enquanto a calcificação da camada média esteja mais relacionada ao enrijecimento arterial, agravamento da pressão arterial e da pressão de pulso e à mortalidade cardiovascular em geral, estando mais relacionada ao distúrbio mineral e ósseo (42,43). Entretanto, essas afirmações são polêmicas e de difícil comprovação, uma vez que a discriminação dos locais de depósitos é difícil e comumente colinear.

No mais, diversos mecanismos têm sido propostos como associados ao processo de transdiferenciação das CMLV e, conseqüentemente, calcificação, sendo os principais os distúrbios do metabolismo mineral, a redução de fatores de inibição de CV, as toxinas urêmicas e a dieta.

1.3.1 Fósforo

Entre os diversos mecanismos associados à CV em pacientes com DRC, a hiperfosfatemia é um dos mais importantes. Nos estágios iniciais da DRC, os níveis séricos de fósforo são mantidos dentro da normalidade devido ao aumento dos níveis de hormônios fosfatúricos, o fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF23) e o paratormônio (PTH), sendo que esses mecanismos compensatórios são limitados e com o avanço da DRC os níveis de fósforo tendem a aumentar (44,45). Estudos epidemiológicos demonstraram que níveis crescentes de fósforo associaram-se independentemente à ocorrência de CV em pacientes com DRC (46-48) e até mesmo em população com função renal normal (49-51).

Estudos experimentais corroboraram a hipótese de que valores crescentes de fósforo seja uma condição facilitadora de CV. Foi demonstrado que o aumento dos níveis séricos de fósforo induziu mudanças fenotípicas em CMLV, que passaram a expressar marcadores de osteoblastos, ocorrendo calcificação (52,53). Dentre esses marcadores, pode-se citar a osteopontina, a osteocalcina e a fosfatase alcalina, que estão associados ao aumento de produção de matriz extracelular mineralizada (54,55).

Foi demonstrado que a concentração extracelular elevada de fósforo induz ao influxo de fosfato no citoplasma por meio da ativação dos transportadores de fosfato dependentes de sódio do tipo III (PiT-1), sendo essa uma alteração que as CMLV apresentam frente à hiperfosfatemia (56). Por sua vez, estudos também verificaram que a concentração extracelular elevada de

fósforo faz com que esse íon seja utilizado para a produção de cristais de fosfato de cálcio, promovendo calcificação (57,58).

Em camundongos com DRC e alimentados com uma dieta rica em fósforo (0,9% de fosfato), houve uma maior deposição de cálcio na aorta abdominal, mineralização da camada média e maiores níveis séricos de PTH (59). Além disso, estudos experimentais com o uso de quelantes de fósforo que não continham cálcio demonstraram haver redução na CV (60-62). Em humanos, o uso do quelante de fósforo sevelâmer mostrou-se associado a uma melhor evolução de CV (63).

Outro mecanismo proposto é que a hiperfosfatemia promove a supressão de vias de acúmulo de pirofosfato (ANK dependente do efluxo citosólico de pirofosfato e ENPP1), um fator inibidor de CV (64). Mecanismos de apoptose e estresse oxidativo, fatores de risco para a CV, também já foram relacionados à hiperfosfatemia. Em estudos *in vitro*, demonstrou-se que maiores concentrações de fósforo promoveram aumento de espécies reativas de oxigênio, pelo influxo de fosfato por transportadores dependentes de sódio; redução da produção de óxido nítrico, pela inibição da fosforilação da óxido nítrico sintase; e colapso no potencial de membrana mitocondrial (65,66).

Assim, acredita-se que valores crescentes de fosfatemia associam-se, diretamente ou indiretamente e de inúmeras formas, à CV, embora a magnitude e seus mecanismos ainda não tenham sido completamente elucidados.

1.3.2 Fator de crescimento de fibroblastos 23 e Klotho

O FGF23 é um hormônio pertencente à família dos FGFs (67), produzido principalmente pelos osteoblastos e osteócitos e em menor quantidade pelo fígado e rins, em resposta ao aumento da concentração de fósforo extracelular (68).

O papel do FGF23 na fisiopatologia da CV ainda é controverso. Como esse hormônio tem sido associado de maneira independente às doenças cardiovasculares e mortalidade precoce em todos os estágios da DRC (69-71), ele tornou-se um candidato a ser explorado em vias mecanicísticas relacionadas à CV.

Em um estudo realizado em pacientes com função renal normal não foi identificada associação entre os níveis séricos de FGF23 e CV (72). Contudo, também em pacientes com função renal normal, mas com suspeição de doença arterial coronariana, observou-se relação entre os níveis de FGF23 e CV (73). Na população com DRC os achados são igualmente controversos. Em um estudo realizado com 1501 pacientes com DRC nos estágios 2 a 4, maiores níveis séricos de FGF23 associaram-se ao declínio da função renal e a fatores de risco tradicionais de doenças cardiovasculares, contudo sem associação com CV (74). Contudo, demais estudos demonstraram associação entre os níveis de FGF23 e a progressão da CV, independentemente de outros fatores (75,76).

Em animais com DRC, demonstrou-se que níveis elevados de FGF23 se associaram à calcificação da aorta (53). Contudo, em camundongos

transgênicos com superexpressão de FGF23 não foi verificado o desenvolvimento de calcificação (77,78), embora esses animais apresentem depleção de fósforo, ao invés de retenção, que é comum na DRC.

A ação do FGF23 é dependente de Klotho (79), que promove a ligação do FGF23 ao seu receptor (80). O complexo Klotho/FGF23 promove a internalização dos transportadores de fosfato dependentes de sódio do tipo 2a e 2c (Npt2a e Npt2c) e alterações de enzimas que regulam o metabolismo de vitamina D (77,78,81,82), promovendo a redução dos níveis séricos de fósforo e da 1,25-dihidroxitamina D. Na DRC, a expressão de Klotho é diminuída, ao passo que os níveis de FGF23 aumentam com a progressão da doença (83,84), e esse desbalanço parece contribuir para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (69,70).

Alguns estudos sugerem que o Klotho seja especificamente importante na determinação de CV. Animais deficientes em Klotho apresentaram menor vida, aterosclerose, CV e osteoporose (85). Em um estudo conduzido em camundongos mutantes para Klotho, verificou-se que a sua administração foi capaz de atenuar a fibrose renal, bem como a CV, e promover a redução da deposição de cálcio no rim e na aorta, ressaltando o papel do Klotho como inibidor de calcificação (86). O papel do Klotho como modulador de CV poderia ajudar a explicar os resultados discrepantes encontrados na relação entre FGF23 e calcificação, uma vez que os efeitos do Klotho podem ser dependentes ou independentes do FGF23. Entretanto, dificuldades na mensuração e interpretação do Klotho (tecidual versus forma solúvel) ainda existem, e mais estudos são necessários para esclarecer a relação entre FGF23/Klotho e CV.

1.3.3 Paratormônio

O aumento de PTH é um dos mecanismos compensatórios da retenção de fósforo na DRC, e parece ocorrer posteriormente ao aumento de FGF23 (45). A presença de hipocalcemia é um dos principais estímulos para a produção de PTH, sendo que o FGF23 também o regula positivamente, seja devido ao seu efeito inibitório sobre a enzima 1- α -hidroxilase ou agindo diretamente nas paratireoides (87). O mecanismo pelo qual o PTH controla os níveis séricos de fósforo consiste na inibição da reabsorção de fósforo no túbulo proximal e distal, pela redução da produção e internalização de transportadores de fosfato dependentes de sódio (88).

Em estudos epidemiológicos e clínicos, tanto níveis baixos quanto elevados de PTH se associaram à CV em pacientes com DRC (89,90). Experimentalmente, níveis elevados de PTH, juntamente com níveis aumentados de fósforo, parecem estar envolvidos no processo de CV (91). Em um estudo que investigou o efeito isolado do PTH sobre CV, dentre outros fatores, verificou-se que houve surgimento de calcificação na camada média da aorta e de artérias coronárias, bem como aumento do *turnover* ósseo e hipertrofia do miocárdio, mesmo com níveis normais de fósforo (92). Em ratos com DRC não houve desenvolvimento de CV quando o PTH foi suprimido, seja pela administração de calcimiméticos ou por paratiroidectomia total (93).

Também já foi demonstrado que o PTH promoveu redução da expressão e da secreção de osteoprotegerina, um inibidor de calcificação (94).

Por outro lado, em um estudo *in vitro* não foi verificado efeito do PTH sobre a CV (95). Além disso, já foi demonstrado um efeito preventivo com a administração intermitente de análogos de PTH sobre a CV em ratos com DRC (96), restando dúvidas sobre o seu papel como promotor de calcificação.

1.3.4 Cálcio e vitamina D

Além da hiperfosfatemia, sabe-se que um produto cálcio x fósforo elevado também é um fator de risco para a ocorrência de CV. Em um estudo *in vitro*, níveis elevados de cálcio extracelular aumentaram a mineralização de CMLV, mesmo sob condições normais de fósforo, provavelmente pelo aumento do produto cálcio x fósforo (97). Em ratos, o tratamento com cálcio na água de beber promoveu um balanço positivo de cálcio e aumento de calcificação na aorta e no coração (98).

Os resultados em relação a 25-hidroxivitamina D (25(OH)D) são conflitantes. Como diversos estudos demonstraram que baixos níveis de 25(OH)D se associaram ao aumento do risco cardiovascular (99-101), sugeriu-se que poderia haver associação entre os seus níveis e CV. De fato, em pacientes com DRC, em que a prevalência de deficiência de vitamina D é elevada (102-104), verificou-se associação inversa entre os níveis de 25(OH)D e CV (105,106), e essa relação foi identificada mesmo na população em geral

(107,108). Contudo, outros estudos demonstraram não haver relação entre baixos níveis de 25(OH)D e calcificação (109,110). Porém, deve-se considerar que tais resultados podem ser afetados pela alta variabilidade da 25(OH)D, seja devido à variação sazonal ou ao método utilizado para a sua mensuração.

Já em relação ao calcitriol, em camundongos com DRC, a administração de doses baixas do hormônio promoveu diminuição da CV e aumento da atividade óssea (111). Por sua vez, diversos estudos demonstraram que em animais com DRC a administração de altas doses de calcitriol acelerou o aparecimento de calcificação (112-119). Nesses animais, o calcitriol induziu as CMLV a apresentarem um fenótipo semelhante aos osteoblastos, efeito semelhante ao encontrado na hiperfosfatemia. Foi descrito também um mecanismo de *upregulation* de proteínas envolvidas no transporte de cálcio e mineralização, como osteopontina, osteocalcina, sialoproteína óssea, canal TRPV6 e calbindina D9K (118). Também já foi demonstrado em animais que o consumo de uma dieta rica em fósforo promoveu CV moderada após algumas semanas e que a administração de calcitriol aumentou o processo de calcificação. Contudo, o consumo de uma dieta com menor teor de fósforo e a administração da mesma dose de calcitriol não promoveu CV, sugerindo que níveis elevados de calcitriol promovem calcificação em conjunto com a hiperfosfatemia, mas não de forma isolada (120).

Dificuldades relacionadas ao conhecimento dos efeitos da administração de calcitriol são provenientes de suas ações, como aumento da absorção e dos níveis de cálcio e fósforo e aumento do produto cálcio x fósforo (117), suscitando a dúvida sobre o seu papel como inibidor ou promotor de CV.

1.3.5 Esclerostina

A esclerostina é um antagonista da via Wtn/ β -catenina, que promove a formação óssea (121). Essa proteína é secretada principalmente pelos osteócitos e seus níveis tendem a aumentar com a progressão da DRC (122). *In vitro*, já foi demonstrado que a esclerostina é expressa em CMLV calcificadas (123) e, recentemente, demonstrou-se em pacientes com DRC que essa proteína também é expressa nas artérias, sendo que essa expressão está associada a maiores níveis séricos de esclerostina, sugerindo que a esclerostina circulante não seja exclusivamente a secretada pelos osteócitos (124).

A relação entre os níveis de esclerostina e CV não é conclusiva. Ao passo que estudos epidemiológicos demonstraram uma associação direta entre a esclerostina circulante e calcificação (125-128), outros estudos também descreveram uma relação inversa entre ambos (129-131). Há duas principais possibilidades para esses achados. A primeira é que a esclerostina, por ser um antagonista da formação óssea, também possa inibir o desenvolvimento de CV por um mecanismo semelhante ao que ocorre no osso. A segunda é que há aumento de esclerostina circulante para contrabalancear a calcificação resultante de outros mecanismos, fazendo com a esclerostina seja, então, um possível marcador de CV (132).

1.3.6 Fatores inibidores de calcificação vascular na doença renal crônica

Outros fatores parecem ser importantes na fisiopatologia da CV como, por exemplo, a redução de fatores inibidores de calcificação, como pirofosfato, fetuína-A e proteína Gla da matriz (MGP) (31).

O pirofosfato é uma molécula produzida por diversas reações bioquímicas, presente no espaço extracelular (133), e é reconhecidamente um inibidor de CV por dificultar a deposição de cristais de fosfato de cálcio nas CMLV (134-136). Contudo, tem sido demonstrado que pacientes com DRC apresentam níveis reduzidos de pirofosfato (137,138), sendo que nessa população a inativação dessa molécula ocorre pela hidrólise promovida pela fosfatase alcalina, que está geralmente aumentada (138-141), e possivelmente pela supressão de vias de acúmulo do pirofosfato (ANK dependente do efluxo citosólico de pirofosfato e ENPP1), decorrente da hiperfosfatemia (64).

A fetuína-A é uma glicoproteína sintetizada no fígado e expressa no espaço extracelular (142), sendo uma proteína de fase aguda, similar à albumina e outras proteínas hepáticas que também sofrem *downregulation* durante a inflamação (143). Justamente devido a essa característica, pacientes com DRC apresentam níveis reduzidos de fetuína-A (144). Nessa população, estudos indicaram uma associação inversa entre os níveis de fetuína-A e a presença de CV (144,145). Uma hipótese para justificar essa relação seria o papel da fetuína-A na regulação óssea, inibindo a formação da hidroxiapatita (146). *In vitro*, a fetuína-A reduziu a elevação de cálcio intracelular e a morte

celular decorrente do tratamento com cristais de fosfato de cálcio em CMLV (147).

Outro inibidor reconhecido de CV é a MGP. Essa proteína pertence à família das proteínas dependentes de vitamina K e é expressa no coração, pulmões, rins, pele e artérias (148). Em um estudo experimental, demonstrou-se que ratos *knock-out* para MGP foram a óbito em oito semanas, devido à ruptura dos vasos, decorrente de mineralização excessiva (149). Seu efeito inibitório sobre a CV caracteriza-se pela inibição da precipitação de cristais de fosfato de cálcio e da transdiferenciação das CMLV (148). Mecanismos relacionados à prevenção da apoptose, possivelmente pela inibição da BMP-2, também já foram descritos (150,151). Contudo, a MGP requer γ -carboxilação para a sua ativação (152), papel desempenhado pela vitamina K, e pacientes com DRC apresentam níveis reduzidos dessa vitamina (153), o que explica o fato desses pacientes apresentarem MGP principalmente em sua forma inativa (descarboxilada), o que pode contribuir para o desenvolvimento de CV (154,155).

1.3.7 Toxinas urêmicas e envelhecimento vascular na doença renal crônica

A uremia, decorrente da progressão da DRC, também tem sido associada à CV. Estudos indicaram que a uremia acelerou o processo de calcificação, devido a um mecanismo de *upregulation* de proteínas osteogênicas que promovem uma maior deposição de cristais de fosfato de

cálcio nas CMLV (156,157). Em ratos com uremia crônica e sem uremia, verificou-se que o primeiro grupo apresentou calcificação grave, devido a um mecanismo de *downregulation* do Klotho, que possui um papel inibidor de CV, enquanto o segundo grupo não desenvolveu calcificação (158). No mais, toxinas urêmicas, como p-cresol, indoxil-sulfato, ADMA, fosfato, fator de necrose tumoral, leptina e produtos finais da glicação avançada (AGEs), por diferentes vias, podem induzir ou facilitar o desenvolvimento e progressão de calcificação na DRC, principalmente devido à disfunção endotelial e inflamação (159).

Já foi demonstrada associação entre a expressão de marcadores pró-inflamatórios e CV em pacientes com DRC (160). Além da DRC em si, a aterosclerose também é um processo inflamatório, do qual participam citocinas, como fator de necrose tumoral- α , interleucinas, interferon- γ e adiponectina (161), fatores que favorecem a apoptose, necrose e calcificação (162).

Também relacionados à uremia, os AGEs e seus receptores (RAGEs) desempenham um papel na fisiopatologia da CV. Os AGEs são formados pela interação entre açúcares redutores ou lipídeos oxidados e grupos amino (163) e possuem a capacidade de modificar propriedades químicas e funcionais de estruturas biológicas (164). Em um estudo *in vitro*, CMLV expostas a AGEs apresentaram maior deposição de cálcio, bem como aumento da expressão de RUNX2/Cbfa1, fosfatase alcalina e osteocalcina (165). Ainda, já foi demonstrado que a sinalização de AGE-RAGE em CMLV reduziu a expressão de marcadores dessas células, como SM22 α e SMMHC (166).

Outro aspecto sugerido para explicar a CV na doença renal é a suposição de que a DRC é um estado de envelhecimento precoce, devido à

senescência vascular. *In vitro*, a exposição de CMLV ao estresse oxidativo e toxinas urêmicas induziu ao acúmulo de prelamina A (167,168), fato que pode promover envelhecimento vascular (169). A prelamina A, conhecida por seu papel na progéria ou síndrome de Hutchinson-Gilford (170), acumula-se nas CMLV e pode causar danos ao DNA, associando-se ao envelhecimento precoce e CV (171).

1.4 Dieta e calcificação vascular

Outro possível fator relacionado à CV, sobretudo na DRC, é a dieta. Apesar do interesse na área, tanto do ponto de vista de mecanismos, quanto pela possibilidade de intervenção terapêutica, há poucos estudos e com resultados conflitantes.

Como a hiperfosfatemia é um dos principais fatores associados à calcificação, alguns estudos experimentais avaliaram o efeito da ingestão de fósforo sobre a CV. Nesses estudos, o papel de uma dieta rica em fósforo como promotora de CV foi bem estabelecido, sendo inclusive um modelo experimental de calcificação (59,172,173). Ratos com DRC e alimentados com uma dieta rica em fósforo (1,2%) apresentaram calcificação e maiores peso do coração e níveis séricos de creatinina, fósforo e FGF23, além de menores níveis de cálcio iônico (172). Em um modelo semelhante, com uma dieta contendo 0,9% de fosfato, houve uma maior deposição de cálcio na aorta abdominal, mineralização da camada média e maiores níveis de PTH (59). Em

um recente estudo realizado em ratos com DRC e alimentados com uma dieta rica em fósforo (1,2%), o aumento da expressão de marcadores osteocondrogênicos, bem como a deposição de cálcio na aorta, ocorreu 12 semanas após a indução da DRC, e anteriormente ao aumento dos níveis de fósforo e PTH (38).

Por outro lado, em humanos apenas um estudo avaliou a relação entre a ingestão de fósforo e CV na população em geral, não sendo verificada associação entre ambos (174). Em um ensaio clínico realizado em pacientes com DRC, um consumo de fósforo dentro do recomendado para a doença renal (750 mg/dia), comparado a uma ingestão de 1500 mg/dia, promoveu redução da fosfatúria de 24 horas, possivelmente devido a menor absorção de fósforo, contudo sem efeito sobre os níveis séricos de FGF23 (175).

Há um intenso debate se há associação entre o consumo de cálcio e CV. Em um experimento realizado em porcos com síndrome metabólica induzida por uma dieta aterogênica, uma maior ingestão de cálcio não promoveu calcificação (176). Em humanos, em uma análise conduzida em 1278 participantes do *Framingham Heart Study* não foi verificada associação entre o consumo de cálcio e CV (177), assim como no estudo realizado em participantes do *Diabetes Heart Study* (178), ambos em populações com função renal normal. Contudo, em um ensaio clínico realizado em pacientes com DRC, o uso de quelantes de fósforo à base de cálcio se associou à progressão de CV (179), restando dúvidas sobre o papel da ingestão de cálcio sobre a calcificação.

Outro nutriente estudado no contexto da CV é o magnésio, que tem sido utilizado como substituto do cálcio na composição de quelantes de fósforo. Em

ratos com DRC, os animais que receberam carbonato de magnésio por gavagem não desenvolveram hiperfosfatemia e apresentaram menor deposição de cálcio na aorta, inclusive com efeito superior ao sevelâmer (180), um quelante que não possui cálcio em sua composição. Também já foi demonstrado que o uso de magnésio combinado com calcitriol reduziu a gravidade da calcificação em ratos com DRC (181). Em humanos, baixos níveis de magnésio associaram-se à CV (182) e em um estudo conduzido em participantes do *Framingham Heart Study* foi verificado que o consumo de magnésio associou-se inversamente à calcificação (183).

O magnésio parece reduzir o risco de CV por diversos mecanismos. Passivamente, pode inibir a absorção de fósforo, tendo um efeito quelante (184). O magnésio também parece reduzir a maturação da hidroxiapatita, possivelmente devido à sua capacidade de formar complexo com o fósforo (185) e por bloquear a entrada de cálcio nas CMLV (186). Além disso, já foi demonstrado que o magnésio inibiu a maturação das partículas de calciproteínas (PCP) primárias em PCP secundárias, que podem induzir CV (187,188).

Ativamente, o magnésio parece prevenir as mudanças transcriptacionais da transdiferenciação e apoptose das CMLV, interrompendo o processo de calcificação (189,190). Também já foi demonstrado que a suplementação de magnésio foi capaz de reduzir a expressão de marcadores osteocondrogênicos, como BMP-2, RUNX2/Cbfa1, Msh homeobox 2, osteocalcina e fosfatase alcalina e, simultaneamente, prevenir a redução de fatores de inibição de CV, como BMP-7, MGP e osteoprotegerina (191-194).

Assim como o magnésio, o papel da vitamina K na redução do risco de CV tem sido alvo de estudos. A suplementação com vitamina K2 (menaquinona) em ratos com DRC promoveu menor calcificação e maiores níveis de MGP em sua forma carboxilada, considerada um inibidor de CV (195). Em um estudo conduzido em ratos com DRC verificou-se que os animais que receberam 100 µg/g de menaquinona apresentaram menor calcificação, bem como menores níveis de fosfatase alcalina na aorta em relação ao grupo controle (196). Já em humanos com função renal normal foi demonstrado que uma maior ingestão de menaquinona se associou inversamente à CV (197,198). Contudo, em pacientes com DRC a suplementação com 90 µg de menaquinona, por 270 dias, não foi capaz de reduzir a progressão da CV (199), suscitando dúvidas sobre o seu papel na redução do risco de CV.

O papel mais reconhecido da vitamina K como um fator de proteção para CV é devido à sua atuação na γ -carboxilação da MGP, um inibidor local de calcificação (200). Estudos demonstraram que o tratamento com antagonistas de vitamina K inibiu esse processo, com consequente surgimento de CV, que se mostrou reduzida após a suplementação de vitamina K (201-203). Animais *knock-out* para a MGP foram a óbito em oito semanas após o nascimento devido à mineralização excessiva e consequente rompimento de artérias de médio e grande calibre (149), dado que demonstra o efeito inibidor da MGP sobre a CV.

Também tem sido sugerido que outras proteínas dependentes de vitamina K, como GRP (*Gla rich protein*) e GAS6 (*growth arrest-specific 6*), possam atuar como inibidores de CV. A GRP é expressa nos condrócitos, condroblastos, osteócitos e osteoblastos e tem como uma de suas funções

retardar a maturação dos osteoblastos (204). Por sua vez, a GAS6 atua inibindo a apoptose, pelo estímulo de fatores anti-apoptóticos, como Bel-2, e pela inibição de fatores pró-apoptóticos, como proteína caspase-3 (205).

Além disso, estudos iniciais demonstraram que a CV associou-se diretamente ao índice glicêmico da dieta (206) e a um maior consumo de refrigerante (207). Choi et al. (208) identificaram uma associação direta entre a ingestão de mais de sete ovos por semana e CV, e atribuíram que tal relação pode ser devido ao colesterol dietético, embora o consumo de colesterol não tenha sido avaliado no estudo. Por outro lado, verificou-se uma associação inversa entre CV e um maior consumo de ômega-3 (209), frutas e vegetais (210) e chá (211).

2 OBJETIVOS

Considerando-se que a relação entre a dieta e CV na DRC carece de novos estudos, o presente projeto teve por objetivo avaliar a associação entre o consumo de energia, macro e micronutrientes e a CV em pacientes com DRC em tratamento conservador.

3 MÉTODOS

3.1 Amostra e coleta de dados

O presente estudo utilizou em suas análises os dados da linha de base do estudo de coorte PROGREDIR - “Doença renal crônica: determinantes de progressão e de risco cardiovascular. Estudo de coorte em população brasileira”, que tem por objetivo avaliar os determinantes de mortalidade e progressão da DRC.

O estudo PROGREDIR é composto por 454 pacientes com DRC em tratamento conservador, recrutados do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) entre fevereiro de 2012 e dezembro de 2013. Detalhes do recrutamento e da coleta de dados já foram publicados (212).

Os critérios de inclusão do estudo PROGREDIR foram: pacientes ambulatoriais com idade ≥ 30 anos e com ao menos duas dosagens de creatinina sérica $\geq 1,6$ mg/dL para o sexo masculino e $\geq 1,4$ mg/dL para o sexo feminino, com um intervalo mínimo de três meses entre as dosagens. Foram captados tanto casos prevalentes (pacientes que já eram atendidos no hospital), como casos incidentes (pacientes recém-admitidos no atendimento do hospital no período da captação). Inicialmente, foi gerada uma lista com os contatos de potenciais participantes. Os critérios de exclusão foram: internação nos últimos seis meses, infarto agudo do miocárdio nos últimos seis meses, intervenção hospitalar programada para os seis meses subsequentes, diálise, lúpus eritematoso sistêmico, glomerulonefrites agudas ou em atividade, tratamento atual com drogas imunossupressoras ou quimioterápicos, doenças

renais obstrutivas, gestantes, pacientes com doença mental, portadores de deficiência auditiva grave, com sorologia positiva para HIV ou hepatites B ou C e participação atual em ensaio clínico. Por meio de contato telefônico, os pacientes elegíveis que concordaram em participar do estudo foram orientados a comparecerem em jejum ao Centro de Pesquisa Clínica do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (HU-USP), em data e horário previamente informados.

No dia da visita, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi inicialmente lido e assinado. Sequencialmente, o participante foi submetido à antropometria, coleta de fluidos e avaliação do consumo alimentar, da velocidade de onda de pulso e do escore de cálcio.

A aferição das medidas antropométricas foi realizada com os participantes em jejum. O peso foi estimado com auxílio de uma balança devidamente calibrada (Toledo®) e a estatura foi aferida com a utilização de um estadiômetro (Secca®), com os participantes mantidos no plano de Frankfurt. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado dividindo-se o peso (kg) pela estatura (m) ao quadrado (213). A circunferência da cintura (CC) foi mensurada com uma fita métrica inelástica e inextensível, no ponto médio entre o último arco costal e a crista ilíaca, e foi classificada de acordo com os pontos de corte descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Pontos de corte para a classificação de CC muito aumentada

Sexo	Ponto de corte
Masculino	>102 cm
Feminino	>88 cm

CC, circunferência da cintura.

Fonte: *National Institutes of Health* (214).

Os métodos e os kits utilizados nas análises laboratoriais estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Métodos e kits utilizados nas análises laboratoriais do estudo PROGREDIR

Análise	Método/Kit
25(OH)D	Imunoensaio quimioluminescente (DiaSorin)
Albuminúria	Ensaio imunoquímico (nefelometria) (BNII e Siemens)
Cálcio total	Ensaio colorimétrico (ADVIA Chemistry)
Colesterol total	Ensaio enzimático-colorimétrico (ADVIA Chemistry)
Creatinina	Ensaio enzimático-colorimétrico (Jaffé) (ADVIA Chemistry)
FGF23	Imunoensaio quimioluminescente (DiaSorin)
Fosfatase alcalina	Ensaio enzimático-colorimétrico (ADVIA Chemistry)
Fosfatúria de 24 horas	Ensaio colorimétrico (ADVIA Chemistry)
Fósforo	Ensaio colorimétrico (fosfomolibdato) (ADVIA Chemistry)
Gasometria venosa	Potenciometria (Roche)
Glicose	Hexoquinase automatizado (ADVIA Chemistry e Siemens)
HDL-C	Ensaio enzimático-colorimétrico (ADVIA Chemistry)
Hemoglobina glicada	CLAE (Bio-Rad Laboratories)
Insulina	Ensaio imunoenzimático (ELISA) (Siemens)
LDL-C	Equação de Friedewald (215)
Potássio	Se triglicérides >400 mg/dL, ensaio enzimático-colorimétrico (ADVIA Chemistry)
PCR	Potenciometria (ISE) (ADVIA Chemistry)
iPTH	Ensaio imunoquímico (nefelometria) (BNII e Siemens)
Triglicérides	Ensaio quimioluminescente do tipo sanduíche (CENTAUR, ADVIA Chemistry)
Ureia	Ensaio enzimático-colorimétrico (glicerol fosfato peroxidase) (ADVIA Chemistry)
	Ensaio cinético (urease/glutamato desidrogenase) (ADVIA Chemistry)

25(OH)D, 25-hidroxivitamina D; CLAE, cromatografia líquida de alta eficiência; FGF23, fator de crescimento de fibroblastos 23; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; ISE, eletrodos íon-seletivo; iPTH, paratormônio intacto; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; PCR, proteína C reativa.

Fonte: adaptado de Domingos et al. (212).

As análises incluídas no estudo foram: 25(OH)D, cálcio total, colesterol total e frações, creatinina, FGF23, fosfatase alcalina, fósforo, gasometria venosa, glicemia, hemoglobina glicada, potássio, proteína C reativa (PCR) ultrasensível, PTH intacto (iPTH), teste de tolerância oral à glicose de 120 minutos (glicemia e insulina), triglicérides e ureia, todos em soro. A partir das amostras de urina foram examinados albuminúria, creatinina e fósforo. As dosagens foram realizadas no Laboratório do HU-USP.

A taxa de filtração glomerular (eTFG) foi estimada pela fórmula do grupo *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI) (216). As variáveis demográficas (idade e sexo) e de estilo de vida (tabagismo e etilismo) foram autorrelatadas. A presença de hipertensão foi definida como história médica prévia de hipertensão e o diabetes *mellitus* foi determinado utilizando uma definição de cinco critérios, que incluiu história média prévia de diabetes, uso de medicamentos para tratamento de diabetes, glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL, hemoglobina glicada $\geq 6,5\%$ e glicemia ≥ 200 mg/dL após duas horas da realização do teste de tolerância oral à glicose.

O estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo processo 2011/17341-0.

3.2 Ética em pesquisa

Foram seguidas as determinações da Resolução nº 196/96, do Conselho Nacional de Saúde (217). O estudo PROGREDIR teve caráter estritamente

voluntário e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HU-USP (protocolo 11147/11) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMUSP (protocolo 0798/11). Adicionalmente, o presente estudo também foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMUSP (CAAE 54170416.4.0000.0068), sendo igualmente aprovado.

3.3 Consumo alimentar

O consumo alimentar foi avaliado por meio do questionário de frequência alimentar (QFA) (Anexo) do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA Brasil), anteriormente validado (218). O questionário é composto por 114 alimentos ou preparações e avaliou a frequência (diária, semanal ou mensal) e a quantidade (em medidas caseiras) habitual do consumo de cada alimento/preparação. Além disso, contém também 19 questões sobre as características gerais do hábito alimentar, em referência aos últimos 12 meses. O QFA foi aplicado por pessoal devidamente treinado para tal função. No momento do preenchimento do QFA, havia à disposição dos entrevistadores e entrevistados réplicas de alimentos e de utensílios de medida comumente utilizados, com o objetivo de facilitar a quantificação das porções consumidas. Após a coleta, o QFA foi revisado para verificar se o tamanho das porções estava de acordo com o que é geralmente consumido pela população brasileira.

Para a avaliação do consumo alimentar foi obtida a quantidade ingerida de cada alimento ou preparação do QFA. Para tanto, multiplicou-se a frequência do consumo (ex.: 1x/dia) pelo tamanho da porção consumida (em gramas). A ingestão de energia e nutrientes foi estimada por meio da tabela de composição de alimentos da USDA (219). Quando o valor do nutriente variou para menos de 80% ou mais de 120% em relação à Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (220), utilizou-se o valor disponível nessa última.

Os nutrientes avaliados foram: carboidratos, proteínas, gorduras totais, gorduras saturadas, gorduras monoinsaturadas, gorduras poli-insaturadas, fibras alimentares, vitamina A, vitamina E, vitamina K, tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, piridoxina, folato, cobalamina, vitamina C, fósforo, cálcio, ferro, zinco, magnésio, manganês, potássio, sódio, cobre e selênio.

A ingestão de macro e micronutrientes foi ajustada pela energia pelo método dos resíduos (221). Foram excluídos das análises de consumo alimentar os participantes que apresentaram uma ingestão de energia superior a 5000 kcal ($n = 11$), por tratar-se de valores improváveis que poderiam superestimar o consumo dos demais nutrientes (222). Não foi incluída nas análises a ingestão de suplementos ou medicamentos, inclusive de cálcio e vitamina D, uma vez que não foi possível quantificar o consumo de cada suplemento ou medicamento. Contudo, foram realizadas análises e a utilização desses suplementos não se associou à calcificação no presente estudo. A prevalência da utilização de cálcio e vitamina D (colecalfiferol) foi de 7,2% e 24,8%, respectivamente.

3.4 Escore de cálcio

Para a avaliação do escore de cálcio, os participantes foram submetidos a uma tomografia computadorizada sem contraste, realizada em um tomógrafo de 64 detectores (Philips Brilliance, Philips, Holanda). O campo de visão foi definido de modo a incluir todo o coração, e a direção do eixo z incluiu a bifurcação das artérias pulmonares para o vértice do coração durante uma pausa expiratória. As configurações padrão incluíram 120 kV, miliampère ajustado pelo IMC, uma fase de aquisição prospectiva em 70% (em meados da diástole) do ciclo cardíaco e colimação de 2,5 mm, rotação de 400 m/s e reconstrução com um filtro padrão. As imagens foram analisadas utilizando-se o software Brilliance Workspace. A quantificação do escore de cálcio coronário foi obtida utilizando-se uma densidade acima de 130 HU. A calcificação arterial coronariana (CAC) foi apresentada pelo escore de cálcio de Agatston (223).

As análises com o escore de cálcio de Agatston foram realizadas em 373 participantes, uma vez que não foram incluídos aqueles que já haviam sido submetido à angioplastia ou possuíam stent, uma vez que a presença de stent pode prejudicar a leitura das imagens, dificultando a quantificação do escore de cálcio (224). Análises para verificar um possível viés de seleção, devido a não inclusão desses participantes, foram realizadas.

3.5 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas nos softwares SPSS, versão 17.0 e R, versão 3.3.1. Os dados quantitativos foram apresentados em média e desvio-padrão ou em mediana e intervalo interquartil. Os dados categóricos foram apresentados em frequências absoluta e relativa. Foi realizado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov para as variáveis contínuas. A diferença entre os grupos para as variáveis com distribuição normal foi avaliada por meio do teste t de Student e análise de variância (ANOVA) e para as variáveis com distribuição não normal por meio dos testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. Para as variáveis qualitativas, a diferença entre os grupos foi avaliada por meio do teste do qui-quadrado. A correlação entre as variáveis contínuas foi avaliada por meio do coeficiente de correlação de Pearson para as variáveis com distribuição normal e coeficiente de correlação de Spearman para as variáveis com distribuição não normal. A variável dependente (CAC) foi tratada como variável contínua. Por apresentar distribuição bastante assimétrica (Figura 1), a associação entre a CAC e os fatores sociodemográficos, estilo de vida e clínicos foi avaliada por modelos lineares generalizados com distribuição gama. Em todas as análises de regressão, foi utilizado o valor de CAC acrescido de 0,5 ($CAC + 0,5$), uma vez que a distribuição gama é utilizada para modelar valores de dados maiores que zero.

Figura 1 - Distribuição da CAC dos participantes do estudo PROGREDIR

CAC, calcificação arterial coronária.

A associação entre a CAC e a ingestão de energia, macro e micronutrientes foi avaliada primeiramente por meio de modelos lineares generalizados com distribuição gama. Em uma segunda abordagem, essa associação foi avaliada por meio de modelos lineares generalizados mistos com distribuição gama, um método apropriado para a análise de dados com distribuição não normal com efeitos aleatórios (225). Nesses modelos, o indivíduo foi utilizado como efeito aleatório, com o objetivo de trabalhar a não independência entre a ingestão de nutrientes, e o nutriente e as variáveis de confusão (idade, sexo, diabetes *mellitus* e tabagismo) como efeitos fixos. Contudo, devido à correlação elevada entre os nutrientes, os ajustes entre eles não foram possíveis de serem realizados, uma vez que a colinearidade entre os nutrientes pode inflar as variâncias dos coeficientes da regressão e

prejudicar o poder estatístico (226). Devido a isso, os nutrientes mais relacionados à variabilidade da CAC foram identificados por meio de regressão de LASSO (*least absolute shrinkage and selection operator*).

A regressão de LASSO é um método de estimativa em modelos lineares que penaliza modelos com múltiplas variáveis, minimizando o resíduo da soma dos quadrados penalizada pela soma dos valores absolutos dos coeficientes da regressão, que tende a produzir alguns coeficientes iguais a zero, possibilitando assim a seleção de variáveis (227). Essa abordagem tem diversas vantagens sobre métodos convencionais, principalmente por permitir a seleção de variáveis mesmo se houver colinearidade entre os dados (227,228).

4 RESULTADOS

Foram incluídos 454 pacientes com DRC em tratamento conservador no estudo PROGREDIR. As características sociodemográficas, de estilo de vida e clínico-laboratoriais dos participantes estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Características sociodemográficas, de estilo de vida e clínicas dos participantes incluídos no estudo

Variável	Valor
Idade, anos	68 (60, 77)
Sexo masculino, n (%)	232 (62,2)
Tabagismo atual, n (%)	32 (8,6)
Etilismo atual, n (%)	135 (36,2)
Hipertensão, n (%)	341 (91,9)
Diabetes <i>mellitus</i> , n (%)	207 (55,5)
eTFG, mL/min/1,73 m ²	37,5 ± 14,8
Ureia sérica, mg/dL	70 (54, 90)
Albuminúria, mg/g de creatinina	92 (16, 667)
Fósforo sérico, mg/dL	3,7 ± 0,6
Cálcio total sérico, mg/dL	9,6 (9,2, 9,9)
Potássio sérico, mEq/L	4,6 ± 0,5
FGF23, RU/mL	95 (70, 130)
iPTH, pg/mL	94 (65, 143)
25(OH)D, ng/mL	25 ± 11
Fosfatase alcalina, U/L	75 (57, 98)
Fosfatúria, mg/24 horas	487 (350, 653)
Hemoglobina glicada, %	6,2 (5,8, 7,1)
Colesterol total, mg/dL	168 (142, 193)
LDL-C, mg/dL	89 (70, 112)
HDL-C, mg/dL	44 (37, 53)
Triglicérides, mg/dL	140 (99, 193)
PCR, mg/L	2,8 (1,0, 6,5)
pH	7,35 (7,33, 7,38)
Bicarbonato, mEq/L	25 (23, 27)
IMC, kg/m ²	29 (26, 32)
CC muito aumentada, n (%)	192 (52,0)
PAS, mmHg	140 ± 24
PAD, mmHg	75 (69, 84)
VOP, m/s	12,8 ± 3,0
Escore de cálcio de Agatston	165 (8, 785)
Uso de estatina, n (%)	221 (62,6)

25(OH)D, 25-hidroxivitamina D; CC, circunferência da cintura; eTFG, taxa de filtração glomerular estimada; FGF23, fator de crescimento de fibroblastos 23; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; IMC, índice de massa corporal, iPTH, paratormônio intacto; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; PAD, pressão arterial diastólica; PAS, pressão arterial sistólica; PCR, proteína C reativa; VOP, velocidade de onda de pulso.

O consumo de energia, macro e micronutrientes, após o ajuste pela energia pelo método dos resíduos, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Consumo de energia, macro e micronutrientes dos participantes incluídos no estudo

Variável	Consumo	Recomendação*
<u><i>Energia e macronutrientes</i></u>		
Energia, kcal	1869 (1478, 2464)	-
Carboidratos, g	289 ± 42	-
Proteínas, g	83 (72, 97)	-
Gorduras totais, g	50 ± 11	-
Gorduras saturadas, g	17,0 (13,5, 21,9)	-
Gorduras monoinsaturadas, g	17,2 ± 4,5	-
Gorduras poli-insaturadas, g	15,2 ± 3,5	-
Fibras alimentares, g	26,3 ± 8,6	-
<u><i>Vitaminas</i></u>		
Vitamina A, µg RAE	326 (235, 514)	-
Vitamina E, mg	6,4 (5,2, 8,0)	-
Vitamina K, µg	160 (101, 251)	-
Tiamina, mg	1,3 (1,0, 1,7)	-
Riboflavina, mg	1,3 (0,9, 1,7)	-
Niacina, mg	20,5 (14,7, 30,8)	-
Ácido pantotênico, mg	5,9 (5,3, 6,7)	-
Piridoxina, mg	0,7 (0,5, 0,9)	-
Folato, µg	522 (444, 607)	-
Cobalamina, µg	3,7 (2,7, 4,9)	-
Vitamina C, mg	148 (70, 260)	-
<u><i>Minerais</i></u>		
Fósforo, mg	1181 ± 236	750
Cálcio, mg	733 (528, 944)	1400
Ferro, mg	10,3 ± 2,4	8,0 H/15,0 M
Zinco, mg	9,8 (8,4, 11,9)	10,0 H/8,0 M
Magnésio, mg	275 (239, 329)	-
Manganês, mg	2,9 (2,4, 3,6)	-
Potássio, mg	3037 ± 705	De acordo com os níveis séricos
Sódio, mg	2205 (1840, 2498)	2300
Cobre, mg	1110 (890, 1333)	-
Selênio, µg	120 (103, 139)	55

H, homens; M, mulheres; RAE, equivalente de atividade de retinol.

*Recomendações para a doença renal crônica (229).

Os participantes que já realizaram angioplastia ou que possuíam stent coronário não realizaram a tomografia computadorizada para mensuração do escore de cálcio de Agatston ($n = 81$). Assim, as análises foram realizadas com 373 participantes.

Análises foram conduzidas para verificar se houve viés ao serem retirados os pacientes que já foram submetidos à angioplastia ou que possuíam stent. Nos participantes que não foram incluídos nas análises, havia uma maior proporção de tabagistas e maior média de eTFG (Tabela 5).

Tabela 5 - Distribuição dos dados dos participantes incluídos e não incluídos nas análises

Variável	Incluídos ($n = 373$)	Não incluídos ($n = 81$)	p
Idade, anos	68 (60, 77)	69 (64, 76)	0,19
Sexo masculino, n (%)	232 (62,2)	55 (67,9)	0,34
Tabagismo atual, n (%)	32 (8,6)	9 (11,3)	0,04
Etilismo atual, n (%)	135 (36,2)	36 (45,0)	0,09
Hipertensão, n (%)	341 (91,9)	75 (93,8)	0,58
Diabetes <i>mellitus</i> , n (%)	207 (55,5)	50 (61,7)	0,31
eTFG, mL/min/1,73 m ²	37,5 ± 14,8	42,3 ± 13,4	0,01
Ureia sérica, mg/dL	70 (54, 90)	69 (53, 81)	0,28
Albuminúria, mg/g de creatinina	92 (16, 667)	57 (13, 644)	0,38
IMC, kg/m ²	29 (26, 32)	29 (27, 32)	0,42
Energia, kcal	1869 (1478, 2464)	2087 (1563, 2541)	0,16

eTFG, taxa de filtração glomerular estimada; IMC, índice de massa corporal.

Analisando-se as características dos participantes de acordo com tercís de CAC, o maior tercís de CAC se associou diretamente à idade, sexo masculino, tabagismo, hipertensão, diabetes *mellitus*, hemoglobina glicada, VOP e uso de estatina. O colesterol total, LDL-C e PAD se associaram inversamente ao maior tercís de CAC (Tabela 6).

Tabela 6 - Características sociodemográficas, de estilo de vida e clínicas dos participantes incluídos no estudo de acordo com tercís de CAC

Variável	1º tercil (0, 44) n = 124	2º tercil (45, 513) n = 125	3º tercil (514, 10.357) n = 124	p *
Idade, anos	62 (52, 73)	69 (59, 77)	73 (65, 78)	<0,001
Sexo masculino, n (%)	66 (53,2)	75 (60,0)	91 (73,4)	0,004
Tabagismo atual, n (%)	9 (7,3)	7 (5,6)	16 (12,9)	0,02
Etilismo atual, n (%)	44 (35,5)	43 (34,4)	48 (38,7)	0,09
Hipertensão, n (%)	107 (87,0)	117 (94,4)	117 (94,4)	0,05
Diabetes <i>mellitus</i> , n (%)	55 (44,4)	69 (55,2)	83 (66,9)	0,002
eTFG, mL/min/1,73 m ²	37,7 ± 15,3	38,2 ± 14,4	36,7 ± 14,7	0,72
Ureia sérica, mg/dL	66 (52, 94)	66 (55, 83)	76 (58, 93)	0,10
Albuminúria, mg/g de creatinina	130 (16, 736)	88 (17, 730)	70 (16, 549)	0,81
Fósforo sérico, mg/dL	3,6 ± 0,7	3,7 ± 0,7	3,6 ± 0,6	0,46
Cálcio total sérico, mg/dL	9,6 (9,3, 9,9)	9,5 (9,2, 9,9)	9,6 (9,2, 9,9)	0,88
Potássio sérico, mEq/L	4,6 ± 0,6	4,6 ± 0,5	4,6 ± 0,5	0,55
FGF23, RU/mL	91 (67, 123)	92 (76, 126)	106 (69, 139)	0,23
iPTH, pg/mL	88 (65, 145)	103 (66, 151)	94 (64, 139)	0,91
25(OH)D, ng/mL	26 ± 10	24 ± 9	26 ± 12	0,57
Fosfatase alcalina, U/L	75 (57, 97)	76 (60, 96)	73 (58, 105)	0,94
Fosfatúria, mg/24 horas	481 (380, 659)	501 (320, 644)	474 (356, 650)	0,85
Hemoglobina glicada, %	6,0 (5,7, 6,5)	6,2 (5,9, 7,2)	6,4 (5,9, 7,7)	0,001
Colesterol total, mg/dL	171 (142, 194)	176 (146, 203)	155 (135, 178)	0,001
LDL-C, mg/dL	92 (72, 115)	94 (75, 122)	80 (63, 100)	0,001
HDL-C, mg/dL	45 (38, 52)	45 (37, 57)	42 (36, 51)	0,08
Triglicérides, mg/dL	137 (99, 182)	147 (102, 191)	139 (94, 202)	0,60
PCR, mg/L	2,9 (0,9, 6,9)	2,7 (1,2, 5,9)	2,4 (1,0, 6,7)	0,96
pH	7,35 (7,32, 7,37)	7,35 (7,32, 7,38)	7,36 (7,34, 7,38)	0,38
Bicarbonato, mEq/L	25 (23, 27)	26 (23, 27)	25 (24, 28)	0,05
IMC, kg/m ²	29 (25, 32)	29 (26, 33)	28 (26, 31)	0,46
CC muito aumentada, n (%)	64 (52,5)	69 (55,6)	59 (48,0)	0,48

continua

Tabela 6 - Características sociodemográficas, de estilo de vida e clínicas dos participantes incluídos no estudo de acordo com tercís de CAC

Variável	1º tercil	2º tercil	3º tercil	p*
	(0, 44) n = 124	(45, 513) n = 125	(514, 10.357) n = 124	
PAS, mmHg	137 ± 24	143 ± 23	141 ± 24	0,17
PAD, mmHg	76 (71, 85)	76 (69, 85)	72 (64, 83)	0,01
VOP, m/s	11,9 ± 2,8	13,0 ± 2,8	13,5 ± 3,1	<0,001
Uso de estatina, n (%)	63 (54,8)	72 (61,5)	86 (71,1)	0,03

25(OH)D, 25-hidroxivitamina D; CAC, calcificação arterial coronária; CC, circunferência da cintura; eTFG, taxa de filtração glomerular estimada; FGF23, fator de crescimento de fibroblastos 23; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; IMC, índice de massa corporal; iPTH, paratormônio intacto; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; PAD, pressão arterial diastólica; PAS, pressão arterial sistólica; PCR, proteína C reativa; VOP, velocidade de onda de pulso.

*p-trend em relação à comparação entre os tercís de CAC.

Nos modelos lineares generalizados univariados com distribuição gama, houve associação direta entre a CAC e idade, sexo, tabagismo, diabetes *mellitus*, albuminúria, fosfatúria, hemoglobina glicada e VOP; e relação inversa entre a CAC e colesterol total, LDL-C, HDL-C e PAD (Tabela 7).

Tabela 7 - Modelos lineares generalizados univariados entre a CAC e as características sociodemográficas, de estilo de vida e clínicas dos participantes incluídos no estudo

Variável	β	IC95%	p
Idade, anos	0,03	0,02, 0,05	<0,001
Sexo masculino	0,76	0,43, 1,09	<0,001
Tabagismo atual	0,75	0,15, 1,36	0,02
Diabetes <i>mellitus</i>	0,47	0,16, 0,79	0,004
Albuminúria, mg/g de creatinina	6,40 ⁻⁵	6,05 ⁻⁵ , 6,75 ⁻⁵	<0,001
Fosfatúria, mg/24 horas	4,35 ⁻³	3,52 ⁻⁴ , 8,35 ⁻³	0,03
Hemoglobina glicada, %	0,12	0,01, 0,24	0,04
Colesterol total, mg/dL	-0,007	-0,010, -0,004	<0,001
LDL-C, mg/dL	-0,008	-0,012, -0,003	<0,001
HDL-C, mg/dL	-0,009	-0,016, -0,001	0,02
PAD, mmHg	-0,013	-0,026, -0,001	0,03
VOP, m/s	0,07	0,01, 0,13	0,03
Etilismo atual	0,19	-0,21, 0,58	0,35

continua

Tabela 7 - Modelos lineares generalizados univariados entre a CAC e as características sociodemográficas, de estilo de vida e clínicas dos participantes incluídos no estudo

Variável	β	IC95%	conclusão
			p
Hipertensão	-0,13	-0,79, 0,54	0,71
eTFG, mL/min/1,73 m ²	0,008	-0,004, 0,019	0,19
Ureia sérica, mg/dL	9,34 ⁻⁵	-0,01, 0,01	0,97
Fósforo sérico, mg/dL	0,18	-0,08, 0,44	0,18
Cálcio total sérico, mg/dL	-0,07	-0,32, 0,19	0,60
Potássio sérico, mEq/L	0,21	-0,07, 0,49	0,14
FGF23, RU/mL	0,15	-0,59, 0,88	0,70
iPTH, pg/mL	-0,001	-0,003, 0,001	0,23
25(OH)D, ng/mL	-0,001	-0,013, 0,010	0,82
Fosfatase alcalina, U/L	9,36 ⁻⁵	-0,004, 0,004	0,97
Triglicérides, mg/dL	-0,001	-0,002, 0,001	0,25
PCR, mg/L	-0,008	-0,018, 0,002	0,12
pH	1,53	-2,50, 5,56	0,46
Bicarbonato, mEq/L	0,01	-0,04, 0,07	0,70
IMC, kg/m ²	-0,01	-0,04, 0,02	0,43
CC muito aumentada	-0,03	-0,23, 0,16	0,74
PAS, mmHg	3,99 ⁻⁵	-0,07, 0,07	0,99
Uso de estatina	0,20	-0,01, 0,41	0,06

25(OH)D, 25-hidroxivitamina D; CAC, calcificação arterial coronária; CC, circunferência da cintura; eTFG, taxa de filtração glomerular estimada; FGF23, fator de crescimento de fibroblastos 23; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; IC, intervalo de confiança; IMC, índice de massa corporal; iPTH, paratormônio intacto; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; PAD, pressão arterial diastólica; PAS, pressão arterial sistólica; PCR, proteína C reativa; VOP, velocidade de onda de pulso.

Em um modelo multivariado, no qual foram incluídas as variáveis significativas no modelo univariado, as variáveis que se associaram à CAC foram idade, sexo, tabagismo e diabetes *mellitus* (Tabela 8).

Tabela 8 - Modelos lineares generalizados multivariados entre a CAC e as características sociodemográficas, de estilo de vida e clínicas dos participantes incluídos no estudo

Variável	β	IC95%	p
Idade, anos	0,03	0,01, 0,05	0,002
Sexo masculino	0,43	0,05, 0,81	0,03
Tabagismo atual	0,74	0,13, 1,35	0,02
Diabetes <i>mellitus</i>	0,72	0,37, 1,07	<0,001

CAC, calcificação arterial coronária; IC, intervalo de confiança.

Em relação ao consumo alimentar, o maior tercil de CAC se associou diretamente à ingestão de fósforo, cálcio e magnésio. Houve um maior consumo de vitamina A, ácido pantotênico e potássio no 2º tercil (Tabela 9).

Tabela 9 - Consumo de energia, macro e micronutrientes dos participantes incluídos no estudo de acordo com tercís de CAC

Energia/Nutriente	1º tercil (0, 44) n = 124	2º tercil (45, 513) n = 125	3º tercil (514, 10.357) n = 124	p *
<i><u>Energia e macronutrientes</u></i>				
Energia, kcal	2059 (1538, 2566)	1857 (1318, 2388)	1849 (1726, 2915)	0,18
Carboidratos, g	288 ± 43	294 ± 39	285 ± 40	0,25
Proteínas, g	83 (72, 98)	80 (69, 97)	84 (78, 104)	0,77
Gorduras totais, g	50 ± 11	49 ± 10	52 ± 12	0,13
Gorduras saturadas, g	17,1 (13,2, 21,3)	16,7 (13,4, 21,2)	17,1 (13,3, 19,1)	0,55
Gorduras monoinsaturadas, g	17,3 ± 4,4	16,4 ± 4,1	17,8 ± 5,7	0,06
Gorduras poli-insaturadas, g	15,3 ± 3,4	14,8 ± 3,5	15,3 ± 3,6	0,48
Fibras alimentares, g	25 ± 9	27 ± 8	27 ± 10	0,08
<i><u>Vitaminas</u></i>				
Vitamina A, µg RAE	304 (182, 484)	351 (256, 565)	321 (265, 514)	0,02
Vitamina E, mg	6,1 (5,1, 7,8)	6,5 (5,2, 8,1)	6,5 (5,8, 10,9)	0,36
Vitamina K, µg	159 (100, 229)	154 (95, 275)	162 (149, 292)	0,80
Tiamina, mg	1,2 (1,0, 1,6)	1,4 (1,0, 1,8)	1,2 (1,0, 2,0)	0,15
Riboflavina, mg	1,2 (0,8, 1,6)	1,3 (1,0, 1,8)	1,3 (0,8, 1,6)	0,08
Niacina, mg	20 (15, 29)	21 (15, 34)	21 (19, 35)	0,61
Ácido pantotênico, mg	5,82 (5,23, 6,38)	6,04 (5,47, 6,84)	5,88 (5,62, 7,49)	0,05
Piridoxina, mg	0,7 (0,5, 0,9)	0,7 (0,5, 0,9)	0,7 (0,5, 0,8)	0,59
Folato, µg	504 (446, 589)	525 (451, 618)	532 (433, 620)	0,33
Cobalamina, µg	3,4 (2,5, 4,8)	3,7 (2,6, 5,1)	3,9 (3,1, 5,6)	0,35
Vitamina C, mg	142 (69, 255)	158 (77, 294)	145 (73, 193)	0,57

continua

Tabela 9 - Consumo de energia, macro e micronutrientes dos participantes incluídos no estudo de acordo com tercís de CAC

conclusão				
Energia/Nutriente	1º tercil (0, 44) n = 124	2º tercil (45, 513) n = 125	3º tercil (514, 10.357) n = 124	p *
<u>Minerais</u>				
Fósforo, mg	1138 ± 222	1193 ± 270	1212 ± 209	0,04
Cálcio, mg	688 (500, 871)	740 (536, 957)	792 (420, 916)	0,01
Ferro, mg	10,4 ± 2,4	10,1 ± 2,5	10,5 ± 2,1	0,46
Zinco, mg	10,1 (8,4, 12,3)	9,5 (8,2, 11,2)	10,2 (9,3, 12,7)	0,14
Magnésio, mg	259 (235, 306)	287 (245, 332)	289 (235, 341)	0,01
Manganês, mg	2,8 (2,4, 3,4)	3,0 (2,4, 3,4)	3,1 (2,6, 3,8)	0,49
Potássio, mg	2892 ± 626	3141 ± 819	3082 ± 622	0,02
Sódio, mg	2149 (1838, 2488)	2164 (1859, 2445)	2285 (1828, 2802)	0,30
Cobre, mg	1090 (880, 1255)	1105 (908, 1363)	1160 (930, 1355)	0,16
Selênio, µg	122 (104, 142)	118 (100, 137)	121 (111, 150)	0,59

CAC, calcificação arterial coronária; RAE, equivalente de atividade de retinol.

*p-trend em relação à comparação entre os tercís de CAC.

Em uma primeira abordagem utilizando modelos de regressão, foram utilizados modelos lineares generalizados com distribuição gama. No modelo univariado, houve associação direta entre a CAC e a ingestão de energia, gorduras totais, gorduras monoinsaturadas, riboflavina, ácido pantotênico, cobalamina, fósforo, cálcio, zinco, potássio e sódio (Tabela 10).

Tabela 10 - Modelos lineares generalizados univariados entre a CAC e o consumo de energia, macro e micronutrientes dos participantes incluídos no estudo

Energia/Nutriente	β	IC95%	p
Energia, kcal	$1,41^{-3}$	$1,39^{-3}, 1,43^{-3}$	<0,001
Gorduras totais, g	0,02	0,00, 0,03	0,02
Gorduras monoinsaturadas, g	0,05	0,01, 0,08	0,01
Riboflavina, mg	0,23	0,02, 0,44	0,03
Ácido pantotênico, mg	0,10	0,00, 0,24	0,01
Cobalamina, μ g	0,10	0,01, 0,19	0,04
Fósforo, mg	$9,00^{-3}$	$3,12^{-3}, 1,49^{-2}$	0,001
Cálcio, mg	$5,00^{-3}$	$3,04^{-3}, 6,96^{-3}$	<0,001
Zinco, mg	0,10	0,03, 0,17	0,004
Potássio, mg	$2,00^{-3}$	$2,00^{-3}, 2,00^{-3}$	<0,001
Sódio, mg	$3,00^{-3}$	$3,00^{-3}, 3,00^{-3}$	<0,001
Carboidratos, g	-0,002	-0,006, 0,001	0,20
Proteínas, g	0,006	-0,003, 0,016	0,20
Gorduras saturadas, g	0,02	-0,01, 0,05	0,15
Gorduras poli-insaturadas, g	0,02	-0,03, 0,07	0,41
Fibras alimentares, g	0,01	-0,01, 0,03	0,37
Vitamina A, μ g RAE	$1,00^{-3}$	$-4,92^{-3}, 2,92^{-3}$	0,40
Vitamina E, mg	0,03	-0,03, 0,09	0,37
Vitamina K, μ g	$4,03^{-5}$	$-2,35^{-3}, 2,44^{-3}$	0,74
Tiamina, mg	-0,06	-0,24, 0,13	0,54
Niacina, mg	-0,01	-0,02, 0,01	0,27
Piridoxina, mg	-0,09	-0,60, 0,42	0,72
Folato, μ g	0,001	0,000, 0,002	0,09
Vitamina C, mg	-0,001	-0,001, 0,000	0,29
Ferro, mg	0,04	-0,03, 0,11	0,29
Magnésio, mg	$-3,79^{-5}$	$-4,02^{-5}, 3,57^{-5}$	0,98
Manganês, mg	0,01	-0,07, 0,08	0,87
Cobre, mg	0,43	-0,05, 0,91	0,08
Selênio, μ g	0,002	-0,004, 0,007	0,52

CAC, calcificação arterial coronária; IC, intervalo de confiança; RAE, equivalente de atividade de retinol.

A seguir, uma série de ajustes passou a ser realizada em modelos multivariados. Após ajuste para idade e sexo, todas as variáveis continuaram significativamente associadas à CAC. Após ajuste para idade, sexo, diabetes *mellitus*, tabagismo e energia, permaneceram associados à CAC o consumo de gorduras monoinsaturadas, cobalamina, fósforo, cálcio, zinco, potássio e sódio (Tabela 11).

Tabela 11 - Modelos lineares generalizados multivariados entre a CAC e o consumo de energia e nutrientes dos participantes incluídos no estudo

Energia/Nutriente	β	IC95%	p
<i><u>Ajuste para idade e sexo</u></i>			
Energia, kcal	7,82 ⁻⁵	5,41 ⁻⁶ , 1,02 ⁻⁵	<0,001
Gorduras totais, g	0,02	0,00, 0,03	0,03
Gorduras monoinsaturadas, g	0,05	0,01, 0,08	0,01
Riboflavina, mg	0,22	0,02, 0,42	0,03
Cobalamina, μ g	0,12	0,03, 0,21	0,01
Fósforo, mg	0,001	0,000, 0,002	<0,001
Cálcio, mg	0,001	0,000, 0,001	<0,001
Zinco, mg	0,10	0,03, 0,16	0,004
Potássio, mg	2,00 ⁻³	2,00 ⁻³ , 2,00 ⁻³	<0,001
Sódio, mg	3,00 ⁻³	3,00 ⁻³ , 3,00 ⁻³	<0,001
<i><u>Ajuste para idade, sexo, diabetes mellitus, tabagismo e energia</u></i>			
Gorduras monoinsaturadas, g	0,04	0,01, 0,08	0,02
Cobalamina, μ g	0,11	0,01, 0,22	0,04
Fósforo, mg	0,001	0,001, 0,002	<0,001
Cálcio, mg	0,001	0,000, 0,001	<0,001
Zinco, mg	0,08	0,00, 0,16	0,04
Potássio, mg	0,0004	0,0004, 0,0004	<0,001
Sódio, mg	0,0002	0,0002, 0,0002	<0,001

CAC, calcificação arterial coronária; IC, intervalo de confiança.

Contudo, devido à correlação elevada entre os nutrientes, foram utilizados também como abordagem modelos lineares generalizados mistos, como uma alternativa de trabalhar a não independência do relato de ingestão desses nutrientes pelo mesmo indivíduo.

Utilizando-se modelos lineares generalizados mistos com distribuição gama como abordagem, associaram-se à CAC o consumo de ácido pantotênico, fósforo, cálcio e potássio (Tabela 12), quando cada um desses nutrientes foi ajustado pelas variáveis de confusão (idade, sexo, diabetes *mellitus* e tabagismo como efeitos fixos e o indivíduo como efeito aleatório).

Tabela 12 - Modelos lineares generalizados mistos entre a CAC e o consumo de nutrientes dos participantes incluídos no estudo

Nutriente ^{*†}	β	IC95%	p
Ácido pantotênico	0,48	0,22, 0,75	<0,001
Fósforo	0,38	0,10, 0,65	0,01
Cálcio	0,0008	0,0001, 0,0017	0,04
Potássio	0,0005	0,0001, 0,0009	0,02
Gorduras monoinsaturadas	0,03	-0,03, 0,09	0,34
Vitamina K	0,24	-0,03, 0,52	0,09
Riboflavina	0,20	-0,09, 0,49	0,17
Cobalamina	0,07	-0,07, 0,21	0,30
Zinco	0,02	-0,09, 0,12	0,76
Sódio	0,20	-0,08, 0,48	0,17

IC, intervalo de confiança.

*Nutrientes foram padronizados $[(X_i - \text{média})/\text{desvio-padrão}]$.

†Nutrientes ajustados para idade, sexo, diabetes *mellitus* e tabagismo como efeitos fixos e o indivíduo como efeito aleatório.

Colocando-se todos os nutrientes no mesmo modelo, com ajuste para as variáveis de confusão, nenhum deles permaneceu associado à CAC, possivelmente devido à correlação entre eles, que variou de 29% entre a ingestão de cálcio e potássio a 59% entre fósforo e cálcio (Tabela 13).

Tabela 13 - Correlação entre o consumo de nutrientes dos participantes incluídos no estudo

Nutriente [*]	Ácido pantotênico		Fósforo		Cálcio		Potássio	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Ácido pantotênico	1,00	-	0,42	<0,001	0,36	<0,001	0,53	<0,001
Fósforo	0,42	<0,001	1,00	-	0,59	<0,001	0,44	<0,001
Cálcio	0,36	<0,001	0,59	<0,001	1,00	-	0,29	<0,001
Potássio	0,53	<0,001	0,44	<0,001	0,29	<0,001	1,00	-

r, coeficiente de correlação.

*Consumo em mg.

Assim, foi utilizada a regressão de LASSO como uma abordagem para selecionar os nutrientes que mais explicaram a variabilidade da CAC. Conforme demonstrado na Figura 2, após ajustes para idade, sexo, diabetes

mellitus e tabagismo, se relacionaram diretamente à CAC a ingestão de fósforo, cálcio e potássio.

Figura 2 - Regressão de LASSO entre a CAC e características sociodemográficas, de estilo de vida e clínicas e o consumo de nutrientes dos participantes incluídos no estudo

Variável	Coefficiente	Sinal
Idade	0,74	+
Sexo feminino	0,56	-
Diabetes, não	0,45	-
Diabetes, sim	0,27	+
Consumo de fósforo	0,25	+
Consumo de cálcio	0,09	+
Sexo masculino	0,08	+
Tabagismo, nunca	0,07	-
Consumo de potássio	0,06	+
Tabagismo, prévio ou atual	0,05	+
Consumo de ácido pantotênico	0,03	-

CAC, calcificação arterial coronária.

5 DISCUSSÃO

No presente estudo, o consumo de fósforo, cálcio e potássio se associou diretamente à CV, sendo o fósforo o micronutriente que mais contribuiu para explicar a variabilidade da CAC.

Inicialmente, a ingestão desses três minerais, além do ácido pantotênico, se associou à CAC utilizando-se modelos lineares generalizados mistos, que é uma abordagem interessante devido à possibilidade do indivíduo ser incluído como efeito aleatório, permitindo trabalhar a não independência entre o relato do consumo de nutrientes (225). Assim, a utilização de modelos lineares generalizados mistos se torna interessante, pois possibilita corrigir o efeito de sub ou superestimativas da ingestão de nutrientes associadas ao mesmo relato, ou seja, ao mesmo indivíduo. Contudo, essa abordagem é limitada devido à correlação elevada entre os nutrientes consumidos. A colinearidade entre os nutrientes é um problema relativamente antigo na epidemiologia nutricional, sendo descrita há pelo menos trinta anos (230). Esse problema é comum, uma vez que os nutrientes não são consumidos isoladamente e pode haver interação e efeitos sinérgicos entre eles, o que dificulta a avaliação da associação entre a ingestão de nutrientes e desfechos em saúde (231).

Há diferentes estratégias que podem ser utilizadas com o objetivo de discriminar os efeitos das variáveis quando há colinearidade entre elas. Uma das abordagens utilizadas é retirar dos modelos as variáveis que não possuem uma possível plausibilidade biológica ou que podem dificultar a interpretação dos dados. Contudo, essa abordagem é arbitrária e pode produzir resultados enviesados. Outra abordagem utilizada é a análise de componentes principais, que permite reduzir a dimensionalidade de um conjunto de dados, criando novas variáveis que são funções lineares do conjunto de dados original, que

maximizam a variância sucessivamente e que não são correlacionadas entre si (232). De fato, diversos estudos em Nutrição têm utilizado com sucesso essa abordagem para a análise de padrões alimentares (233-235), mas esse método é limitado para a interpretação de dados em que se deseja avaliar o efeito isolado de uma ou mais variáveis como, por exemplo, o consumo de nutrientes específicos. Assim, no presente estudo, a regressão de LASSO foi utilizada como uma alternativa frente a esse problema, pois é uma abordagem que permite trabalhar com as variáveis na presença de colinearidade, diferentemente de métodos tradicionais, como as regressões *stepwise* (227,228). Nessa abordagem, os nutrientes que mais explicaram a variabilidade da CAC foram o fósforo, o cálcio e o potássio, em ordem de importância.

Diversos estudos experimentais demonstraram que uma dieta rica em fósforo promove calcificação (38,59,172,173). Já em humanos, em um estudo transversal realizado em participantes com função renal normal, não houve associação entre a ingestão de fósforo e CV (174). Contudo, nesse único estudo que avaliou a relação entre o consumo de fósforo e CV, a ingestão do mineral foi menor do que no presente projeto.

A média do consumo de fósforo nesta amostra foi de 1184 mg, ou seja, cerca de 60% maior do que o recomendado para a população com DRC (229). Preocupantemente, a ingestão de fósforo é frequentemente subestimada, uma vez que o fósforo inorgânico, adicionado em produtos industrializados, geralmente não consta em tabelas de composição de alimentos (236). Neste estudo não foi possível estimar o consumo de fósforo inorgânico, o que

significa dizer que muito possivelmente a ingestão de fósforo dos participantes foi ainda maior do que o mensurado.

Alternativas frente ao consumo elevado de fósforo incluem uma maior ingestão de vegetais nas refeições, dado estes não serem fontes expressivas de fósforo e por conterem fitato, um fator antinutricional que diminui a biodisponibilidade desse mineral (237). Entretanto, os vegetais são fontes de potássio, que deve ter seu consumo controlado por pacientes com hipercalemia (229). Outra estratégia importante é evitar a ingestão de produtos industrializados, uma vez que eles contêm aditivos alimentares à base de fósforo inorgânico, que apresentam alta biodisponibilidade (>90%) em comparação à biodisponibilidade do fósforo orgânico presente naturalmente nos alimentos (40 a 60%) (238,239). Por último, a utilização de quelantes de fósforo, medida recomendada e amplamente praticada em DRC (240). Contudo, a utilização de quelantes à base de cálcio é controversa em relação aos efeitos sobre a CV (241,242), e os quelantes de fósforo que não são à base de cálcio, como o sevelâmer, ainda não são fornecidos pelo Sistema Único de Saúde do Brasil para pacientes com DRC em tratamento conservador.

Embora essas medidas possam ser efetivas, na prática clínica a sua implementação não é fácil, uma vez que envolvem mudanças de atitude e de hábitos alimentares. Vale notar que no presente estudo o consumo elevado de fósforo está associado à ingestão proteica acima do recomendado para essa população, uma vez que alimentos-fonte de proteína são também fontes de fósforo. Neste estudo, apenas 9,9% dos participantes relataram um consumo de proteínas adequado às recomendações para o tratamento da DRC (243),

com a quase totalidade dos participantes com uma ingestão acima do recomendado.

O consumo de cálcio também se associou diretamente à CAC no presente estudo. Em um ensaio clínico randomizado realizado em pacientes com DRC, o uso de quelantes de fósforo à base de cálcio se relacionou à progressão da CV (179). Por outro lado, em estudos realizados em populações com função renal normal, com diferentes níveis de ingestão desse mineral, não houve associação entre o consumo de cálcio e CV (174,177,178). Os diferentes resultados observados na população com DRC e com função renal normal podem, em parte, ser explicados pelo balanço positivo de cálcio provocado pela DRC, fator que se acredita contribuir no desenvolvimento de CV (244).

Em um estudo que avaliou o balanço de cálcio de pessoas com DRC e com função renal normal, verificou-se que a ingestão elevada de cálcio (~2000 mg/dia) provocou um balanço de cálcio positivo importante na DRC, ao passo que as pessoas com função renal normal com consumo elevado apresentaram um balanço positivo leve, mas significativamente menor que na DRC (245). Nesse estudo a excreção urinária de cálcio foi menor nos participantes com DRC em relação aos controles, tanto para a ingestão elevada de cálcio quanto para o consumo dentro do recomendado. É importante ressaltar que no referido estudo a fração de absorção de cálcio foi semelhante nos participantes com DRC e com função renal normal, indicando que a redução da excreção de cálcio não foi decorrente de uma menor absorção intestinal desse mineral por pacientes com DRC. De fato, outros estudos demonstraram que a excreção de cálcio é menor na DRC (246,247), o que pode explicar o balanço positivo

encontrado. Ainda de acordo o estudo de Spiegel e Brady (245), e com o desenvolvido por Hill et al. (248), uma ingestão de 800 mg a 1000 mg de cálcio, semelhante ao presente estudo, promoveu um balanço neutro ou próximo ao neutro.

O conceito de balanço de cálcio positivo provocado pela DRC dá suporte ao achado de que um maior consumo de cálcio seja deletério, ao menos em termos de CV, no paciente com DRC (249). Possivelmente, o efeito do balanço positivo de cálcio é potencializado por outras alterações na DRC, como hiperfosfatemia, aumento de FGF23 e PTH, e redução da 1,25-dihidroxitamina D, dentre outros, que juntos promovem intensa deposição de cálcio em vasos e tecidos moles, característicos à doença.

Não foram identificados na literatura estudos que tenham avaliado a associação entre a ingestão de potássio e CV. Uma hipótese é que a associação entre o consumo de potássio e CAC seja mediada pela aldosterona, uma vez que o potássio é sabidamente um regulador da secreção desse hormônio (250). Em estudos experimentais já foi demonstrado que a aldosterona promoveu calcificação (251,252). Infelizmente, a dosagem de aldosterona não foi realizada no presente estudo. Outra possibilidade é que a relação encontrada possa ser reflexo de alterações da dieta decorrente de enfermidades já presentes, uma vez que a amostra deste estudo é composta de pacientes de um hospital quaternário. Já foi demonstrado que pacientes com DRC podem alterar o seu padrão alimentar em função da doença, com aumento da ingestão de vegetais (253), alimentos ricos em potássio, por exemplo. Desse modo, a associação identificada guardaria uma maior relação com a dieta habitual e não com a pregressa.

Há evidências de que o magnésio e a vitamina K sejam fatores de inibição de CV. Tanto em estudos experimentais quanto em humanos já foi demonstrada relação inversa entre o alto consumo de magnésio e calcificação (181,183). Contudo, no presente estudo não houve associação entre a ingestão de magnésio e CAC, sendo um dos possíveis motivos o menor consumo de magnésio nesta amostra.

Os achados sobre o papel da vitamina K sobre CV ainda são controversos. Em estudos em humanos verificou-se que tanto a ingestão elevada quanto a suplementação de vitamina K se associaram inversamente à CV em populações com função renal normal (198,254). Por sua vez, não houve redução da progressão da CV em pacientes com DRC que foram suplementados com menaquinona por 270 dias (199). No presente estudo não houve relação entre o consumo de vitamina K e CAC.

Em relação aos fatores limitantes do trabalho, destaca-se o fato de ser um estudo transversal, uma vez que nesse tipo de estudo a exposição e o desfecho são avaliados ao mesmo tempo, impossibilitando estabelecer causa e efeito. Além disso, a amostra foi composta de participantes com doenças crônicas já instaladas (DRC, hipertensão, diabetes *mellitus*), oriundos de clínicas ambulatoriais de um hospital, o que pode fazer com que a dieta já tenha sido modificada, voluntaria ou involuntariamente, pela presença dessas comorbidades. Assim, o consumo alimentar estimado pode ter uma relação pior com a dieta pregressa dos participantes do que em outras situações. Ainda em relação à dieta, destaca-se como limitação a utilização de um QFA para a avaliação do consumo alimentar, que é um instrumento que apresenta erros de acurácia e precisão, além do fato de não ser capaz de contemplar todos os

alimentos consumidos, o que pode prejudicar a quantificação de nutrientes (255,256). Contudo, o questionário utilizado no estudo PROGREDIR foi validado e, apesar de suas limitações, o QFA segue sendo utilizado em estudos epidemiológicos (256), dado a sua praticidade de aplicação em relação aos outros métodos de avaliação do consumo alimentar habitual. Outras limitações foram a não quantificação da suplementação de cálcio e vitamina D e, assim como em outros estudos, a impossibilidade de avaliar a ingestão de fósforo inorgânico, proveniente de alimentos industrializados.

6 CONCLUSÕES

Em uma amostra de pacientes com DRC em tratamento conservador, a CV, avaliada por meio do escore de cálcio de Agatston, associou-se diretamente ao consumo de fósforo, cálcio e potássio. Estudos futuros são necessários para confirmar esses resultados e avaliar o papel de intervenções sobre a redução do risco e da progressão da CV.

		Colher sopa cheia									
41.	Quiabo	_____									
		Colher sopa cheia									
42.	Cebola	Anote só a frequência									
43.	Alho										
44.	Cenoura	_____									
		Colher sopa cheia									
45.	Beterraba	_____									
		Rodela média									
46.	Couve-flor	_____									
		Ramo médio									
47.	Brócolis	_____									
		Ramo médio									
48.	Milho Verde	_____									
		Colher sopa cheia									
49.	Feijão (preto, vermelho, branco, de corda, etc)	_____									
		Concha Cheia									
50.	Feijoada/Feijão tropeiro	_____									
		Concha Cheia									
51.	Lentilha/Grão de bico/Ervilha	_____									
		Concha Cheia									

	Alimento	Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/quase nunca	Referiu consumo sazonal
--	----------	------------------------------	----------------	------------	--------	---------------	---------------	-----------	------------	-------------------	-------------------------

110.	Chimarrão	_____										
		Garrafa térmica										
111.	Cerveja	_____										
		Copo americano										
112.	Vinho	() Tinto () Branco	_____									
		Taça										
113.	Bebidas alcoólicas destiladas (cachaça, whisky, vodka)	_____										
		Dose										
114.	Água de coco	_____										
		Unidade [coco]										

As próximas perguntas se referem aos seus hábitos alimentares

Entrevistador(a): Continue a utilizar o CARTÃO DIE 01 para referir a frequência

115. Com que frequência o(a) Sr(a) costuma comer no refeitório/restaurante (universitário ou não) no horário de trabalho?

[] Mais de 3x/dia

[] 2 a 3x/dia

[] 1x/dia

[] 5 a 6x /semana

[] 2 a 4x/semana

[] 1x/semana

☐ 1 a 3x/mês
☐ Nunca/quase nunca
☐ NÃO SE APLICA
☐ NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER
116. Com que frequência o(a) Sr(a) costuma comer em restaurantes fora do horário de trabalho?
☐ Mais de 3x/dia
☐ 2 a 3x/dia
☐ 1x/dia
☐ 5 a 6x /semana
☐ 2 a 4x/semana
☐ 1x/semana
☐ 1 a 3x/mês
☐ Nunca/quase nunca
☐ NÃO SE APLICA
☐ NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER

117. Com que frequência o(a) Sr(a) costuma comer <i>fastfood</i> (pizza, esfirra, quibe,
--

cozinha, hambúrguer, acarajé)?
☐ Mais de 3x/dia
☐ 2 a 3x/dia
☐ 1x/dia
☐ 5 a 6x /semana
☐ 2 a 4x/semana
☐ 1x/semana
☐ 1 a 3x/mês
☐ Nunca/quase nunca
☐ NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER
118. Com que frequência o(a) Sr(a) costuma comer churrasco?
☐ Mais de 3x/dia
☐ 2 a 3x/dia
☐ 1x/dia
☐ 5 a 6x /semana
☐ 2 a 4x/semana
☐ 1x/semana

☐ 1 a 3x/mês
☐ Nunca/quase nunca
☐ NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER

119. Com que frequência o(a) Sr(a) costuma comer VERDURAS e LEGUMES crus, cozidos ou refogados, sem incluir batatas, mandioca/aipim, inhame e cará?
☐ Mais de 3x/dia
☐ 2 a 3x/dia
☐ 1x/dia
☐ 5 a 6x /semana
☐ 2 a 4x/semana
☐ 1x/semana
☐ 1 a 3x/mês
☐ Nunca/quase nunca
☐ NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER
120. Com que frequência o(a) Sr(a) costuma comer FRUTAS, sem incluir sucos de frutas?
☐ Mais de 3x/dia

☐ 2 a 3x/dia
☐ 1x/dia
☐ 5 a 6x /semana
☐ 2 a 4x/semana
☐ 1x/semana
☐ 1 a 3x/mês
☐ Nunca/quase nunca
☐ NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER
Entrevistador(a): RECOLHA O CARTÃO DIE01.
121. No total, quantas refeições o(a) Sr(a) faz por dia, incluindo os lanches e excluindo cafezinho entre os intervalos?
__ __ refeições
☐ NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER

122. Quando o(a) Sr(a) come doces (de todos os tipos citados), qual a forma mais consumida? LEIA AS ALTERNATIVAS
☐ Normal
☐ Light/diet

☐ Ambas	
☐ NÃO COME DOCES	
123. O(a) Sr(a) usa adoçante artificial?	
☐ NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER	
☐ Não	
☐ Sim ----->	124. Qual o tipo? LEIA AS ALTERNATIVAS. Se for o caso, marque mais de uma resposta.
	☐ Líquido (embalagem transparente)
	☐ Líquido (embalagem opaca)
	☐ Pó
	☐ Stévia
	☐ Forno e Fogão
	☐ NÃO SABE
125. Em sua casa que tipo de ÓLEO/GORDURA é usado no COZIMENTO/PREPARO de refeições? [Marque o óleo de uso mais frequente].	
☐ óleo de soja	
☐ óleo de milho/girassol/canola	
☐ azeite de oliva	

☐ óleo composto (azeite de oliva + óleo de soja)
☐ azeite de dendê
☐ margarina
☐ manteiga
☐ banha
☐ não se usa óleo/gordura
☐ NÃO SABE

126. Que tipo de ÓLEO/AZEITE o(a) Sr(a) costuma usar em saladas? [Marque o óleo de uso mais frequente].
☐ óleo de soja
☐ óleo de milho/girassol/canola
☐ azeite de oliva
☐ óleo composto (azeite de oliva + óleo de soja)
☐ não se usa óleo/azeite
☐ NÃO SABE
127. Quando o(a) Sr(a) come CARNE DE BOI/VACA, PORCO ou CARNEIRO, costuma tirar a gordura visível? LEIA AS ALTERNATIVAS.

☐ nunca/raramente
☐ algumas vezes
☐ sempre
☐ NÃO COME CARNE
128. Quando o(a) Sr(a) come CARNE DE FRANGO ou OUTRO TIPO DE AVE, costuma tirar a pele? LEIA AS ALTERNATIVAS.
☐ nunca/raramente
☐ algumas vezes
☐ sempre
☐ NÃO COME AVES, EM GERAL

129. NOS ÚLTIMOS SEIS MESES o(a) Sr(a) mudou seus hábitos alimentares ou está fazendo dieta por algum motivo?	
☐ NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER	
☐ Não	
☐ Sim ----->	130. Qual foi o motivo? Se for o caso, escolha mais de uma resposta. LEIA AS ALTERNATIVAS.

	☐ para perda de peso
	☐ para redução de colesterol
	☐ para redução de sal
	☐ dieta vegetariana/redução de carnes
	☐ para ganho de peso
	☐ para diabetes
	☐ por outro motivo. Especifique:
☐ NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER	

131. NOS ÚLTIMOS DOZE MESES o(a) Sr(a) fez uso de algum suplemento de vitaminas e/ou de minerais?
☐ NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER
☐ Não

☐ Sim, regularmente -----> ☐ Sim, mas não regularmente -->	132. Qual? LEIA AS ALTERNATIVAS. Se for o caso marque mais de uma opção
	☐ Polivitamínico
	☐ Polimineral
	☐ Vitamina A
	☐ Vitamina B6
	☐ Vitamina C
	☐ Vitamina D
	☐ Vitamina E
	☐ Ácido Fólico
	☐ Beta Caroteno
	☐ Cálcio
	☐ Ferro
	☐ Selênio
	☐ Zinco
	☐ Outro:

	[] NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER

132. O Sr(a) consome café? LEIA AS ALTERNATIVAS.	
☐ Não ☐ NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER	(PULE PARA A QUESTÃO 01 DO BLOCO COA)
☐ Sim, com cafeína	
☐ Sim, descafeinado	
133.O café que o(a) Sr(a) usualmente consome é de que tipo? LEIA AS ALTERNATIVAS.	
☐ Passado em filtro ou coador	
☐ Expresso	
☐ Cafeteira Italiana	
☐ Solúvel (instantâneo)	
☐ Outro tipo. Especifique: _____	
☐ NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER	

8 REFERÊNCIAS

1. Paloian NJ, Giachelli CM. A current understanding of vascular calcification in CKD. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2014;307(8):F891-900.
2. Fitzgerald PJ, Ports TA, Yock PG. Contribution of localized calcium deposits to dissection after angioplasty. An observational study using intravascular ultrasound. *Circulation*. 1992;86(1):64-70.
3. Loecker TH, Schwartz RS, Cotta CW, Hickman Jr JR. Fluoroscopic coronary artery calcification and associated coronary disease in asymptomatic young men. *J Am Coll Cardiol*. 1992;19(6):1167-72.
4. Rumberger JA, Simons DB, Fitzpatrick LA, Sheedy PF, Schwartz RS. Coronary artery calcium area by electron-beam computed tomography and coronary atherosclerotic plaque area. A histopathologic correlative study. *Circulation*. 1995;92(8):2157-62.
5. Sangiorgi G, Rumberger JA, Severson A, Edwards WD, Gregoire J, Fitzpatrick LA, Schwartz RS. Arterial calcification and not lumen stenosis is highly correlated with atherosclerotic plaque burden in humans: a histologic study of 723 coronary artery segments using nondecalcifying methodology. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31(1):126-33.
6. Budoff MJ, Shaw LJ, Liu ST, Weinstein SR, Mosler TP, Tseng PH, Flores FR, Callister TQ, Raggi P, Berman DS. Long-term prognosis associated with coronary calcification: observations from a registry of 25,253 patients. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(18):1860-70.
7. Detrano R, Guerci AD, Carr JJ, Bild DE, Burke G, Folsom AR, Liu K, Shea S, Szklo M, Bluemke DA, O'Leary DH, Tracy R, Watson K, Wong ND, Kronmal RA. Coronary calcium as a predictor of coronary events in four racial or ethnic groups. *N Engl J Med*. 2008;358(13):1336-45.
8. Elias-Smale SE, Proença RV, Koller MT, Kavousi M, van Rooij FJ, Hunink MG, Steyerberg EW, Hofman A, Oudkerk M, Witteman JC. Coronary calcium score improves classification of coronary heart disease risk in the elderly: the Rotterdam study. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56(17):1407-14.
9. Polonsky TS, McClelland RL, Jorgensen NW, Bild DE, Burke GL, Guerci AD, Greenland P. Coronary artery calcium score and risk classification for coronary heart disease prediction. *JAMA*. 2010;303(16):1610-6.
10. Mahabadi AA, Lehmann N, Dykun I, Müller T, Kälsch H, Erbel R. Progression of coronary artery calcification by cardiac computed tomography. *Herz*. 2015;40(6):863-8.
11. Yuoness SA, Goha AM, Romsa JG, Akincioglu C, Warrington JC, Datta S, Massel DR, Martell R, Gambhir S, Urbain JL, Vezina WC. Very high coronary artery calcium score with normal myocardial perfusion SPECT imaging is

associated with a moderate incidence of severe coronary artery disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2015;42(10):1542-50.

12. Zoccali C, Bolignano D, D'Arrigo G, Dekker FW, Fliser D, Heine GH, Jager KJ, Kanbay M, Mallamaci F, Massy Z, Ortiz A, Parati G, Rossignol P, Tripepi G, Vanholder R, Wiecek A, London G. Validity of vascular calcification as a screening tool and as a surrogate end point in clinical research. *Hypertension*. 2015;66(1):3-9.

13. Mahabadi AA, Möhlenkamp S, Lehmann N, Kälisch H, Dykun I, Pundt N, Moebus S, Jöckel KH, Erbel R. CAC score improves coronary and CV risk assessment above statin indication by ESC and AHA/ACC primary prevention guidelines. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2017;10(2):143-53.

14. Joshi FR, Rajani NK, Abt M, Woodward M, Bucerius J, Mani V, Tawakol A, Kallend D, Fayad ZA, Rudd JH. Does vascular calcification accelerate inflammation? A substudy of the dal-PLAQUE Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2016;67(1):69-78.

15. Lee DH, Youn HJ, Yi JE, Chin JY, Kim TS, Jung HO, Chang K, Choi YS, Jung JI. Gender difference in bone loss and vascular calcification associated with age. *Korean Circ J*. 2013;43(7):453-61.

16. Biyik Z, Selcuk NY, Tonbul HZ, Anil M, Uyar M. Assessment of abdominal aortic calcification at different stages of chronic kidney disease. *Int Urol Nephrol*. 2016;48(12):2061-8.

17. Nam SH, Kang SG, Song SW. The neutrophil-lymphocyte ratio is associated with coronary artery calcification in asymptomatic Korean males: a cross-sectional study. *Biomed Res Int*. 2017;2017:1989417.

18. Fujimoto S, Kondo T, Kumamaru KK, Shinozaki T, Takamura K, Kawaguchi Y, Matsumori R, Hiki M, Miyauchi K, Daida H, Rybicki FJ. Prognostic value of coronary computed tomography (CT) angiography and coronary artery calcium score performed before revascularization. *J Am Heart Assoc*. 2015;4:e002264.

19. Ix JH, Katz R, Kestenbaum B, Fried LF, Kramer H, Stehman-Breen C, Shlipak MG. Association of mild to moderate kidney dysfunction and coronary calcification. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19(3):579-85.

20. Kestenbaum BR, Adeney KL, Boer IH, Ix JH, Shlipak MG, Siscovick DS. Incidence and progression of coronary calcification in chronic kidney disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Kidney Int*. 2009;76(9):991-8.

21. He J, Reilly M, Yang W, Chen J, Go AS, Lash JP, Rahman M, DeFilippi C, Gadegbeku C, Kanthety R, Tao K, Hamm LL, Ojo A, Townsend R, Budoff M. Risk factors for coronary artery calcium among patients with chronic kidney disease (from the Chronic Renal Insufficiency Cohort Study). *Am J Cardiol*. 2012;110(12):1735-41.

22. Shantouf RS, Budoff MJ, Ahmadi N, Ghaffari A, Flores F, Gopal A, Noori N, Jing J, Kovesdy CP, Kalantar-Zadeh K. Total and individual coronary artery calcium scores as independent predictors of mortality in hemodialysis patients. *Am J Nephrol*. 2010;31(5):419-25.
23. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis*. 1998;32(5 Supl 3):S112-9.
24. Herzog CA, Ma JZ, Collins AJ. Poor long-term survival after acute myocardial infarction among patients on long-term dialysis. *N Engl J Med*. 1998;339(12):799-805.
25. Tonelli M, Wiebe N, Culleton B, House A, Rabbat C, Fok M, McAlister F, Garg AX. Chronic kidney disease and mortality risk: a systematic review. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(7):2034-47.
26. Parfrey PS, Foley RN. The clinical epidemiology of cardiac disease in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol*. 1999;10(7):1606-15.
27. Haydar AA, Hujairi NM, Covic AA, Pereira D, Rubens M, Goldsmith DJ. Coronary artery calcification is related to coronary atherosclerosis in chronic renal disease patients: a study comparing EBCT-generated coronary artery calcium scores and coronary angiography. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(9):2307-12.
28. Fensterseifer DM, Karohl C, Schwartzman P, Costa PA, Veronese FJ. Coronary calcification and its association with mortality in haemodialysis patients. *Nephrology*. 2009;14(2):164-70.
29. Zoccali C, London G. Con: vascular calcification is a surrogate marker, but not the cause of ongoing vascular disease, and it is not a treatment target in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2015;30(3):352-7.
30. Bashir A, Moody WE, Edwards NC, Ferro CJ, Townend JN, Steeds RP. Coronary artery calcium assessment in CKD: utility in cardiovascular disease risk assessment and treatment? *Am J Kidney Dis*. 2015;65(6):937-48.
31. Evrard S, Delanaye P, Kamel S, Cristol JP, Cavalier E. Vascular calcification: from pathophysiology to biomarkers. *Clin Chim Acta*. 2015;438:401-14.
32. Canziani MEF, Moysés RMA. Calcificação vascular na DRC. *J Bras Nefrol*. 2011;33(Supl 1):S26-30.
33. Steitz SA, Speer MY, Curinga G, Yang HY, Haynes P, Aebbersold R, Schinke T, Karsenty G, Giachelli CM. Smooth muscle cell phenotypic transition associated with calcification: upregulation of Cbfa1 and downregulation of smooth muscle lineage markers. *Circ Res*. 2001;89(12):1147-54.

34. Lee KS, Hong SH, Bae SC. Both the Smad and p38 MAPK pathways play a crucial role in Runx2 expression following induction by transforming growth factor- β and bone morphogenetic protein. *Oncogene*. 2002;21(47):7156-63.
35. Hruska KA, Mathew S, Saab G. Bone morphogenetic proteins in vascular calcification. *Circ Res*. 2005;97(2):105-14.
36. Liberman M, Pesaro AEP, Carmo LS, Serrano Jr CV. Calcificação vascular: fisiopatologia e implicações clínicas. *Einstein*. 2013;11(3):376-82.
37. Sage AP, Lu J, Tintut Y, Demer LL. Hyperphosphatemia-induced nanocrystals upregulate the expression of bone morphogenetic protein-2 and osteopontin genes in mouse smooth muscle cells *in vitro*. *Kidney Int*. 2011;79(4):414-22.
38. Hortells L, Sosa C, Guillén N, Lucea S, Millán A, Sorribas V. Identifying early pathogenic events during vascular calcification in uremic rats. *Kidney Int*. 2017;pii:S0085-2538(17)30479-9.
39. Agata U, Park JH, Hattori S, Aikawa Y, Kakutani Y, Ezawa I, Akimoto T, Omi N. The impact of different amounts of calcium intake on bone mass and arterial calcification in ovariectomized rats. *J Nutr Sci Vitaminol*. 2015;61(5):391-9.
40. Sun M, Chang Q, Xin M, Wang Q, Li H, Qian J. Endogenous bone morphogenetic protein 2 plays a role in vascular smooth muscle cell calcification induced by interleukin 6 in vitro. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2017;30(3):227-37.
41. Detrano R, Hsiai T, Wang S, Puentes G, Fallavollita J, Shields P, Stanford W, Wolfkiel C, Georgiou D, Budoff M, Reed J. Prognostic value of coronary calcification and angiographic stenoses in patients undergoing coronary angiography. *J Am Coll Cardiol*. 1996;27(2):285-90.
42. Lomashvili KA, Cobbs S, Hennigar RA, Hardcastle KI, O'Neill WC. Phosphate-induced vascular calcification: role of pyrophosphate and osteopontin. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(6):1392-401.
43. Lemos MM, Jancikic ADB, Sanches FMR, Christofalo DM, Ajzen SA, Miname MH, Santos RD, Fachini FC, Carvalho AB, Draibe SA, Canziani MEF. Pulse wave velocity - a useful tool for cardiovascular surveillance in pre-dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2007; 22(12):3527-32.
44. Hruska KA, Choi ET, Memon I, Davis TK, Mathew S. Cardiovascular risk in chronic kidney disease (CKD): the CKD-mineral bone disorder (CKD-MBD). *Pediatr Nephrol*. 2010;25(4):769-78.

45. Isakova T, Wahl P, Vargas GS, Gutiérrez OM, Scialla J, Xie H, Appleby D, Nessel L, Bellovich K, Chen J, Hamm L, Gadegbeku C, Horwitz E, Townsend RR, Anderson CA, Lash JP, Hsu CY, Leonard MB, Wolf M. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2011;79(12):1370-8.
46. 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(20):1478-83.
47. Raggi P, Boulay A, Chasan-Taber S, Amin N, Dillon M, Burke SK, Chertow GM. Cardiac calcification in adult hemodialysis patients. A link between end-stage renal disease and cardiovascular disease? *J Am Coll Cardiol.* 2002;39(4):695-701.
48. Tomiyama C, Higa A, Dalboni MA, Cendoroglo M, Draibe SA, Cuppari L, Carvalho AB, Montuori Neto E, Canziani MEF. The impact of traditional and non-traditional risk factors on coronary calcification in pre-dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2006;21(9):2464-71.
49. Park KS, Chang JW, Kim TY, Kim HW, Lee EK, Kim HS, Yang WS, Kim SB, Park SK, Lee SK, Park JS. Lower concentrations of serum phosphorus within the normal range could be associated with less calcification of the coronary artery in Koreans with normal renal function. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(6):1465-70.
50. Cancela AL, Santos RD, Titan SM, Goldenstein PT, Rochitte CE, Lemos PA, Reis LM, Gracioli FG, Jorgetti V, Moysés RM. Phosphorus is associated with coronary artery disease in patients with preserved renal function. *PLoS ONE.* 2012;7(5):e36883.
51. Park KS, Park J, Choi SH, Ann SH, Singh GB, Shin ES, Lee JS, Chung HC. Serum phosphorus concentration and coronary artery calcification in subjects without renal dysfunction. *PLoS ONE.* 2016;11(3):e0151007.
52. Reynolds JL, Joannides AJ, Skepper JN, McNair R, Schurgers LJ, Proudfoot D, Jahnen-Dechent W, Weissberg PL, Shanahan CM. Human vascular smooth muscle cells undergo vesicle-mediated calcification in response to changes in extracellular calcium and phosphate concentrations: a potential mechanism for accelerated vascular calcification in ESRD. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15(11):2857-67.
53. El-Abbadi MM, Pai AS, Leaf EM, Yang HY, Bartley BA, Quan KK, Ingalls CM, Liao HW, Giachelli CM. Phosphate feeding induces arterial medial calcification in uremic mice: role of serum phosphorus, fibroblast growth factor-23, and osteopontin. *Kidney Int.* 2009;75(12):1297-307.

54. Giachelli CM, Jono S, Shioi A, Nishizawa Y, Mori K, Morii H. Vascular calcification and inorganic phosphate. *Am J Kidney Dis*. 2001;38(4 Supl 1):S34-7.
55. Chen NX, O'Neill KD, Duan D, Moe SM. Phosphorus and uremic serum up-regulate osteopontin expression in vascular smooth muscle cells. *Kidney Int*. 2002;62(5):1724-31.
56. Jono S, McKee MD, Murry CE, Shioi A, Nishizawa Y, Mori K, Morii H, Giachelli CM. Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification. *Circ Res*. 2000;87(7):e10-7.
57. Villa-Bellosta R, Sorribas V. Phosphonoformic acid prevents vascular smooth muscle cell calcification by inhibiting calcium-phosphate deposition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29(5):761-6.
58. Villa-Bellosta R, Millan A, Sorribas V. Role of calcium-phosphate deposition in vascular smooth muscle cell calcification. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2011;300(1):C210-20.
59. Lau WL, Linnes M, Chu EY, Foster BL, Bartley BA, Somerman MJ, Giachelli CM. High phosphate feeding promotes mineral and bone abnormalities in mice with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28(1):62-9.
60. Phan O, Ivanovski O, Nguyen-Khoa T, Mothu N, Angulo J, Westenfeld R, Ketteler M, Meert N, Maizel J, Nikolov IG, Vanholder R, Lacour B, Drüeke TB, Massy ZA. Sevelamer prevents uremia-enhanced atherosclerosis progression in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*. 2005;112(18):2875-82.
61. Neven E, Dams G, Postnov A, Chen B, De Clerck N, De Broe ME, D'Haese PC, Persy V. Adequate phosphate binding with lanthanum carbonate attenuates arterial calcification in chronic renal failure rats. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(6):1790-9.
62. Nikolov IG, Joki N, Nguyen-Khoa T, Guerrera IC, Maizel J, Benchitrit J, Reis LM, Edelman A, Lacour B, Jorgetti V, Drüeke TB, Massy ZA. Lanthanum carbonate, like sevelamer-HCl, retards the progression of vascular calcification and atherosclerosis in uremic apolipoprotein E-deficient mice. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(2):505-13.
63. Di Iorio B, Bellasi A, Russo D. Mortality in kidney disease patients treated with phosphate binders: a randomized study. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(3):487-93.
64. Prosdocimo DA, Wyler SC, Romani AM, O'Neill WC, Dubyak GR. Regulation of vascular smooth muscle cell calcification by extracellular pyrophosphate homeostasis: synergistic modulation by cyclic AMP and hyperphosphatemia. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2010;298(3):C702-13.

65. Di Marco GS, Hausberg M, Hillebrand U, Rustemeyer P, Wittkowski W, Lang D, Pavenstädt H. Increased inorganic phosphate induces human endothelial cell apoptosis in vitro. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008;294(6):F1381-7.
66. Shuto E, Taketani Y, Tanaka R, Harada N, Isshiki M, Sato M, Nashiki K, Amo K, Yamamoto H, Higashi Y, Nakaya Y, Takeda E. Dietary phosphorus acutely impairs endothelial function. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20(7):1504-12.
67. Shimada T, Mizutani S, Muto T, Yoneya T, Hino R, Takeda S, Takeuchi Y, Fujita T, Fukumoto S, Yamashita T. Cloning and characterization of FGF-23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(11):6500-5.
68. Mirams M, Robinson BG, Mason RS, Nelson AE. Bone as a source of FGF-23: regulation by phosphate? *Bone*. 2004;35(5):1192-9.
69. Gutiérrez OM, Mannstadt M, Isakova T, Rauh-Hain JA, Tamez H, Shah A, Smith K, Lee H, Thadhani R, Jüppner H, Wolf M. Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med*. 2008;359(6):584-92.
70. Isakova T, Xie H, Yang W, Xie D, Anderson AH, Scialla J, Wahl P, Gutiérrez OM, Steigerwalt S, He J, Schwartz S, Lo J, Ojo A, Sondheimer J, Hsu CY, Lash J, Leonard M, Kusek JW, Feldman HI, Wolf M. Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease. *JAMA*. 2011;305(23):2432-9.
71. Wolf M, Molnar MZ, Amaral AP, Czira ME, Rudas A, Ujszaszi A, Kiss I, Rosivall L, Kosa J, Lakatos P, Kovesdy CP, Mucsi I. Elevated fibroblast growth factor 23 is a risk factor for kidney transplant loss and mortality. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(5):956-66.
72. Roos M, Lutz J, Salmhofer H, Lupp A, Knauss A, Braun S, Martinof S, Schömig A, Heemann U, Kastrati A, Hausleiter J. Relation between plasma fibroblast growth factor-23, serum fetuin-A levels and coronary artery calcification evaluated by multislice computed tomography in patients with normal kidney function. *Clin Endocrinol*. 2008;68(4):660-5.
73. Masai H, Joki N, Sugi K, Moroi M. A preliminary study of the potential role of FGF-23 in coronary calcification in patients with suspected coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2013;226(1):228-33.
74. Scialla JJ, Lau WL, Reilly MP, Isakova T, Yang HY, Crouthamel MH, Chavkin NW, Rahman M, Wahl P, Amaral AP, Hamano T, Master SR, Nessel L, Chai B, Xie D, Kallem RR, Chen J, Lash JP, Kusek JW, Budoff MJ, Giachelli CM, Wolf M. Fibroblast growth factor 23 is not associated with and does not induce arterial calcification. *Kidney Int*. 2013;83(6):1159-68.

75. Khan AM, Chirinos JA, Litt H, Yang W, Rosas SE. FGF-23 and the progression of coronary arterial calcification in patients new to dialysis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(12):2017-22.
76. Ozkok A, Kekik C, Karahan GE, Sakaci T, Ozel A, Unsal A, Yildiz A. FGF-23 associated with the progression of coronary artery calcification in hemodialysis patients. *BMC Nephrol*. 2013;14:241.
77. Bai X, Miao D, Li J, Goltzman D, Karaplis AC. Transgenic mice overexpressing human fibroblast growth factor 23 (R176Q) delineate a putative role for parathyroid hormone in renal phosphate wasting disorders. *Endocrinology*. 2004;145(11):5269-79.
78. Larsson T, Marsell R, Schipani E, Ohlsson C, Ljunggren O, Tenenhouse HS, Jüppner H, Jonsson KB. Transgenic mice expressing fibroblast growth factor 23 under the control of the $\alpha 1(I)$ collagen promoter exhibit growth retardation, osteomalacia, and disturbed phosphate homeostasis. *Endocrinology*. 2004;145(7):3087-94.
79. Kurosu H, Kuro-o M. The Klotho gene family as a regulator of endocrine fibroblast growth factors. *Mol Cell Endocrinol*. 2009;299(1):72-8.
80. Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, Iijima K, Hasegawa H, Okawa K, Fujita T, Fukumoto S, Yamashita T. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature*. 2006;444(7120):770-4.
81. Bai XY, Miao D, Goltzman D, Karaplis AC. The autosomal dominant hypophosphatemic rickets R176Q mutation in fibroblast growth factor 23 resists proteolytic cleavage and enhances *in vivo* biological potency. *J Biol Chem*. 2003;278(11):9843-9.
82. Baum M, Schiavi S, Dwarakanath V, Quigley R. Effect of fibroblast growth factor-23 on phosphate transport in proximal tubules. *Kidney Int*. 2005;68(3):1148-53.
83. 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(6):2272-9.
84. Hu MC, Shi M, Zhang J, Quiñones H, Griffith C, Kuro-o M, Moe OW. Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(1):124-36.
85. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, Ohyama Y, Kurabayashi M, Kaname T, Kume E, Iwasaki H, Iida A, Shiraki-Iida T, Nishikawa S, Nagai R, Nabeshima YI. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*. 1997;390(6655):45-51.

86. Chen TH, Kuro-o M, Chen CH, Sue YM, Chen YC, Wu HH, Cheng CY. The secreted Klotho protein restores phosphate retention and suppresses accelerated aging in Klotho mutant mice. *Eur J Pharmacol*. 2013;698(1-3):67-73.
87. Ben-Dov IZ, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V, Goetz R, Kuro-o M, Mohammadi M, Sirkis R, Naveh-Many T, Silver J. The parathyroid is a target organ for FGF-23 in rats. *J Clin Invest*. 2007;117(12):4003-8.
88. American Society for Bone and Mineral Research. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 8.ed. Ames: Wiley-Blackwell; 2013.
89. Malluche HH, Blomquist G, Monier-Faugere MC, Cantor TL, Davenport DL. High parathyroid hormone level and osteoporosis predict progression of coronary artery calcification in patients on dialysis. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26(10):2534-44.
90. Hernandez FR, Canziani ME, Barreto FC, Santos RO, Moreira VM, Rochitte CE, Carvalho AB. The shift from high to low turnover bone disease after parathyroidectomy is associated with the progression of vascular calcification in hemodialysis patients: a 12-month follow-up study. *PLoS ONE*. 2017;12(4):e0174811.
91. Tamagaki K, Yuan Q, Ohkawa H, Imazeki I, Moriguchi Y, Imai N, Sasaki S, Takeda K, Fukagawa M. Severe hyperparathyroidism with bone abnormalities and metastatic calcification in rats with adenine-induced uraemia. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21(3):651-9.
92. Neves KR, Gracioli FG, Reis LM, Gracioli RG, Neves CL, Magalhães AO, Custódio MR, Batista DG, Jorgetti V, Moysés RM. Vascular calcification: contribution of parathyroid hormone in renal failure. *Kidney Int*. 2007;71(12):1262-70.
93. Kawata T, Nagano N, Obi M, Miyata S, Koyama C, Kobayashi N, Wakita S, Wada M. Cinacalcet suppresses calcification of the aorta and heart in uremic rats. *Kidney Int*. 2008;74(10):1270-7.
94. Rashid G, Plotkin E, Klein O, Green J, Bernheim J, Benchetrit S. Parathyroid hormone decreases endothelial osteoprotegerin secretion: role of protein kinase A and C. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2009;296(1):F60-6.
95. Lomashvili K, Garg P, O'Neill WC. Chemical and hormonal determinants of vascular calcification *in vitro*. *Kidney Int*. 2006;69(8):1464-70.
96. Sebastian EM, Suva LJ, Friedman PA. Differential effects of intermittent PTH(1-34) and PTH(7-34) on bone microarchitecture and aortic calcification in experimental renal failure. *Bone*. 2008;43(6):1022-30.

97. Yang H, Curinga G, Giachelli CM. Elevated extracellular calcium levels induce smooth muscle cell matrix mineralization in vitro. *Kidney Int.* 2004;66(6):2293-9.
98. Moe SM, Seifert MF, Chen NX, Sinderson RM, Chen X, Duan D, Henley C, Martin D, Gattone II VH. R-568 reduces ectopic calcification in a rat model of chronic kidney disease-mineral bone disorder (CKD-MBD). *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24(8):2371-7.
99. Martins D, Wolf M, Pan D, Zadshir A, Tareen N, Thadhani R, Felsenfeld A, Levine B, Mehrotra R, Norris K. Prevalence of cardiovascular risk factors and the serum levels of 25-hydroxyvitamin D in the United States: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med.* 2007;167(11):1159-65.
100. Giovannucci E, Liu Y, Hollis BW, Rimm EB. 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study. *Arch Intern Med.* 2008;168(11):1174-80.
101. Kim DH, Sabour S, Sagar UN, Adams S, Whellan DJ. Prevalence of hypovitaminosis D in cardiovascular diseases (from the National Health and Nutrition Examination Survey 2001 to 2004). *Am J Cardiol.* 2008;102(11):1540-4.
102. Barreto DV, Barreto FC, Liabeuf S, Temmar M, Boitte F, Choukroun G, Fournier A, Massy ZA. Vitamin D affects survival independently of vascular calcification in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4(6):1128-35.
103. Luo Q, Wang LL, Gao YH. Association between serum 25-hydroxyvitamin D and arterial stiffness in non-dialysis-dependent CKD. *Eur J Clin Nutr.* 2016;70(2):274-6.
104. Oh TR, Kim CS, Bae EH, Ma SK, Han SH, Sung SA, Lee K, Oh KH, Ahn C, Kim SW. Association between vitamin D deficiency and health-related quality of life in patients with chronic kidney disease from the KNOW-CKD study. *PLoS ONE.* 2017;12(4):e0174282.
105. García-Canton C, Bosch E, Ramírez A, Gonzalez Y, Auyanet I, Guerra R, Perez MA, Fernández E, Toledo A, Lago M, Checa MD. Vascular calcification and 25-hydroxyvitamin D levels in non-dialysis patients with chronic kidney disease stages 4 and 5. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26(7):2250-6.
106. Lee SY, Kim HY, Gu SW, Kim HJ, Yang DH. 25-hydroxyvitamin D levels and vascular calcification in predialysis and dialysis patients with chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res.* 2012;35(5):349-54.
107. Zagura M, Serg M, Kampus P, Zilmer M, Eha J, Unt E, Lieberg J, Cockcroft JR, Kals J. Aortic stiffness and vitamin D are independent markers of

aortic calcification in patients with peripheral arterial disease and in healthy subjects. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2011;42(5):689-95.

108. Kim KJ, Kim KM, Park KH, Choi HS, Rhee Y, Lee YH, Cha BS, Kim MJ, Oh SM, Brown JK, Lim SK. Aortic calcification and bone metabolism: the relationship between aortic calcification, BMD, vertebral fracture, 25-hydroxyvitamin D, and osteocalcin. *Calcif Tissue Int*. 2012;91(6):370-8.

109. Michos ED, Streeten EA, Ryan KA, Rampersaud E, Peyser PA, Bielak LF, Shuldiner AR, Mitchell BD, Post W. Serum 25-hydroxyvitamin d levels are not associated with subclinical vascular disease or C-reactive protein in the Old Order Amish. *Calcif Tissue Int*. 2009;84(3):195-202.

110. Ho JS, Cannaday JJ, Barlow CE, Reinhardt DB, Wade WA, Ellis JR. Low 25-OH vitamin D levels are not associated with coronary artery calcium or obstructive stenoses. *Coron Artery Dis*. 2015;26(6):521-5.

111. Mathew S, Lund RJ, Chaudhary LR, Geurs T, Hruska KA. Vitamin D receptor activators can protect against vascular calcification. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19(8):1509-19.

112. Hirata M, Katsumata K, Endo K, Fukushima N, Ohkawa H, Fukagawa M. In subtotaly nephrectomized rats 22-oxacalcitriol suppresses parathyroid hormone with less risk of cardiovascular calcification or deterioration of residual renal function than 1,25(OH)₂ vitamin D₃. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(9):1770-6.

113. Henley C, Colloton M, Cattley RC, Shatzen E, Towler DA, Lacey D, Martin D. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ but not cinacalcet HCl (Sensipar/Mimpara) treatment mediates aortic calcification in a rat model of secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant*. 2005;20(7):1370-7.

114. Bas A, Lopez I, Perez J, Rodriguez M, Aguilera-Tejero E. Reversibility of calcitriol-induced medial artery calcification in rats with intact renal function. *J Bone Miner Res*. 2006;21(3):484-90.

115. Lopez I, Aguilera-Tejero E, Mendoza FJ, Almaden Y, Perez J, Martin D, Rodriguez M. Calcimimetic R-568 decreases extraosseous calcifications in uremic rats treated with calcitriol. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(3):795-804.

116. Cardús A, Panizo S, Parisi E, Fernandez E, Valdivielso JM. Differential effects of vitamin D analogs on vascular calcification. *J Bone Miner Res*. 2007;22(6):860-6.

117. Mizobuchi M, Finch JL, Martin DR, Slatopolsky E. Differential effects of vitamin D receptor activators on vascular calcification in uremic rats. *Kidney Int*. 2007;72(6):709-15.

118. Zebger-Gong H, Müller D, Diercke M, Haffner D, Hoher B, Verberckmoes S, Schmidt S, D'Haese PC, Querfeld U. 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced aortic calcifications in experimental-uremia: up-regulation of osteoblast markers, calcium-transporting proteins and osterix. *J Hypertens*. 2011;29(2):339-48.
119. Lomashvili KA, Wang X, O'Neill WC. Role of local versus systemic vitamin D receptors in vascular calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(1):146-51.
120. Lopez I, Mendoza FJ, Guerrero F, Almaden Y, Henley C, Aguilera-Tejero E, Rodriguez M. The calcimimetic AMG 641 accelerates regression of extraosseous calcification in uremic rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2009;296(6):F1376-85.
121. Gaudio A, Privitera F, Battaglia K, Torrisi V, Sidoti MH, Pulvirenti I, Canzonieri E, Tringali G, Fiore CE. Sclerostin levels associated with inhibition of the Wnt/ β -catenin signaling and reduced bone turnover in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(10):3744-50.
122. Cejka D, Marculescu R, Kozakowski N, Plischke M, Reiter T, Gessl A, Haas M. Renal elimination of sclerostin increases with declining kidney function. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(1):248-55.
123. Zhu D, Mackenzie NCW, Millán JL, Farguharson C, MacRae VE. The appearance and modulation of osteocyte marker expression during calcification of vascular smooth muscle cells. *PLoS ONE*. 2011;6(5):e19595.
124. Zhou H, Yang M, Li M, Cui L. Radial artery sclerostin expression in chronic kidney disease stage 5 predialysis patients: a cross-sectional observational study. *Int Urol Nephrol*. 2017;49(8):1433-7.
125. Kuipers AL, Miljkovic I, Carr JJ, Terry JG, Nestlerode CS, Ge Y, Bunker CH, Patrick AL, Zmuda JM. Association of circulating sclerostin with vascular calcification in Afro-Caribbean men. *Atherosclerosis*. 2015;239(1):218-23.
126. Morena M, Jaussent I, Dupuy AM, Bargnoux AS, Kuster N, Chenine L, Leray-Moragues H, Klouche K, Vernhet H, Canaud B, Cristol JP. Osteoprotegerin and sclerostin in chronic kidney disease prior to dialysis: potential partners in vascular calcifications. *Nephrol Dial Transplant*. 2015;30(8):1345-56.
127. Qureshi AR, Olauson H, Witasp A, Haarhaus M, Brandenburg V, Wernerson A, Lindholm B, Söderberg M, Wennberg L, Nordfors L, Ripsweden J, Barany P, Stenvinkel P. Increased circulating sclerostin levels in end-stage renal disease predict biopsy-verified vascular medial calcification and coronary artery calcification. *Kidney Int*. 2015;88(6):1356-64.

128. Lv W, Guan L, Zhang Y, Yu S, Cao B, Ji Y. Sclerostin as a new key factor in vascular calcification in chronic kidney disease stages 3 and 4. *Int Urol Nephrol*. 2016;48(12):2043-50.
129. Claes KJ, Viaene L, Heye S, Meijers B, d'Haese P, Evenepoel P. Sclerostin: another vascular calcification inhibitor? *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(8):3221-8.
130. Yang CY, Chang ZF, Chau YP, Chen A, Yang WC, Yang AH, Lee OK. Circulating Wnt/ β -catenin signalling inhibitors and uraemic vascular calcifications. *Nephrol Dial Transplant*. 2015;30(8):1356-63.
131. Lee YT, Ng HY, Chiu TT, Li LC, Pei SN, Kuo WH, Lee CT. Association of bone-derived biomarkers with vascular calcification in chronic hemodialysis patients. *Clin Chim Acta*. 2016;452:38-43.
132. Kanbay M, Solak Y, Siriopol D, Aslan G, Afsar B, Yazici D, Covic A. Sclerostin, cardiovascular disease and mortality: a systematic review and meta-analysis. *Int Urol Nephrol*. 2016;48(12):2029-42.
133. Terkeltaub RA. Inorganic pyrophosphate generation and disposition in pathophysiology. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2001;281(1):C1-11.
134. O'Neill WC, Lomashvili KA, Malluche HH, Faugere MC, Riser BL. Treatment with pyrophosphate inhibits uremic vascular calcification. *Kidney Int*. 2011;79(5):512-7.
135. Villa-Bellosta R, Sorribas V. Calcium phosphate deposition with normal phosphate concentration - role of pyrophosphate. *Circ J*. 2011;75(11):2705-10.
136. Rattazzi M, Bertacco E, Iop L, D'Andrea S, Puato M, Buso G, Causin V, Gerosa G, Faggini E, Pauletto P. Extracellular pyrophosphate is reduced in aortic interstitial valve cells acquiring a calcifying profile: implications for aortic valve calcification. *Atherosclerosis*. 2014;237(2):568-76.
137. Lomashvili KA, Khawandi W, O'Neill WC. Reduced plasma pyrophosphate levels in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(8):2495-500.
138. O'Neill WC, Sigrist MK, McIntyre CW. Plasma pyrophosphate and vascular calcification in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(1):187-91.
139. Kovesdy CP, Ureche V, Lu JL, Kalantar-Zadeh K. Outcome predictability of serum alkaline phosphatase in men with pre-dialysis CKD. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(9):3003-11.
140. Villa-Bellosta R, Wang X, Millán JL, Dubyak GR, O'Neill WC. Extracellular pyrophosphate metabolism and calcification in vascular smooth muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;301(1):H61-8.

141. Villa-Bellosta R, Rivera-Torres J, Osorio FG, Acín-Perez R, Enriquez JA, López-Otín C, Andrés V. Defective extracellular pyrophosphate metabolism promotes vascular calcification in a mouse model of Hutchinson-Gilford progeria syndrome that is ameliorated on pyrophosphate treatment. *Circulation*. 2013;127(24):2442-51.
142. Denecke B, Gräber S, Schäfer C, Heiss A, Wöltje M, Jahnen-Dechent W. Tissue distribution and activity testing suggest a similar but not identical function of fetuin-B and fetuin-A. *Biochem J*. 2003;376(1):135-45.
143. Jahnen-Dechent W, Schäfer C, Heiss A, Grötzinger J. Systemic inhibition of spontaneous calcification by the serum protein α_2 -HS glycoprotein/fetuin. *Z Kardiol*. 2001;90 (Supl 3):III/47-56.
144. Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnen AH, Böhm R, Metzger T, Wanner C, Jahnen-Dechent W, Floege J. Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Lancet*. 2003;361(9360):827-33.
145. Chen HY, Chiu YL, Hsu SP, Pai MF, Yang JY, Peng YS. Relationship between fetuin A, vascular calcification and fracture risk in dialysis patients. *PLoS ONE*. 2016;11(7):e0158789.
146. Schafer C, Heiss A, Schwarz A, Westenfeld R, Ketteler M, Floege J, Muller-Esterl W, Schinke T, Jahnen-Dechent W. The serum protein α_2 -Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. *J Clin Invest*. 2003;112(3):357-66.
147. Dautova Y, Kozlova D, Skepper JN, Epple M, Bootman MD, Proudfoot D. Fetuin-A and albumin alter cytotoxic effects of calcium phosphate nanoparticles on human vascular smooth muscle cells. *PLoS ONE*. 2014;9(5):e97565.
148. Schurgers LJ, Uitto J, Reutelingsperger CP. Vitamin K-dependent carboxylation of matrix Gla-protein: a crucial switch to control ectopic mineralization. *Trends Mol Med*. 2013;19(4):217-26.
149. Luo G, Ducy P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, Karsenty G. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature*. 1997;386(6620):78-81.
150. Jia G, Stormont RM, Gangahar DM, Agrawal DK. Role of matrix Gla protein in angiotensin II-induced exacerbation of vascular calcification. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012;303(5):H523-32.
151. Pi W, Guo X, Su L, Xu W. BMP-2 up-regulates PTEN expression and induces apoptosis of pulmonary artery smooth muscle cells under hypoxia. *PLoS ONE*. 2012;7(5):e35283.

152. Chatrou ML, Winckers K, Hackeng TM, Reutelingsperger CP, Schurgers LJ. Vascular calcification: the price to pay for anticoagulation therapy with vitamin K-antagonists. *Blood Rev.* 2012;26(4):155-66.
153. Holden RM, Morton AR, Garland JS, Pavlov A, Day AG, Booth SL. Vitamins K and D status in stages 3-5 chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(4):590-7.
154. Kaesler N, Magdeleyns E, Herfs M, Schettgen T, Brandenburg V, Fliser D, Vermeer C, Floege J, Schlieper G, Krüger T. Impaired vitamin K recycling in uremia is rescued by vitamin K supplementation. *Kidney Int.* 2014;86(2):286-93.
155. Thamratnopkoon S, Susantitaphong P, Tumkosit M, Katavetin P, Tiranathanagul K, Praditpornsilpa K, Eiam-Ong S. Correlations of plasma desphosphorylated uncarboxylated matrix Gla protein with vascular calcification and vascular stiffness in chronic kidney disease. *Nephron.* 2017;135(3):167-72.
156. Chen NX, Duan D, O'Neill KD, Wolisi GO, Koczman JJ, Laclair R, Moe SM. The mechanisms of uremic serum-induced expression of bone matrix proteins in bovine vascular smooth muscle cells. *Kidney Int.* 2006;70(6):1046-53.
157. Liu Y, Zhang L, Ni Z, Qian J, Fang W. Calcium phosphate crystals from uremic serum promote osteogenic differentiation in human aortic smooth muscle cells. *Calcif Tissue Int.* 2016;99(5):543-55.
158. Rukov JL, Gravesen E, Mace ML, Hofman-Bang J, Vinther J, Andersen CB, Lewin E, Olgaard K. Effect of chronic uremia on the transcriptional profile of the calcified aorta analyzed by RNA sequencing. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2016;310(6):F477-91.
159. Brunet P, Gondouin B, Duval-Sabatier A, Dou L, Cerini C, Dignat-George F, Jourde-Chiche N, Argiles A, Burtley S. Does uremia cause vascular dysfunction? *Kidney Blood Press Res.* 2011;34(4):284-90.
160. Amann K. Media calcification and intima calcification are distinct entities in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3(6):1599-605.
161. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005;352(16):1685-95.
162. Levin A, Li YC. Vitamin D and its analogues: do they protect against cardiovascular disease in patients with kidney disease? *Kidney Int.* 2005;68(5):1973-81.
163. Monnier VM. Intervention against the Maillard reaction in vivo. *Arch Biochem Biophys.* 2003;419(1):1-15.

164. Barbosa JHP, Oliveira SL, Seara LT. O papel dos produtos finais da glicação avançada (AGEs) no desencadeamento das complicações vasculares do diabetes. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2008;52(6):940-50.
165. Tanikawa T, Okada Y, Tanikawa R, Tanaka Y. Advanced glycation end products induce calcification of vascular smooth muscle cells through rage/p38 MAPK. *J Vasc Res.* 2009;46(6):572-80.
166. Suga T, Iso T, Shimizu T, Tanaka T, Yamagishi S, Takeuchi M, Imaizumi T, Kurabayashi M. Activation of receptor for advanced glycation end products induces osteogenic differentiation of vascular smooth muscle cells. *J Atheroscler Thromb.* 2011;18(8):670-83.
167. Richards SA, Muter J, Ritchie P, Lattanzi G, Hutchison CJ. The accumulation of un-repairable DNA damage in laminopathy progeria fibroblasts is caused by ROS generation and is prevented by treatment with N-acetyl cysteine. *Hum Mol Genet.* 2011;20(20):3997-4004.
168. Muteliefu G, Shimizu H, Enomoto A, Nishijima F, Takahashi M, Niwa T. Indoxyl sulfate promotes vascular smooth muscle cell senescence with upregulation of p53, p21, and prelamin A through oxidative stress. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2012;303(2):C126-34.
169. Shanahan CM. Mechanisms of vascular calcification in CKD-evidence for premature ageing? *Nat Rev Nephrol.* 2013;9(11):661-70.
170. Lee SJ, Jung YS, Yoon MH, Kang SM, Oh AY, Lee JH, Jun SY, Woo TG, Chun HY, Kim SK, Chung KJ, Lee HY, Lee K, Jin G, Na MK, Ha NC, Bárcena C, Freije JMP, López-Otín C, Song GY, Park BJ. Interruption of progerin-lamin A/C binding ameliorates Hutchinson-Gilford progeria syndrome phenotype. *J Clin Invest.* 2016;126(10):3879-93.
171. Ragnauth CD, Warren DT, Liu Y, McNair R, Tajsic T, Figg N, Shroff R, Skepper J, Shanahan CM. Prelamin A acts to accelerate smooth muscle cell senescence and is a novel biomarker of human vascular aging. *Circulation.* 2010;121(20):2200-10.
172. Custódio MR, Koike MK, Neves KR, Reis LM, Gracioli FG, Neves CL, Batista DG, Magalhães AO, Hawlitschek P, Oliveira IB, Domingues WV, Moysés RM, Jorgetti V. Parathyroid hormone and phosphorus overload in uremia: impact on cardiovascular system. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27(4):1437-45.
173. Yamada S, Tokumoto M, Tatsumoto N, Tsuruya K, Kitazono T, Ooboshi H. Very low protein diet enhances inflammation, malnutrition, and vascular calcification in uremic rats. *Life Sci.* 2016;146:117-23.
174. Kwak SM, Kim JS, Choi Y, Chang Y, Kwon MJ, Jung JG, Jeong C, Ahn J, Kim HS, Shin H, Ryu S. Dietary intake of calcium and phosphorus and serum

concentration in relation to the risk of coronary artery calcification in asymptomatic adults. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34(8):1763-9.

175. Isakova T, Gutiérrez OM, Smith K, Epstein M, Keating LK, Jüppner H, Wolf M. Pilot study of dietary phosphorus restriction and phosphorus binders to target fibroblast growth factor 23 in patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26(2):584-91.

176. Phillips-Eakley AK, McKenney-Drake ML, Bahls M, Newcomer SC, Radcliffe JS, Wastney ME, Van Alstine WG, Jackson G, Alloosh M, Martin BR, Sturek M, Weaver CM. Effect of high-calcium diet on coronary artery disease in ossabaw miniature swine with metabolic syndrome. *J Am Heart Assoc.* 2015;4(8):e001620.

177. Samelson EJ, Booth SL, Fox CS, Tucker KL, Wang TJ, Hoffmann U, Cupples LA, O'Donnell CJ, Kiel DP. Calcium intake is not associated with increased coronary artery calcification: the Framingham Study. *Am J Clin Nutr.* 2012;96(6):1274-80.

178. Raffield LM, Agarwal S, Cox AJ, Hsu FC, Carr JJ, Freedman BI, Xu J, Bowden DW, Vitolins MZ. Cross-sectional analysis of calcium intake for associations with vascular calcification and mortality in individuals with type 2 diabetes from the Diabetes Heart Study. *Am J Clin Nutr.* 2014;100(4):1029-35.

179. Chertow GM, Burke SK, Raggi P. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2002;62(1):245-52.

180. De Schutter TM, Behets GJ, Geryl H, Peter ME, Steppan S, Gundlach K, Passlick-Deetjen J, D'Haese PC, Neven E. Effect of a magnesium-based phosphate binder on medial calcification in a rat model of uremia. *Kidney Int.* 2013;83(6):1109-17.

181. Zelt JG, McCabe KM, Svajger B, Barron H, Lavery K, Holden RM, Adams MA. Magnesium modifies the impact of calcitriol treatment on vascular calcification in experimental chronic kidney disease. *J Pharmacol Exp Ther.* 2015;355(3):451-62.

182. Lee SY, Hyun YY, Lee KB, Kim H. Low serum magnesium is associated with coronary artery calcification in a Korean population at low risk for cardiovascular disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2015;25(11):1056-61.

183. Hruby A, O'Donnell CJ, Jacques PF, Meigs JB, Hoffmann U, McKeown NM. Magnesium intake is inversely associated with coronary artery calcification: the Framingham Heart Study. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2014;7(1):59-69.

184. ter Braake AD, Shanahan CM, de Baaij JHF. Magnesium counteracts vascular calcification: passive interference or active modulation? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017;37(8):1431-45.

185. Suzuki O, Nakamura M, Miyasaka Y, Kagayama M, Sakurai M. Bone formation on synthetic precursors of hydroxyapatite. *Tohoku J Exp Med*. 1991;164(1):37-50.
186. Altura BM, Altura BT, Carella A, Gebrewold A, Murakawa T, Nishio A. Mg^{2+} - Ca^{2+} interaction in contractility of vascular smooth muscle: Mg^{2+} versus organic calcium channel blockers on myogenic tone and agonist-induced responsiveness of blood vessels. *Can J Physiol Pharmacol*. 1987;65(4):729-45.
187. Pasch A, Farese S, Gräber S, Wald J, Richter W, Floege J, Jahnke-Dechent W. Nanoparticle-based test measures overall propensity for calcification in serum. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(10):1744-52.
188. Apfelbaum F, Mayer I, Rey C, Lebugle A. Magnesium in maturing synthetic apatite: a Fourier transform infrared analysis. *J Cryst Growth*. 1994;144(3-4):304-10.
189. Salem S, Bruck H, Bahlmann FH, Peter M, Passlick-Deetjen J, Kretschmer A, Steppan S, Volsek M, Kribben A, Nierhaus M, Jankowski V, Zidek W, Jankowski J. Relationship between magnesium and clinical biomarkers on inhibition of vascular calcification. *Am J Nephrol*. 2012;35(1):31-9.
190. Bai Y, Zhang J, Xu J, Cui L, Zhang H, Zhang S, Feng X. Magnesium prevents β -glycerophosphate-induced calcification in rat aortic vascular smooth muscle cells. *Biomed Rep*. 2015;3(4):593-7.
191. Kircelli F, Peter ME, Ok ES, Celenk FG, Yilmaz M, Steppan S, Asci G, Ok E, Passlick-Deetjen J. Magnesium reduces calcification in bovine vascular smooth muscle cells in a dose-dependent manner. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(2):514-21.
192. Louvet L, Büchel J, Steppan S, Passlick-Deetjen J, Massy ZA. Magnesium prevents phosphate-induced calcification in human aortic vascular smooth muscle cells. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28(4):869-78.
193. Montes de Oca A, Guerrero F, Martinez-Moreno JM, Madueño JA, Herencia C, Peralta A, Almaden Y, Lopez I, Aguilera-Tejero E, Gundlach K, Büchel J, Peter ME, Passlick-Deetjen J, Rodriguez M, Muñoz-Castañeda JR. Magnesium inhibits Wnt/ β -catenin activity and reverses the osteogenic transformation of vascular smooth muscle cells. *PLoS ONE*. 2014;9(2):e89525.
194. Xu J, Bai Y, Jin J, Zhang J, Zhang S, Cui L, Zhang H. Magnesium modulates the expression levels of calcification-associated factors to inhibit calcification in a time-dependent manner. *Exp Ther Med*. 2015;9(3):1028-34.
195. Zaragatski E, Grommes J, Schurgers LJ, Langer S, Kennes L, Tamm M, Koeppel TA, Kranz J, Hackhofer T, Arakelyan K, Jacobs MJ, Kokozidou M. Vitamin K antagonism aggravates chronic kidney disease-induced neointimal

hyperplasia and calcification in arterialized veins: role of vitamin K treatment? *Kidney Int.* 2016;89(3):601-11.

196. Scheiber D, Veulemans V, Horn P, Chatrou ML, Potthoff SA, Kelm M, Schurgers LJ, Westenfeld R. High-dose menaquinone-7 supplementation reduces cardiovascular calcification in a murine model of extrasosseous calcification. *Nutrients.* 2015;7(8):6991-7011.

197. Geleijnse JM, Vermeer C, Grobbee DE, Schurgers LJ, Knapen MHJ, van der Meer IM, Hofman A, Witteman JCM. Dietary intake of menaquinone is associated with a reduced risk of coronary heart disease: the Rotterdam Study. *J Nutr.* 2004;134(11):3100-5.

198. Beulens JW, Bots ML, Atsma F, Bartelink ML, Prokop M, Geleijnse JM, Witteman JC, Grobbee DE, van der Schouw YT. High dietary menaquinone intake is associated with reduced coronary calcification. *Atherosclerosis.* 2009;203(2):489-93.

199. Kurnatowska I, Grzelak P, Masajtis-Zagajewska A, Kaczmarek M, Stefańczyk L, Vermeer C, Maresz K, Nowicki M. Effect of vitamin K2 on progression of atherosclerosis and vascular calcification in nondialyzed patients with chronic kidney disease stages 3-5. *Pol Arch Med Wewn.* 2015;125(9):631-40.

200. Murshed M, Schinke T, McKee MD, Karsenty G. Extracellular matrix mineralization is regulated locally; different roles of two gla-containing proteins. *J Cell Biol.* 2004;165(5):625-30.

201. Schurgers LJ, Spronk HM, Soute BA, Schiffrin PM, DeMey JG, Vermeer C. Regression of warfarin-induced medial elastocalcinosis by high intake of vitamin K in rats. *Blood.* 2007;109(7):2823-31.

202. Schurgers LJ, Joosen IA, Laufer EM, Chatrou ML, Herfs M, Winkens MH, Westenfeld R, Veulemans V, Krueger T, Shanahan CM, Jahnen-Dechent W, Biessen E, Narula J, Vermeer C, Hofstra L, Reutelingsperger CP. Vitamin K-antagonists accelerate atherosclerotic calcification and induce a vulnerable plaque phenotype. *PLoS ONE.* 2012;7(8):e43229.

203. Krüger T, Oelenberg S, Kaesler N, Schurgers LJ, van de Sandt AM, Boor P, Schlieper G, Brandenburg VM, Fekete BC, Veulemans V, Ketteler M, Vermeer C, Jahnen-Dechent W, Floege J, Westenfeld R. Warfarin induces cardiovascular damage in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(11):2618-24.

204. Viegas CS, Simes DC, Laizé V, Williamson MK, Price PA, Cancela ML. Gla-rich protein (GRP), a new vitamin K-dependent protein identified from sturgeon cartilage and highly conserved in vertebrates. *J Biol Chem.* 2008;285(52):36655-64.

205. Son BK, Kozaki K, Iijima K, Eto M, Kojima T, Ota H, Senda Y, Maemura K, Nakano T, Akishita M, Ouchi Y. Statins protect human aortic smooth muscle cells from inorganic phosphate-induced calcification by restoring Gas6-Axl survival pathway. *Circ Res*. 2006;98(8):1024-31.
206. Choi Y, Chang Y, Ryu S, Cho J, Kim MK, Ahn Y, Lee JE, Sung E, Kim B, Ahn J, Kim CW, Rampal S, Zhao D, Zhang Y, Pastor-Barriuso R, Lima JA, Chung EC, Shin H, Guallar E. Relation of dietary glycemic index and glycemic load to coronary artery calcium in asymptomatic Korean adults. *Am J Cardiol*. 2015;116(4):520-6.
207. Chun S, Choi Y, Chang Y, Cho J, Zhang Y, Rampal S, Zhao D, Ahn J, Suh BS, Pastor-Barriuso R, Lima JA, Chung EC, Shin H, Guallar E, Ryu S. Sugar-sweetened carbonated beverage consumption and coronary artery calcification in asymptomatic men and women. *Am Heart J*. 2016;177:17-24.
208. Choi Y, Chang Y, Lee JE, Chun S, Cho J, Sung E, Suh BS, Rampal S, Zhao D, Zhang Y, Pastor-Barriuso R, Lima JA, Shin H, Ryu S, Guallar E. Egg consumption and coronary artery calcification in asymptomatic men and women. *Atherosclerosis*. 2015;241(2):305-12.
209. Shang X, Sanders KM, Scott D, Khan B, Hodge A, Khan N, English DR, Giles GG, Ebeling PR. Dietary α -linolenic acid and total ω -3 fatty acids are inversely associated with abdominal aortic calcification in older women, but not in older men. *J Nutr*. 2015;145(8):1778-86.
210. Miedema MD, Petrone A, Shikany JM, Greenland P, Lewis CE, Pletcher MJ, Gaziano JM, Djousse L. Association of fruit and vegetable consumption during early adulthood with the prevalence of coronary artery calcium after 20 years of follow-up: the CARDIA Study. *Circulation*. 2015;132(21):1990-8.
211. Miller PE, Zhao D, Frazier-Wood AC, Michos ED, Averill M, Sandfort V, Burke GL, Polak JF, Lima JA, Post WS, Blumenthal RS, Guallar E, Martin SS. Associations of coffee, tea, and caffeine intake with coronary artery calcification and cardiovascular events. *Am J Med*. 2017;130(2):188-197.
212. Domingos MAM, Goulart AC, Lotufo PA, Benseñor IJM, Titan SMO. Chronic kidney disease - determinants of progression and cardiovascular risk. PROGREDIR cohort study: design and methods. *São Paulo Med J*. 2017;135(2):133-9.
213. Keys A, Fidanza F, Karvonen MJ, Kimura N, Taylor HL. Indices of relative weight and obesity. *Int J Epidemiol*. 2014;43(3):655-65.
214. National Institutes of Health. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults - the evidence report. *Obes Res*. 1998;6(Supl 2):51S-209.

215. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18(6):499-502.
216. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro III AF, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009;150(9):604-12.
217. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. *Resolução nº 196*, de 10 de outubro de 1996. Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.
218. Molina MCB, Benseñor IM, Cardoso LO, Velasquez-Melendez G, Drehmer M, Pereira TSS, Faria CP, Melere C, Manato L, Gomes ALC, Fonseca MJM, Sichieri R. Reprodutibilidade e validade relativa do Questionário de Frequência Alimentar do ELSA-Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2013;29(2):379-89.
219. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service. *USDA Food Composition Databases*. 2016. Acesso em 2016 mai 17. Disponível em: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/>.
220. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação, Universidade Estadual de Campinas. *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos*. 4.ed. Campinas: NEPA-UNICAMP; 2011.
221. Willett W, Stampfer MJ. Total energy intake: implications for epidemiologic analyses. *Am J Epidemiol*. 1986;124(1):17-27.
222. Willett WC. *Nutritional epidemiology*. 2.ed. New York: Oxford University Press; 1998.
223. Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte Jr M, Detrano R. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *J Am Coll Cardiol*. 1990;15(4):827-32.
224. Mark DB, Berman DS, Budoff MJ, Carr JJ, Gerber TC, Hecht HS, Hlatky MA, Hodgson JM, Lauer MS, Miller JM, Morin RL, Mukherjee D, Poon M, Rubin GD, Schwartz RS. ACCF/ACR/AHA/NASCI/SAIP/SCAI/SCCT 2010 Expert Consensus Document on Coronary Computed Tomographic Angiography. A report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Expert Consensus Documents. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(23):2663-99.
225. Bolker BM, Brooks ME, Clark CJ, Geange SW, Poulsen JR, Stevens MH, White JS. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends Ecol Evol*. 2009;24(3):127-35.
226. Næs T, Mevik BH. Understanding the collinearity problem in regression and discriminant analysis. *J Chemometrics*. 2001;15(4):413-26.

227. Tibshirani R. Regression shrinkage and selection via the lasso. *J R Stat Soc Series B Stat Methodol.* 1996;58(1):267-88.
228. Zhang J, Cavallari JM, Fang SC, Weisskopf MG, Lin X, Mittleman MA, Christiani DC. Application of linear mixed-effects model with LASSO to identify metal components associated with cardiac autonomic responses among welders: a repeated measures study. *Occup Environ Med.* 2017;pii:oemed-2016-104067.
229. Kopple JD. Nutritional management of nondialyzed patients with chronic renal failure. In: Kopple JD, Massry SG. *Nutritional management of renal disease*. 2.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p.379-414.
230. Reed D, McGee D, Yano K, Hankin J. Diet, blood pressure, and multicollinearity. *Hypertension.* 1985;7(3):405-10.
231. Reedy J, Krebs-Smith SM, Hammond RA, Hennessy E. Advancing the science of dietary patterns research to leverage a complex systems approach. *J Acad Nutr Diet.* 2017;117(7):1019-22.
232. Jolliffe IT, Cadima J. Principal component analysis: a review and recent developments. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci.* 2016;374(2065):20150202.
233. Navarro Silvera SA, Mayne ST, Risch HA, Gammon MD, Vaughan T, Chow WH, Dubin JA, Dubrow R, Schoenberg J, Stanford JL, West AB, Rotterdam H, Blot WJ. Principal component analysis of dietary and lifestyle patterns in relation to risk of subtypes of esophageal and gastric cancer. *Ann Epidemiol.* 2011;21(7):543-50.
234. Batis C, Mendez MA, Gordon-Larsen P, Sotres-Alvarez D, Adair L, Popkin B. Using both principal component analysis and reduced rank regression to study dietary patterns and diabetes in Chinese adults. *Public Health Nutr.* 2016;19(2):195-203.
235. Thorpe MG, Milte CM, Crawford D, McNaughton SA. A comparison of the dietary patterns derived by principal component analysis and cluster analysis in older Australians. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2016;13:30.
236. Calvo MS, Uribarri J. Public health impact of dietary phosphorus excess on bone and cardiovascular health in the general population. *Am J Clin Nutr.* 2013;98(1):6-15.
237. Buades Fuster JM, Sanchís Cortés P, Perelló Bestard J, Grases Freixedas F. Fosfatos de origen vegetal, fitato y calcificaciones patológicas en la enfermedad renal crónica. *Nefrología.* 2017;37(1):20-8.
238. Sullivan CM, Leon JB, Sehgal AR. Phosphorus-containing food additives and the accuracy of nutrient databases: implications for renal patients. *J Ren Nutr.* 2007;17(5):350-4.

239. Kalantar-Zadeh K, Gutekunst L, Mehrotra R, Kovesdy CP, Bross R, Shinaberger CS, Noori N, Hirschberg R, Benner D, Nissenson AR, Kopple JD. Understanding sources of dietary phosphorus in the treatment of patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(3):519-30.
240. McCarty MF, DiNicolantonio JJ. Bioavailable dietary phosphate, a mediator of cardiovascular disease, may be decreased with plant-based diets, phosphate binders, niacin, and avoidance of phosphate additives. *Nutrition*. 2014;30(7-8):739-47.
241. Russo D, Miranda I, Ruocco C, Battaglia Y, Buonanno E, Manzi S, Russo L, Scafarto A, Andreucci VE. The progression of coronary artery calcification in predialysis patients on calcium carbonate or sevelamer. *Kidney Int*. 2007;72(10):1255-61.
242. Ohtake T, Kobayashi S, Oka M, Furuya R, Iwagami M, Tsutsumi D, Mochida Y, Maesato K, Ishioka K, Moriya H, Hidaka S. Lanthanum carbonate delays progression of coronary artery calcification compared with calcium-based phosphate binders in patients on hemodialysis: a pilot study. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2013;18(5):439-46.
243. National Kidney Foundation. Clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. *Am J Kidney Dis*. 2000;35(6 Supl 2):S1-140.
244. Moe SM. Calcium as a cardiovascular toxin in CKD-MBD. *Bone*. 2017;100:94-9.
245. Spiegel DM, Brady K. Calcium balance in normal individuals and in patients with chronic kidney disease on low- and high-calcium diets. *Kidney Int*. 2012;81(11):1116-22.
246. Coyne D, Acharya M, Qiu P, Abboud H, Batlle D, Rosansky S, Fadem S, Levine B, Williams L, Andress DL, Sprague SM. Paricalcitol capsule for the treatment of secondary hyperparathyroidism in stages 3 and 4 CKD. *Am J Kidney Dis*. 2006;47(2):263-76.
247. Oliveira RB, Cancela ALE, Graciolli FG, Reis LM, Draibe AS, Cuppari L, Carvalho AB, Jorgetti V, Canziani ME, Moysés RMA. Early control of PTH and FGF23 in normophosphatemic CKD patients: a new target in CKD-MBD therapy? *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(2):286-91.
248. Hill KM, Martin BR, Wastney ME, McCabe GP, Moe SM, Weaver CM, Peacock M. Oral calcium carbonate affects calcium but not phosphorus balance in stage 3-4 chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2013;83(5):959-66.
249. Gallant KMH, Spiegel DM. Calcium balance in chronic kidney disease. *Curr Osteoporos Rep*. 2017;15(3):214-21.

250. Seok JH, Kim JB, Hong JH, Hur GM, Jeon JR, Lim K, Hwang BD, Lee JH. Aldosterone stimulates Na,K-ATPase activity in basolateral membrane of rat kidney. *Biochem Mol Biol Int*. 1998;45(5):879-85.
251. Wu SY, Yu YR, Cai Y, Jia LX, Wang X, Xiao CS, Tang CS, Qi YF. Endogenous aldosterone is involved in vascular calcification in rat. *Exp Biol Med*. 2012;237(1):31-7.
252. Lang F, Ritz E, Voelkl J, Alesutan I. Vascular calcification - is aldosterone a culprit? *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28(5):1080-4.
253. Gutiérrez OM, Muntner P, Rizk DV, McClellan WM, Warnock DG, Newby PK, Judd SE. Dietary patterns and risk of death and progression to ESRD in individuals with CKD: a cohort study. *Am J Kidney Dis*. 2014;64(2):204-13.
254. Shea MK, O'Donnell CJ, Hoffmann U, Dallal GE, Dawson-Hughes B, Ordovas JM, Price PA, Williamson MK, Booth SL. Vitamin K supplementation and progression of coronary artery calcium in older men and women. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(6):1799-807.
255. Fisberg RM, Marchioni DML, Colucci ACA. Avaliação do consumo alimentar e da ingestão de nutrientes na prática clínica. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2009;53(5):617-24.
256. Shim JS, Oh K, Kim HC. Dietary assessment methods in epidemiologic studies. *Epidemiol Health*. 2014;36:e2014009.