

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO

JOSIANE SILVEIRA DE FREITAS

**PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E MORTALIDADE EM PACIENTES COM
DOENÇA RENAL CRÔNICA**

Pelotas
2019

JOSIANE SILVEIRA DA SILVA DE FREITAS

**PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E MORTALIDADE EM PACIENTES COM DOENÇA
RENAL CRÔNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e comportamento da Universidade Católica de Pelotas como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Saúde e Comportamento.

Orientador: Prof. Dr. Jean Pierre Oses

Pelotas
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

F866p Freitas, Josiane Silveira da Silva de
Parâmetros bioquímicos e mortalidade em pacientes com doença renal crônica. / Josiane Silveira da Silva de Freitas. – Pelotas: UCPEL, 2019.

37 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Católica de Pelotas, Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento, Pelotas, BR-RS, 2019.
Orientador: Jean Pierre Oses.

1. end-stage renal disesase. 2. mortality. 3. hemodialysis. 4. biomarkers. 5. creatinine. I. Oses, Jean Pierre, or. II. Título.

CDD 616

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO

JOSIANE SILVEIRA DE FREITAS

**PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E MORTALIDADE EM PACIENTES COM
DOENÇA RENAL CRÔNICA**

Aprovado em: ____ de _____ de _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Fernanda Pedrotti Moreira

Prof. Dra. Amanda Neumann Reyes

Orientador Prof. Dr. Jean Pierre Oses

Pelotas, 28 de fevereiro de 2019.

Dedicatória

Dedico, com muito amor e gratidão à minha mãe, Iolanda, que não mediu esforços para me ajudar nessa trajetória.

Ao meu marido, Eder, pelo incentivo e apoio.

E a minha filha, Antônia, que é a Luz da minha vida.

Resumo

A Doença Renal Crônica (DRC) ocorre quando a função renal fica prejudicada. É definida como DRC um decréscimo persistente na taxa de filtração glomerular (TFG) estimada, menor que 60 ml / min / 1,73m² e albuminúria \geq 300mg em 24 horas, sendo esses indicadores considerados preditores independentes de mortalidade. Em estágios mais avançados, na Doença Renal terminal (DRT) há necessidade de terapia de substituição renal (TSR), a mais utilizada é a hemodiálise, que é um processo de filtração e purificação do sangue. Para avaliar a função renal, durante a hemodiálise, dispomos de biomarcadores, onde os mais utilizados são: creatinina, proteinúria, albuminúria e TFG. No entanto, como dados entre perfil bioquímico e mortalidade são limitados e contraditórios, o objetivo do presente estudo foi comparar marcadores bioquímicos de diálise e correlacionar com a mortalidade em pacientes com doença renal terminal de um serviço público de nefrologia.

Palavras-chave: Ureia, albumina, hematócrito, doença renal terminal, mortalidade, hemodiálise, cálcio, potássio.

Abstract

Chronic kidney disease (CKD) occurs when renal function is impaired. CKD is defined as a persistent decrease in the estimated glomerular filtration rate (GFR) of less than 60 ml/min / 1.73m² and albuminuria \geq 300mg in 24 hours. These indicators are considered independent predictors of mortality. In more advanced stages of end-stage renal disease (ESRD), there is a need for renal replacement therapy (SRT), where is the most commonly used technique is hemodialysis. To assess renal function, we have biomarkers, as creatinine, proteinuria, albuminuria, cystatin C, and GFR. The data between the biochemical profile and mortality are limited and contradictory. Thus, the aim of the present study was to compare biochemical dialysis markers and to correlate with mortality in patients with ESRD from a public nephrology service.

Keywords: Urea, albumin, hematocrit, end-stage renal disease, mortality, hemodialysis, calcium, potassium.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 OBJETIVO GERAL	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3. HIPÓTESES.....	4
4. JUSTIFICATIVA	5
5. REFERENCIAL TEÓRICO	6
5.1 ESTRATÉGIA DE BUSCA	6
5.2. DESCRIÇÃO DOS ACHADOS	6
6. METODOLOGIA.....	12
6.1 DELINEAMENTO	12
6.2 POPULAÇÃO ALVO	12
6.3 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	12
6.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	12
6.5 AMOSTRA: TAMANHO E TIPO	12
6.6 INSTRUMENTOS E VARIÁVEIS	13
6.7 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	13
6.8 ANÁLISE DE DADOS	13
6.9 DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS	14
6.10 ASPECTOS ÉTICOS	14
7. ORÇAMENTO	15
8. CRONOGRAMA	16
REFERÊNCIAS.....	17
CARTA JUSTIFICATIVA	20
RESEARCH ARTICLE	21
<i>BIOCHEMICAL PARAMETERS AND MORTALITY IN END-STAGE RENAL DISEASE PATIENTS</i>	21

1. Introdução

A doença renal crônica (DRC) é caracterizada pela perda progressiva, irreversível e multifatorial da função renal, fazendo o organismo perder a capacidade de manter os equilíbrios metabólicos e hidro- eletrolíticos (KDIGO, 2013). É um grave problema de saúde pública em todo o mundo, por ter alto índice de mortalidade, principalmente por complicações cardiovasculares. A DRC pode ser detectada com testes laboratoriais de rotina e alguns tratamentos podem prevenir o desenvolvimento e retardar a progressão da doença, reduzir complicações da diminuição da TFG e risco de doença cardiovascular, e melhorar a sobrevivência e a qualidade de vida (LEVEY et al., 2012).

Quando os rins perdem sua capacidade de depuração, a hemodiálise (HD) aparece como uma alternativa importante na expectativa de melhorar a sobrevida dos pacientes em tratamento. A HD permite substituir a função renal do paciente, mimetizando os processos de filtração e eliminação de produtos tóxicos, bem como o excesso de água do organismo. Para isso, uma membrana artificial é o elemento principal de um dispositivo designado dialisador, popularmente conhecido como “rim artificial” (PECOIT-FILHO et al., 2002).

A maioria dos pacientes iniciam em HD com algum grau de função renal residual (FRR), que é a capacidade remanescente dos rins de remover toxinas e fluidos extras do corpo em HD. (STENVINKEL et al, 1999). Os benefícios da FRR estão relacionados ao controle aprimorado do volume dos minerais e eletrólitos; menos inflamação e maior depuração de solutos e moléculas médias ligadas a proteínas. A HD é usada apenas intermitentemente, enquanto a função renal nativa é contínua. Por esta razão, mesmo uma pequena quantidade de função residual reduz no plasma níveis de solutos eliminados na HD, como proteínas de baixo peso molecular (MATHEW et al., 2016).

Muitos pacientes tratados com HD estão sujeitos a medicamentos potencialmente nefrotóxicos e procedimentos, como o contraste intravenoso, corante para delinear a anatomia do acesso arteriovenoso, ultrafiltração agressiva para diminuir volume intravascular, ou o uso de antibióticos paratratar infecções de acesso. A manutenção da FRR é influente na determinação de resultados, sendo assim, terapias que teoricamente preservam a FRR deveriam ser usadas com efeito em indivíduos com DRC (SHEMIN et al., 2001).

A perda de FRR é predominantemente determinada pela doença renal (DR) primária e pela co-morbidade do paciente. No entanto, hipovolemia e episódios repetitivos de hipotensão estão associados a uma perda de FRR mais rápida e, como tal, a diálise incremental pode ajudar a preservar a FRR. Como a dosagem de diálise não é simplesmente

uma questão de depuração de soluto pequeno, a diálise também deve ser prescrita para alcançar o controle de volume e manter o equilíbrio de base de eletrólito e ácido (DAVENPORT, 2015).

Outros motivos para o declínio da FRR são a modalidade de diálise (Hemodiálise ou Diálise Peritoneal), processos inflamatórios frequentemente associados a doenças como Diabetes Mellitus e obesidade, alteração no volume ou deficiência de vitamina D (PATEL; HU, 2014). Nos últimos anos a inflamação desempenha um papel importante na DRC, principalmente aos que estão sob terapêutica substitutiva de função renal. A inflamação associa-se a deterioração da função renal sugerindo a inflamação como um fator de risco da progressão da doença (NEVES, 2004). Esse estado inflamatório crônico nos pacientes em HD pode ser atribuído a constante ativação dos monócitos e neutrófilos circulantes durante a passagem do sangue no circuito de diálise, transferência de endotoxinas da membrana do capilar de diálise para o sangue durante as sessões, ativação de citocinas inflamatórias e pró-inflamatórias e, principalmente, alterações endoteliais. Células endoteliais são ativadas com expressão de moléculas de adesão celular que se ligam aos leucócitos e migram para os tecidos inflamados (ALVES; TEIXEIRA; DE MARTINO, 2010).

Evidências sugerem que a inflamação persistente começa no início da DRC; estudos relatam que a DRC está relacionada a um aumento nos níveis de Proteína C Reativa (PCR), mesmo entre os pacientes com DRC moderada (STENVINKEL, 2006). A maioria dos estudos publicados mostra uma alta correlação entre PCR circulante e citocinas pró-inflamatórias, especialmente IL-6. Além disso, as mesmas causas de inflamação atribuídas no caso de doença renal crônica terminal (DRCT) também podem ser responsáveis pelos altos níveis de PCR, sugerindo que a uremia pode contribuir para a resposta inflamatória, embora o mecanismo exato não esteja claro (LIEM et al., 2007).

Assim, a avaliação dos níveis de biomarcadores inflamatórios em pacientes com FRR e que estejam em HD torna-se interessante para um possível acompanhamento da degeneração renal em pacientes com DRCT. Dessa forma, o objetivo do presente projeto é avaliar através da FRR de pacientes com DRCT em HD os níveis de marcadores inflamatórios circulantes, para assim, melhorar a qualidade e sobrevida desses pacientes.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Avaliar diferentes biomarcadores inflamatórios em pacientes submetidos a hemodiálise e que apresentam Função Renal Residual.

2.2 Objetivos específicos

Comparar os níveis de Interleucina-1 beta (IL-1 β) em pacientes que realizam hemodiálise e possuem função renal residual com os pacientes que realizam hemodiálise e não possuem função renal residual;

Comparar os níveis de Interleucina-6 (IL-6) em pacientes que realizam hemodiálise e possuem função renal residual com os pacientes que realizam hemodiálise e não possuem função renal residual;

Comparar os níveis de TNF- α (Fator de Necrose Tumoral alfa) em pacientes que realizam hemodiálise e possuem função renal residual com os pacientes que realizam hemodiálise e não possuem função renal residual.

3. Hipóteses

Os níveis de IL-1 β circulante, em pacientes que realizam hemodiálise e possuem função renal residual, serão menores do que os pacientes que realizam hemodiálise e não apresentam função renal residual;

Os níveis de IL-6 circulante, em pacientes que realizam hemodiálise e possuem função renal residual, serão menores do que os pacientes que realizam hemodiálise e não apresentam função renal residual;

Os níveis de TNF-alfa circulante, em pacientes que realizam hemodiálise e possuem função renal residual, serão menores do que os pacientes que realizam hemodiálise e não apresentam função renal residual.

4. Justificativa

A maioria dos pacientes iniciam a hemodiálise com algum grau de função renal residual. Sua preservação está fortemente associada à sobrevivência e qualidade de vida do paciente, entretanto, dados a respeito dos níveis de citocinas inflamatórias nesses pacientes em hemodiálise com função renal residual não estão bem descritos na literatura.

5. Referencial teórico

5.1 Estratégia de busca

A revisão da literatura foi realizada principalmente no *Pubmed* utilizando como filtro estudos com humanos, sem restrição por ano e linguagem. Os descritores utilizados estão descritos abaixo juntamente com o número de artigos encontrados de acordo com cada descritor.

Residual renal function - 1657

End stage renal disease AND residual renal function – 1530

End stage renal disease AND hemodialysis – 59553

End stage renal disease AND inflammatory markers – 886

End stage renal disease AND residual renal function AND interleukin 1 – 5

End stage renal disease AND residual renal function AND interleukin 6 – 21

End stage renal disease AND residual renal function AND Tumor necrosis factor -15

Com a combinação destes descritores, foram utilizados 36 artigos de acordo com a adequação do tema avaliado pela leitura do resumo.

5.2. Descrição dos achados

O modelo conceitual de doença renal crônica (DRC) atualmente em uso foi primeiro detalhado pelas diretrizes da *National Kidney Foundation's Kidney Disease Quality Outcome Initiative* (NKF-KDOQI) em 2002 e posteriormente revisado e adotado pelo consenso internacional de *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO) em 2005. A DRC é um termo geral para transtornos heterogêneos que afetam a estrutura e a função do rim (GLASSOCK; WINEARLS, 2008). As diretrizes de 2002 para a definição e classificação desta doença representaram uma importante mudança para o seu reconhecimento como um problema mundial de saúde pública que deve ser administrado em seus estágios iniciais por internistas gerais. A doença é classificada de acordo com os estágios da gravidade da doença, que são avaliados a partir da taxa de filtração glomerular (GFR), albuminúria, e diagnóstico clínico (causa e patologia).

A *National Kidney Foundation* (NKF), em seu documento *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (K / D O Q I), definiu a DRCT baseada nos seguintes critérios (BOLOGA et al., 1998):

- Lesão presente por um período igual ou superior a 3 meses, definida por anormalidades estruturais ou funcionais do rim, com ou sem diminuição da Taxa de Filtração Glomerular (TFG), manifestada por anormalidades patológicas ou marcadores de lesão renal, incluindo alterações sanguíneas ou urinárias, ou nos exames de imagem;
- TFG < 60mL/min/1,73 m² por um período de 3 meses, com ou sem lesão renal.

Baseado nesta definição, o grupo de trabalho que desenvolveu o K/DOQI propôs a seguinte classificação para a DRC:

- Estágio I - Lesão Renal com TFG normal ou aumentada
<90 TFG (mL/min/1,73m²)
- Estágio II – Lesão Renal com leve diminuição do TFG
60-89 TFG (mL/min/1,73m²)
- Estágio III – Lesão Renal com moderada diminuição do TFG
30-59 TFG (mL/min/1,73m²)
- Estágio IV – Lesão Renal com acentuada diminuição do TFG
15-29 TFG (mL/min/1,73m²)
- Estágio V – Falência Renal Funcional (FRF)
< 15 TFG (mL/min/1,73m²)

O principal objetivo da HD é restaurar o ambiente fluido intracelular e extracelular que é característico da função renal normal. Para isso, a concentração, solução e o peso molecular são os principais determinantes das taxas de difusão, em que pequenas moléculas, como uréia, difundem-se rapidamente do sangue para o dialisato. Além da difusão, os solutos podem passar por poros na membrana por meio de um processo convectivo conduzido por gradientes de pressão hidrostática ou osmótica - um processo chamado ultrafiltração (LOCATELLI; MANZONI; DI FILIPPO, 2002). Para cada sessão de diálise, o estado fisiológico do paciente deve ser avaliado de modo que a receita de diálise possa ser alinhada com as metas da sessão, para atingir as taxas desejadas e a quantidade total de remoção de soluto e fluido. Ao substituir a função excretora do rim, a diálise destina-se a eliminar o complexo sintoma conhecido como síndrome urêmica. (MEYER; HOSTETTER, 2007).

A doença renal crônica (DRC) é irreversível, mas para vários pacientes, especialmente os que se encontram nos primeiros estágios da doença, pode ser possível impedir seu progresso e preservar a FRR, o que pode conferir uma variedade de benefícios aos pacientes em diálise de manutenção (STENVINKEL et al., 1999).

A preservação da FRR está associada a um resultado do paciente, incluindo sobrevida e qualidade de vida, e é um parâmetro clínico e foco de pesquisa na diálise (RACHHAUS et al., 2000). A FRR a fornece *clearance* contínuo de moléculas médias e solutos ligados a proteínas.

Tem sido proposto as seguintes considerações práticas para preservar FRR, especialmente em pacientes recém-iniciados em hemodiálise (incidentes) (AUKRUST et al., 1994):

- Monitoramento periódico de FRR em pacientes em HD através do volume de urina e incluindo *clearance* de uréia residual com adequação de diálise e marcadores de resultados, como anemia, ganhos de fluidos, minerais e eletrólitos, nutrição, status e qualidade de vida;
- Evitar agentes nefrotóxicos como corantes de radiocontraste, antiinflamatórios não esteróides e aminoglicosídeos;
- Controle de hipertensão mais rigoroso e minimizando os episódios hipotensos intradialíticos;
- Individualizando a prescrição inicial de diálise com consideração de uma abordagem incremental / infrequente para iniciação de hemodiálise (por exemplo, duas vezes por semana) ou diálise peritoneal (DP);

Considerando uma dieta com menos proteína, especialmente em dias de não diálise. Como a FRR parece estar associada com melhores resultados para pacientes, requer mais clínica e foco da pesquisa no tratamento de hemodiálise e diálise peritoneal de pacientes em diálise.

Há uma série de razões biologicamente plausíveis por que a preservação da FRR pode ser uma estratégia importante para melhorar a sobrevida de pacientes em HD. Muita da informação, no entanto, é extraída de estudos realizados em pacientes em DP, pois poucos estudos examinaram FRR em pacientes em HD (CAENAZZO et al., 1993).

Os benefícios potenciais na população DP incluem: melhor depuração de peso molecular médio e maior toxinas, melhor volume e controle da pressão arterial, diminuição

da inflamação, melhor apetite e estado nutricional, preservação relativa das funções endócrinas renais, melhora do controle de fosfato e qualidade de vida (KIMMEL et al., 1998).

A FRR também é um componente importante da eficácia geral do tratamento administrado por DP ou HD e contribui para o sucesso do conceito de diálise incremental em que os pacientes com FRR significativa podem ser iniciados em doses menores de diálise no início, de acordo com tais pacientes melhor qualidade de vida e menos restrições da dose total de diálise desde o início (PEREIRA et al., 1994)

A maioria dos pacientes em hemodiálise tem um volume sobrecarregado de líquido antes da sessão de diálise, e perde fluido extracelular e intracelular durante o tratamento. Dispositivos de bioimpedância auxiliam a tomada de decisão clínica avaliando o estado do fluido dos pacientes em diálise (PANICHI et al., 2001).

Estudos observacionais transversal e longitudinal relataram que os pacientes em diálise superhidratada não têm maior ou melhor preservação da FRR. Assim, simplesmente manter pacientes superhidratados não parece preservar a função residual, mas os riscos de hipertensão e hipertrofia ventricular esquerda. Por outro lado, uma remoção muito rápida de líquido durante a hemodiálise, corre o risco de hipotensão, e episódios hipotensivos repetitivos podem potencialmente levar a isquemia renal e perda prematura de resíduos de função renal (YEUN et al., 2000).

A hipotensão intradialítica é mais comum em centros que visam menores pressões sanguíneas pré e pós-diálise e pacientes atendidos para diálise em, ou perto do seu peso-alvo. Embora essa abordagem arrisque a anúria, a pressão arterial é diminuída e a hipertrofia ventricular esquerda regride. Como a maioria dos centros de diálise não mede regularmente a função residual, continua a ser estabelecido que, prevenindo hipotensão intradialítica usando tecnologia de bioimpedância e de diálise, podem preservar FRR (KAYSEN et al., 2000).

A ativação persistente da resposta inflamatória recentemente foi reconhecida como um importante fator de risco independente para o desenvolvimento de complicações cardiovasculares na população geral e nos pacientes com DRC. Marcadores de inflamação, tais como PCR, albumina sérica (albumina S), IL-6, e hialurano, foram descritos como preditores independentes de aumento da mortalidade em pacientes com DRCT, enquanto o TNF-alfa e a neopterinina foram usados para prever a mortalidade em vários grupos de pacientes não renais (MEMOLI et al., 2000).

Pacientes com DRCT têm níveis marcadamente elevados de citocinas, e embora todas disponíveis, a evidência parece sugerir uma regulação positiva da atividade de citocinas pró-

inflamatórias no DRCT. Uma possibilidade é que a deterioração da função renal como tal resulta em um aumento significativo nos níveis séricos de citocinas. Uma forte correlação negativa entre o *clearance* de creatinina e níveis séricos de várias citocinas e seus receptores solúveis foram mostrados em pacientes não diagnosticados com diferentes graus de falha renal (BOLTON et al., 2001).

Portanto, é possível que o aparente estado inflamatório urêmico seja causado por diminuição da remoção, ao invés de geração aumentada, de citocinas na uremia. No entanto, associações entre marcadores de inflamação e função renal em pacientes com DRCT antes do início do tratamento de diálise, não foi analisado anteriormente em detalhes (WANG et al., 2002).

A IL-1 age diretamente junto com a TNF-alpha dentro da imunidade natural e também na inflamação. A sua principal fonte celular são os fagócitos mononucleares ativados, os neutrófilos, as células epiteliais, as endoteliais e os linfócitos (VANHOLDER et al., 2001). São compostas por IL-1 α e IL-1 β .

As ações biológicas são as mediadoras da inflamação local, induzindo a febre, sintetizando as proteínas plasmáticas dentro da fase aguda, produzindo os neutrófilos e as plaquetas (WANG et al, 1995).

IL-6 é conhecida como sendo uma citocina inflamatória potente, onde sua principal atividade é redundante e pleiotrópica, mediando uma série de diferentes funções fisiológicas, inclusive a diferenciação dos linfócitos, proliferando a sobrevivência celular, sem contar ainda com a potencialização dos sinais apoptóticos (DINARELLO, 2007).

A IL-6 ainda tem efeito sobre a formação óssea, o metabolismo geral e as funções endócrinas, tendo a principal habilidade de afetar os diversos tecidos e os órgãos (ESPINOZA et al., 1999).

O TNF-alpha é conhecido como uma citocina pró-inflamatória com efeitos pleiotrópicos, que tem diversas funções importantes, como induzir outras citocinas, mediadores lipídicos da inflamação, também da proliferação, de diferenciação celular a apoptose. O TNF é induzido por conta de diversos estímulos, incluindo os microrganismos, mediadores lipídicos, imunidade complexa, células tumorais e citocinas (HIMMELFARB et al., 2002).

Padrões moleculares associados a patógenos ou PAMPs microbianos atuam diretamente nos receptores tipo Tol (RTT) induzindo a produção de TNF, que é uma citocina

produzida de forma rápida, que causa uma avalanche de mediadores inflamatórios (VAN TELLINGEN et al., 2002).

6. Metodologia

6.1 Delineamento

Estudo caso-controle, pareado por idade e sexo.

6.2 População Alvo

Adultos acima de 18 anos de idade que realizam o tratamento hemodialítico na unidade de hemodiálise do Hospital Universitário São Francisco de Paula de Pelotas.

6.3 Critérios de elegibilidade

- Ter idade acima de 18 anos;
- Apresentar insuficiência renal crônica, e estar em hemodiálise há, pelo menos, 3 meses;
- Estar realizando o tratamento hemodialítico através de fistula artério-venosa;
- Aceitar a coleta de material biológico proposta pelo estudo;

6.4 Critérios de exclusão

- Pacientes em hemodiálise após transplante renal; pacientes com condições sistêmicas graves (acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca, sepse, neoplasias, etc.)
- Incapacidade de compreensão do termo de consentimento livre.
- Pacientes em uso de imunossuppressores e antidepressivos;

6.5 Amostra: tamanho e tipo

A unidade de Hemodiálise do Hospital Universitário São Francisco de Paula de Pelotas é uma das unidades prioritárias para prestar atenção em hemodiálise no Sistema de Saúde Pública de Pelotas. Estima-se que realize o tratamento de pelo menos 120 pacientes por ano. Participarão do estudo todos os pacientes do serviço, excluindo aqueles que não preencherão os critérios de elegibilidade ou recusarem participar da pesquisa.

Os pacientes incluídos no estudo serão acompanhados por uma equipe de devidamente treinada. As coletas de sangue serão realizadas através da fistula do paciente. As amostras serão colhidas após o devido consentimento do paciente, por um técnico especializado em

coleta de sangue. Serão coletados 5,0 ml de sangue total (tubos sem anticoagulantes) em cada coleta. O sangue coletado será centrifugado para obtenção do soro e, depois, armazenado à -80 °C no Laboratório de Neurociências Clínicas da UCPel. A identificação nos tubos será feita com caneta resistente a água e à umidade.

6.6 Instrumentos e Variáveis

Os instrumentos utilizados serão: um questionário composto por variáveis referentes a condições socioeconômicas, escolaridade, dados sobre a patologia que o levou a ter insuficiência renal, co-morbidades, e tempo em hemodiálise.

A avaliação da função renal residual é definida como um volume maior que 200 mL de urina em 24 horas.

6.7 Análises bioquímicas

Para as Análises bioquímicas da amostra serão dosados os marcadores periféricos de interesse com os kits comerciais disponíveis e com técnicas disponíveis no laboratório. Os marcadores inflamatórios (IL-1 β , IL-6 e TNF- α) serão medidos através de kits comerciais pela técnica de ELISA em um leitor de microplacas (Molecular Devices, Spectra Max 190) no laboratório de Neurociências Clínicas da Universidade Católica de Pelotas. Em todas as análises bioquímicas, serão feitas alíquotas das amostras, codificadas e feitas em triplicatas para evitar resultados errôneos. Os pesquisadores responsáveis pelas análises bioquímicas não conhecerão os grupos dos pacientes.

6.8 Análise de dados

As análises estatísticas serão realizadas nos programas Graph Pad Prism 6.0 e SPSS 22.0. As características sociodemográficas e clínicas serão comparadas utilizando os testes χ^2 para variáveis categóricas e teste T ou análise de variância (ANOVA) para variáveis contínuas. A apresentação das medidas de posição e dispersão da amostra será realizada de acordo com a distribuição das variáveis inflamatórias (IL-1 β , IL-6 e TNF- α). Se a distribuição for normal os dados serão apresentados por média e desvio padrão e a análise será processada através do teste t, ANOVA e correlação de Pearson. Caso contrário, variáveis bioquímicas serão apresentadas por medianas e intervalos interquartis, enquanto os testes

de associações serão realizados através dos testes Mann- Whitney, Kruskal-Wallis e correlação de Spearman.

6.9 Divulgação dos Resultados

A divulgação terá como alvo dois grupos distintos, sendo eles: a comunidade para qual a divulgação será realizada através da publicação dos principais achados do estudo no serviço de hemodiálise e a comunidade científica conhecerá os resultados após a publicação do artigo e apresentação em congressos científicos.

6.10 Aspectos Éticos

Serão respeitados todos os princípios éticos estabelecidos pelo Conselho Nacional de Saúde na Resolução Nº 196 de 10 de Outubro de 1996. Será assegurado o direito à confidencialidade dos dados e o cuidado na utilização das informações nos trabalhos escritos, de modo que os participantes não possam ser identificados. O presente projeto será submetido ao comitê de ética para avaliação.

7. Orçamento

Material de consumo	Valor unitário	Total de unidades	Valor total
Kit de ELISA IL-1 β humano	R\$ 3.500,00	1	R\$ 3.500,00
Kit de ELISA IL-6 humano	R\$ 3.500,00	1	R\$ 3.500,00
Kit de ELISA TNF- α humano	R\$ 3.500,00	1	R\$ 3.500,00
Microtubos 1.5 mL pacote 1.000 unid	R\$ 50,00	1	R\$ 50,00
Ponteiras 1000 μ L pacote 1000 unid	R\$ 50,00	1	R\$ 50,00
Ponteiras 200 μ L pacote 1000 unid	R\$ 50,00	1	R\$ 50,00
Tubo vaccunteiner 5.0 mL 100 unid	R\$ 120,00	1	R\$ 120,00
Seringa 5.0 mL 100 unid	R\$ 100,00	1	R\$ 100,00
TOTAL			R\$ 10870,00

8. Cronograma

ATIVIDADES / MESES	2017				2018		
	3ºB	4ºB	5ºB	6ºB	1ºB	2ºB	3ºB
Revisão literatura							
Elaboração do projeto							
Qualificação do projeto							
Submissão ao Comitê de Ética							
Estudo-piloto							
Coleta de dados							
Análise de dados							
Redação do trabalho							
Revisão e redação final							
Defesa dissertação							

REFERÊNCIAS

1. ALVES, Cláudia Maria Pereira; TEIXEIRA, Maria do Carmo Borges; DE MARTINO, Maria Cristina. Dosagem de marcadores de lesão endotelial em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 3, p. 207-214, 2010.
2. AUKRUST, Pål et al. Serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF α) and soluble TNF receptors in human immunodeficiency virus type 1 infection-correlations to clinical, immunologic, and virologic parameters. **Journal of Infectious Diseases**, v. 169, n. 2, p. 420-424, 1994.
3. BOLOGA, Roxana M. et al. Interleukin-6 predicts hypoalbuminemia, hypocholesterolemia, and mortality in hemodialysis patients. **American journal of kidney diseases**, v. 32, n. 1, p. 107-114, 1998.
4. BOLTON, Colin H. et al. Endothelial dysfunction in chronic renal failure: roles of lipoprotein oxidation and pro-inflammatory cytokines. **Nephrology dialysis transplantation**, v. 16, n. 6, p. 1189-1197, 2001.
5. CAENAZZO, A. et al. Serum neopterin levels in haematological malignancies. **Haematologica**, v. 78, n. 4, p. 225-229, 1993.
6. DAVENPORT, Andrew. Will incremental hemodialysis preserve residual function and improve patient survival?. In: **Seminars in dialysis**. 2015. p. 16-19.
7. DINARELLO, Charles A. Historical insights into cytokines. **European journal of immunology**, v. 37, n. S1, p. S34-S45, 2007.
8. ESPINOZA, Mauricio et al. Tumor necrosis factor alpha as a uremic toxin: correlation with neuropathy, left ventricular hypertrophy, anemia, and hypertriglyceridemia in peritoneal dialysis patients. **Advances In Peritoneal Dialysis**, v. 15, p. 82-86, 1999.
9. GLASSOCK, Richard J.; WINEARLS, Christopher. The global burden of chronic kidney disease: how valid are the estimates?. **Nephron Clinical Practice**, v. 110, n. 1, p. c39-c47, 2008.

10. HIMMELFARB, Jonathan et al. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. **Kidney international**, v. 62, n. 5, p. 1524-1538, 2002.
11. KAYSEN, George A. et al. The acute-phase response varies with time and predicts serum albumin levels in hemodialysis patients. **Kidney international**, v. 58, n. 1, p. 346-352, 2000.
12. KDIGO, CKD. Work Group: Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) CKD work group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. **Kidney Int Suppl**, v. 3, p. 1-150, 2013.
13. KIMMEL, Paul L. et al. Immunologic function and survival in hemodialysis patients. **Kidney international**, v. 54, n. 1, p. 236-244, 1998.
14. LEVEY, Andrew S.; CORESH, Josef. Chronic kidney disease. **The lancet**, v. 379, n. 9811, p. 165-180, 2012.
15. LIEM, Ylian Serina et al. Comparison of hemodialysis and peritoneal dialysis survival in The Netherlands. **Kidney international**, v. 71, n. 2, p. 153-158, 2007.
16. LOCATELLI, Francesco; MANZONI, Celestina; DI FILIPPO, Salvatore. The importance of convective transport. **Kidney International**, v. 61, p. S115-S120, 2002.
17. MATHEW, Anna T. et al. Preservation of residual kidney function in hemodialysis patients: reviving an old concept. **Kidney international**, v. 90, n. 2, p. 262-271, 2016.
18. MEMOLI, Bruno et al. Role of different dialysis membranes in the release of interleukin-6-soluble receptor in uremic patients. **Kidney international**, v. 58, n. 1, p. 417-424, 2000.
19. MEYER, Timothy W.; HOSTETTER, Thomas H. Uremia. **New England Journal of Medicine**, v. 357, n. 13, p. 1316-1325, 2007.
20. NEVES PL. **Inflamação na doença renal crónica**. Tese (Doutorado), Lisboa, Faculdade de Medicina de Lisboa, 326p. 15, 2004.
21. PANICHI, Vincenzo et al. C reactive protein in patients with chronic renal diseases. **Renal failure**, v. 23, n. 3-4, p. 551-562, 2001.
22. PATEL, Nikunj Kumar; HU, Susie L. Preserving residual renal function in dialysis: what we know. In: **Seminars in dialysis**. 2015. p. 250-258.


23. PECOITS-FILHO, Roberto et al. Interleukin-6 is an independent predictor of mortality in patients starting dialysis treatment. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 17, n. 9, p. 1684-1688, 2002.
24. PEREIRA, Brian JG et al. Plasma levels of IL-1 β , TNF α and their specific inhibitors in undialyzed chronic renal failure, CAPD and hemodialysis patients. **Kidney international**, v. 45, n. 3, p. 890-896, 1994.
25. RAUCHHAUS, Mathias et al. Plasma cytokine parameters and mortality in patients with chronic heart failure. **Circulation**, v. 102, n. 25, p. 3060-3067, 2000.
26. SHEMIN, Douglas et al. Residual renal function and mortality risk in hemodialysis patients. **American journal of kidney diseases**, v. 38, n. 1, p. 85-90, 2001.
27. STENVINKEL, Peter et al. High serum hyaluronan indicates poor survival in renal replacement therapy. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 34, n. 6, p. 1083-1088, 1999.
28. STENVINKEL, Peter. Inflammation in end-stage renal disease: The hidden enemy. **Nephrology**, v. 11, n. 1, p. 36-41, 2006.
29. VAN TELLINGEN, Anne et al. Intercurrent clinical events are predictive of plasma C-reactive protein levels in hemodialysis patients. **Kidney international**, v. 62, n. 2, p. 632-638, 2002.
30. VANHOLDER, Raymond et al. Uremic toxicity: present state of the art. **The International journal of artificial organs**, v. 24, n. 10, p. 695-725, 2001.
31. WANG, Angela Yee-Moon et al. A novel association between residual renal function and left ventricular hypertrophy in peritoneal dialysis patients. **Kidney international**, v. 62, n. 2, p. 639-647, 2002.
32. WANG, Tao et al. Influence of peritoneal dialysis on the progression of chronic renal failure. **Adv Perit Dial**, v. 11, p. 139-141, 1995.
33. YEUN, Jane Y. et al. C-reactive protein predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 35, n. 3, p. 469-476, 2000.

Carta Justificativa

O projeto inicial intitulado “Avaliação de biomarcadores inflamatórios em pacientes da hemodiálise com função renal residual” tinha como objetivo avaliar os marcadores inflamatórios Interleucina-1 beta, Interleucina-6 e Fator de Necrose Tumoral alfa em pacientes submetidos à hemodiálise, com algum grau de função renal residual (FRR). Porém, uma união de fatores foram levados em consideração para que o projeto não fosse executado, sendo eles: a quantificação da FRR nos pacientes em estágio V da doença renal crônica (DRC) pode resultar inadequada devido à baixa filtração glomerular e, uma vez que, para avaliar este parâmetro é necessário o volume de urina de 24 horas e dificilmente os pacientes meçam de maneira correta em suas casas, fica comprometida a análise da FRR; além disso, muitos dos pacientes submetidos à hemodiálise já tem sua função renal totalmente comprometida. Sendo assim, se fez necessária alteração da dissertação, com o novo título: “Parâmetros bioquímicos e mortalidade em pacientes com doença renal crônica”. A escolha do novo projeto/objetivo se deve a importância da participação da rotina laboratorial para diagnóstico, prognóstico e acompanhamento do paciente com DRC; as variáveis: Hemoglobina, hematócrito e albumina, biomarcadores alvos do nosso estudo, foram associados à sobrevida e são fortes fatores preditivos de risco de mortalidade para pacientes em tratamento hemodialítico, sendo assim, o tema do novo projeto, de grande importância e relevância na área da saúde. Os dados dos pacientes do novo estudo, foram obtidos de um projeto maior realizado no Serviço de Hemodiálise do Hospital Universitário São Francisco de Paula. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética local com o número 1.940.521.

Prof. Dr. Jean Pierre Oses

Orientador



Research Article

BIOCHEMICAL PARAMETERS AND MORTALITY IN END-STAGE RENAL DISEASE PATIENTS

Josiane S. Freitas¹, Larissa R. Ribeiro^{1,2}, Carolina D. Wiener³, Rafael B. Orcy⁴, Maristela Böhlke^{1,2}, Jean P. Oses^{1*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento, Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, RS, Brazil.

² Hospital Universitário São Francisco de Paula, Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

³ Anhanguera Educacional, Pelotas, RS, Brazil.

⁴ Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brazil.

Short Title: Biochemical parameters and mortality in renal disease patients

*Corresponding Author

Jean Pierre Oses

Department of Health and Behavior

Catholic University of Pelotas

373 Gonçalves Chaves, 418C.

Pelotas/RS, Brazil - 96015-560

Tel: + 55 (53) 2128-8000

E-mail: jean.pierre.oses@gnail.com

Keywords: Mortality, Hemodialysis, Biomarkers, Creatinine

1 **Abstract**

2 **Background:** Chronic kidney disease (CKD) is characterized by reduced renal function with important
3 changes in biochemical markers. Monitoring allows monitoring the evolution of CKD and helps in the
4 prognosis of associated complications, avoiding the high mortality rate. Thus, the objective of the
5 present study was to compare biochemical markers and correlate with mortality in patients with CKD
6 undergoing hemodialysis at a public hospital in the city of Pelotas, Rio Grande do Sul. **Methods:** This
7 is a cross-sectional study in which sociodemographic, clinical and laboratory data were collected
8 from medical records. The sample was divided into 2 groups: death (23 patients died) and survival
9 (91 patients alive). **Results:** The total sample consisted of 114 patients, 57.9% male, 45.6% between
10 36 and 60 years, 71.1% non-diabetic, 59.6% hypertensive, 81.6% without heart disease (81, 6%) and
11 the mean body mass index (BMI) was 25.46 ± 4.83 (kg / m²). As expected, creatinine, hemoglobin,
12 hematocrit, calcium, and albumin levels were significantly reduced in the death group (p = 0.010, p =
13 0.005, p = 0.007, p = 0.040, p ≤ 0.001 respectively). Hemoglobin, hematocrit and albumin levels were
14 associated with mortality in patients with CKD undergoing hemodialysis. **Conclusion:** It was
15 concluded that the monitoring of biochemical parameters related to renal function are essential in
16 the life expectancy of these patients.

17

18 **Introduction**

19 In the last decades, there has been a significant increase in the prevalence of chronic kidney disease
20 (CKD), which reflects a substantial impact on adverse health, social and economic effects [1]. End-
21 stage renal disease (ESRD) has a 15.0% prevalence with high mortality, especially in the first
22 trimester. A major but not well-understood problem of early mortality in end-stage renal disease [1].

23 An update of the Global Outcomes Guideline (KDIGO) defined CKD as a persistent decrease in the
24 estimated glomerular filtration rate (GFR) of less than 60 ml per minute per 1.73 m² of body-surface
25 area and albuminuria \geq 300mg in 24 hours, This indicators are considered independent predictors of
26 mortality [2,3].

27 In this disorder, in the advanced stages, the renal function is impaired, requiring renal replacement
28 therapy (SRT) for the maintenance of patients with ESRD [4]. Among the techniques used, the
29 hemodialysis (HD), which is a filtration and purification process, is the most used in patients with
30 end-stage renal disease. However, the procedure was not able to exactly replace normal renal
31 function [2,5].

32 During HD treatment, patients are monitored through clinical and biochemical evaluations. In the
33 evaluation of renal function, several biomarkers are evaluated, like creatinine, proteinuria,
34 albuminuria, cystatin C and glomerular filtration rate (GFR)[6,7]. The literature suggests that several
35 biochemical parameters can be used to track the patient and identify the cause of kidney disease
36 mortality [8].

37 Renal function is divided into several subgroups according to organ involvement, but despite the
38 numerous studies, there is still no ideal biomarker [9]. Among the markers studied, the creatinine is
39 widely used to evaluate renal function, because with the decrease of GFR it decreases its excretion,
40 raising its serum level [10]. Albumin is also a marker of great expression, as it evaluates the
41 nutritional status of the patient who suffers a greater loss of protein in the dialysis treatment process
42 [11].

43 Other important markers of CKD are hemoglobin and hematocrit, which evaluate anemia in the
44 patient. Anemia is one of the earlier complications of CKD, associated with several causes, including
45 erythropoietin deficiency, iron and also the inflammatory state associated with CKD [12].

46 Chronic kidney disease has a high morbidity and mortality rate and has been increasing in incidence
47 and prevalence each year. Because of this, the interest in evaluating biochemical markers and their
48 relationship to mortality is increasing. However, in Brazil, data on the relationships between
49 biochemical profile and mortality are limited and contradictory [13]. Thus, the objective of the

50 present study was to compare biochemical markers of dialysis and to correlate with mortality in
51 patients with end-stage renal disease from a public nephrology service.

52

53 **Materials and Methods**

54 *Study design*

55 This is a nested cross-sectional observational study in patients of a hemodialysis service. The sample
56 was composed of patients with CKD in HD at the Hospital Universitário São Francisco de Paula, Brazil.

57 *Study Population*

58 Inclusion criteria were age 18 years or more and more than 90 days of treatment in HD. Patients
59 treated with angiotensin-converting enzyme inhibitor medicinal products, angiotensin receptor
60 blockers, direct renin or aldosterone inhibitors beta blockers, patients with chronic or frequent
61 cardiac arrhythmia, or use of pacemaker were excluded.

62 The sociodemographic data (age, sex, skin color), clinical (diagnosis of diabetes, hypertension or
63 previous cardiovascular events, body mass index, use of pro-erythropoietic drugs, ultrafiltration from
64 the studied HD session), and laboratory variables (calcium, phosphate, hematocrit, hemoglobin,
65 potassium, urea, albumin) obtained in the last 30 days before the study were collected from the
66 medical records. The patients were treated by four-hour in HD sessions, thrice-weekly, using
67 Fresenius 4008-S machines (Fresenius, Bad Homburg, Germany), and low-flux polysulfone dialyzers.

68 *Laboratory measurements*

69 Blood samples were collected from the arteriovenous fistula or from the double lumen catheter.
70 Before hemodialysis session, the blood samples were collected for all biochemical analyses (calcium,
71 phosphate, hematocrit, hemoglobin, potassium, urea, albumin). All analyses were measured on the
72 same day of the hemodialysis session for clinical follow up. A commercial kit was used to evaluate
73 biochemical parameters according to the manufacturer's instructions (Roche Diagnostics, Mannheim,
74 Germany) with a COBAS 6000 analyzer (Roche).

75 *Statistical analyses*

76 Statistical analyzes were performed using the Statistical Program for Social Sciences 21.0 (SPSS) (IBM
77 Corporation, Armonk, NY) and Graph Pad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, USA). The
78 sociodemographic and clinical characteristics are shown by the absolute and relative frequencies and
79 / or the mean \pm standard deviation. The sample was divided into two groups: death group and
80 survival group; to verify the association between them, the chi-square test and the Student's t-test
81 were used. The T test was also used to compare the mean differences in biomarkers relative to the

82 groups. Linear regression was used in the multivariate analysis, adjusted for the following
83 confounding variables, which were related to the value of $p < 0.2$: sex, BM, diabetes and heart
84 disease.

85 **Results**

86 The total sample comprised 114 patients, of these: 57.9 % were male, 45.6 % aged between 36 and
87 60 years, 71.1% non-diabetic, 59.6% hypertensive patients, 81.6% no heart disease (81.6%), and the
88 mean of BMC was 25.46 ± 4.83 (kg/m²). Table 1 shows the demographic and clinical characteristics
89 according to surviving and death group. In this study, 23 patients were in the death group (20.18%),
90 theses 52.2% had diabetes, 69.6% no were heart disease and the median of BMC were 23.10 ± 3.34
91 (kg/m²) (Table 1).

92 In table 2, the biomarkers are shown according to the survival or death group. Serum biomarkers
93 levels were significantly reduced in the death group, with mean creatinine levels of 7.83 ± 2.73 mg/dL
94 in the death group and 9.58 ± 2.83 mg/dL in the surviving group ($p = 0.010$).

95 Hemoglobin levels were 8.95 ± 1.29 mg/dL in the death group and 10.02 ± 1.65 mg/dL in the
96 surviving group ($p = 0.005$). The hematocrit levels were 28.42 ± 4.24 mg/dL in the death group and
97 31.36 ± 4.85 mg/dL in the survived group ($p = 0.007$). The calcium levels were 8.76 ± 0.66 mg/dL in
98 the death group and 9.10 ± 0.77 mg/dL in the surviving group ($p = 0.040$). In addition, albumin levels
99 were 3.49 ± 0.43 mg/dL in the death group and 3.99 ± 0.34 mg/dL in the surviving group ($p \leq 0.001$).
100 Urea pre HD; Urea post HD, Phosphorus and Potassium did not present statistical difference between
101 the groups.

102 To check for the influence of possible confounding factors, was performed a linear regression
103 including gender, BMC, diabetes and cardio disease. These analyses showed that these variables did
104 not interfere with the observed results regarding the hemoglobina levels (B: -0.065; CI: -0.024 to -
105 0.106; $p = 0.002$), hematócrito level (B: - 0.019; CI: -0.005 to -0.034; $p = 0.007$), and serum albumin
106 levels (B: - 0.438; CI: -0.282 to - 0.594; $p \leq 0.001$). However, serum creatinine levels (B: - 0.023; CI: -
107 0.002 to -0.049; $p = 0.071$) and calcium levels (B: -0.078; CI: -0.013 to -0.169; $p = 0.091$) were changed
108 after regression (Table 3).

109 **Discussion**

110 Through the results obtained from our study, we can confirm the association of different serum
111 markers, hemoglobin, albumin, creatinine and calcium with mortality in chronic renal hemodialysis
112 patients.

113 Among the biomarkers evaluated, the hematocrit was significant when associated with mortality.
114 The patient on dialysis usually develops anemia, and this is attributed to a decrease in renal

115 production of erythropoietin, a hormone that stimulates the production and maturation of red blood
116 cells. However, the condition may be aggravated by iron deficiency; due to imperceptible
117 gastrointestinal losses, malnutrition, multiple surgical interventions, frequent laboratory tests and
118 dialysis losses; or also by the presence of inflammatory phenomena [14,15].

119 According to the National Kidney Foundation-Dialysis (NKF-DOQI), the treatment of anemia in
120 chronic renal failure suggests a range of 33-36% for the hematocrit¹⁶. In our study, we found higher
121 levels of hematocrit in the surviving group, reiterating that the lower the hematocrit rate, the greater
122 the risk of death. According to some authors, the treatment of anemia with the aim of increasing the
123 hematocrit can improve the patient's quality of life, reduce the need for blood transfusions, improve
124 cognitive function and reduce the rates of hospitalization and mortality of renal patients [16-18].

125 Another biomarker with a significant result for mortality was hemoglobin. The measurement of
126 hemoglobin is the standard measure to diagnose anemia because hematocrit values may be
127 influenced by storage time as well as mean corpuscular volume [19].

128 Based on the NKF-DOQI guide, men with hemoglobin <13.0 g/dL and women <12 g/dL²⁰ are
129 considered anemic. According to the study, values (in g/dL) were observed: survival group - $10.02 \pm$
130 1.65 and death group - 8.95 ± 1.29 , with a significant association with mortality. These results are
131 attributed to anemia among those on dialysis. Although patients in both groups have hemoglobin
132 levels that characterize anemia, we can observe that when we obtained lower levels of hemoglobin,
133 we increased the chance of death, as described in other studies [8,20].

134 Albumin is a biomarker of extreme importance in hemodialysis patients with CKD. In our findings, we
135 obtained higher serum levels in the survival group (4.0 g/dL), which is a limiting albumin
136 concentration recommended for patients with CKD. Lower albumin levels are associated with an
137 increased risk of death by up to 20 times [21].

138 Albumin depends on the patient's protein intake, and in most cases, it is lower than recommended.
139 Thus, the nutritional status of this patient ends up being affected.²³ According to recent research,
140 patients with CKD, especially on dialysis, present high prevalence of metabolic and nutritional
141 disorders syndrome called protein energy loss, which may have as causes: nutrient loss in the
142 dialysate; inflammatory process and hypermetabolism related to dialysis and loss of residual renal
143 function. These factors may lead to reduced functional mobility, muscle weakness and low levels of
144 serum albumin, and make albumin a strong independent predictor of mortality in CKD [11]. However,
145 we do not assess the eating behavior of patients.

146 We also analyzed creatinine, and although it is extremely important in the diagnosis of CKD, this
147 parameter should not be analyzed in isolation, since levels rise late in the blood of patients with this

148 clinical condition [9,18]. In our study, after an adjusted analysis, we obtained a non-significant result
149 for mortality associated with creatinine. The discrepancies between creatine results in different
150 studies can be attributed to the fact that the serum creatinine concentration in the hemodialysis
151 patient is directly related to the efficiency of the procedure and the presence of malnutrition since
152 chronic renal patients present a reduction of muscle mass and appetite [22]. In addition, serum
153 creatinine levels are influenced by age, gender, and race; and since creatinine is proportional to total
154 muscle mass, it tends to have reduced levels in the elderly and women [23].

155 As CKD is accompanied by a series of metabolic alterations, the investigation of serum calcium as a
156 marker of bone mineral disorder is important and very common when there is a decrease in renal
157 function.²⁶ Most of the calcium present in the body is stored in the bones. Calcium is necessary for
158 the formation of bones and is fundamental for the contraction of any muscle in our body, including
159 that of the heart [24].

160 Calcium absorption occurs in the intestine in the presence of vitamin D, which is converted into its
161 active form in the kidneys. Thus, patients with renal problems may have changes in calcium levels
162 due to malabsorption of this marker [25]. However, although its importance in the evaluation of CKD
163 is known, in our study, after adjusted analysis, there was no association with mortality. Probably the
164 reason lies in the fact that, being a mineral stored in the bones, it is influenced mainly by age.

165 This study presents some limitations that need to be addressed. The main limitation of this study was
166 sample size and heterogeneity, not allowing more robust analyzes. The food behavior of the patients
167 was also not evaluated, which could influence the results obtained. This is a convenience sample held
168 at a referral center in nephrology. However, our data showed that biomarkers are good instruments
169 for evaluation of the hemodialysis patient's status, and can be used to predict mortality.

170 It was observed that the variables examined: albumin, hemoglobin and hematocrit as indicators of
171 anemia were associated with mortality. It has also been shown that the survival of hemodialysis
172 patients has a significant increase with high serum levels of albumin, hematocrit and hemoglobin.
173 Larger studies involving multiple hemodialysis services and patients at various stages of the disease
174 are relevant to finding potential markers of mortality.

References

- 1 Lugon JR: End-stage renal disease and chronic kidney disease in Brazil. *Ethnicity & disease* 2009;19:7.
- 2 Kdigo C: Work Group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2013;3:1-150.
- 3 Rebollo Rubio A, Morales Asencio JM, Pons Raventos ME: Biomarkers associated with mortality in patients undergoing dialysis. *Journal of renal care* 2017;43:163-174.
- 4 Teruel-Briones JL, Fernández-Lucas M, Rivera-Gorrin M, Ruiz-Roso G, Díaz-Domínguez M, Rodríguez-Mendiola N, Quereda-Rodríguez-Navarro C: Progression of residual renal function with an increase in dialysis: haemodialysis versus peritoneal dialysis. *Nefrología (English Edition)* 2013;33:640-649.
- 5 Drawz P, Rahman M: Chronic kidney disease. *Annals of internal medicine* 2015;162:ITC1-ITC1.
- 6 Kirsztajn GM: Avaliação de função renal. *J Bras Nefrol* 2009;31:14-20.
- 7 Sanai T, Ono T, Fukumitsu T: Beneficial effects of oral iron in Japanese patients on hemodialysis. *Internal Medicine* 2017;8520-8516.
- 8 Ma L, Zhao S: Risk factors for mortality in patients undergoing hemodialysis: a systematic review and meta-analysis. *International journal of cardiology* 2017;238:151-158.
- 9 Lopez-Giacoman S, Madero M: Biomarkers in chronic kidney disease, from kidney function to kidney damage. *World journal of nephrology* 2015;4:57.
- 10 Nisha R, Srinivasa Kannan S, Thanga Mariappan K, Jagatha P: Biochemical evaluation of creatinine and urea in patients with renal failure undergoing hemodialysis. *Journal of Clinical Pathology and Laboratory Medicine* 2017;1:1-5.
- 11 Shimoda T, Matsuzawa R, Yoneki K, Harada M, Watanabe T, Yoshida A, Takeuchi Y, Matsunaga A: Combined contribution of reduced functional mobility, muscle weakness, and low serum albumin in prediction of all-cause mortality in hemodialysis patients: a retrospective cohort study. *Journal of Renal Nutrition* 2018;28:302-308.
- 12 Ribeiro-Alves MA, Gordan PA: Diagnosis of anemia in patients with chronic kidney disease. *Brazilian Journal of Nephrology* 2014;36:9-12.
- 13 Alves LF, Abreu TTd, Neves NCS, Morais FAd, Rosiany IL, Júnior O, Pinto SWL, Otoni A: Prevalence of chronic kidney disease in a city of southeast Brazil. *Brazilian Journal of Nephrology* 2017;39:126-134.
- 14 Cruz J, Kesrouani S, Pelarigo FCM, Gomes RA, LIMA A, CAGLIAZZI M, Caetano SH: Tratamento da anemia do paciente portador de insuficiência renal crônica em hemodiálise crônica. *Jornal Brasileiro de Nefrologia* 2002;24:127-135.
- 15 Chen TK, Estrella MM, Astor BC, Greene T, Wang X, Grams ME, Appel LJ: Longitudinal changes in hematocrit in hypertensive chronic kidney disease: Results from the African-American Study of Kidney Disease and Hypertension (AASK). *Nephrology Dialysis Transplantation* 2015;30:1329-1335.
- 16 Moreno F, Sanz-Guajardo D, Lopez-Gomez JM, Jofre R, Valderrabano F: Increasing the hematocrit has a beneficial effect on quality of life and is safe in selected hemodialysis patients. *Journal of the American Society of Nephrology* 2000;11:335-342.

- 17 Teixeira FIR, Lopes MLH, Silva GAdS, Santos RF: Survival of hemodialysis patients at a university hospital. *Brazilian Journal of Nephrology* 2015;37:64-71.
- 18 Ramspek CL, Nacak H, van Diepen M, van Buren M, Krediet RT, Rotmans JI, Dekker FW: Pre-dialysis decline of measured glomerular filtration rate but not serum creatinine-based estimated glomerular filtration rate is a risk factor for mortality on dialysis. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2017;32:89-96.
- 19 Perico L, Perico N, Benigni A: The incessant search for renal biomarkers: is it really justified? *Current opinion in nephrology and hypertension* 2019;28:195-202.
- 20 Salman M, Khan AH, Adnan AS, Sulaiman SAS, Hussain K, Shehzadi N, Islam M, Jummaat F: Prevalence and management of anemia in pre-dialysis Malaysian patients: A hospital-based study. *Revista da Associação Médica Brasileira* 2016;62:742-747.
- 21 Cuppari L, Kamimura MA: Avaliação nutricional na doença renal crônica: desafios na prática clínica. *J Bras Nefrol* 2009;31:28-35.
- 22 Gomes FM, de Senna H: Fatores Associados à Desnutrição Em Pacientes Com Insuficiência Renal Crônica Em Tratamento Hemodialítico. *Revista Brasileira de Ciências da Vida* 2017;5
- 23 Dusse LMS, Rios DRA, Sousa LPN, Morais RM, Moraes S, Domingueti CP, Gomes KB: Biomarcadores da função renal: do que dispomos atualmente?
- 24 Guastaldi AC, Aparecida AH: Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. *Química nova* 2010:1352-1358.
- 25 Han H, Segal AM, Seifert JL, Dwyer JT: Nutritional management of kidney stones (nephrolithiasis). *Clinical nutrition research* 2015;4:137-152.

Table1: sample distribution and Demographic and clinical according to survive or death group.

Variables	Sample Distribution	Survive	Death	p-value
Gender ^a				0.100
Male	66 (57.9)	49 (53.8)	17 (73.9)	
Female	48 (42.1)	42 (46.2)	6 (26.1)	
Age (years) ^a				0.511
22- 35	16 (14.0)	12 (13.2)	4 (17.4)	
36- 60	52 (45.6)	45 (49.5)	7 (30.4)	
61 or more	46 (40.4)	34 (37.4)	12 (52.2)	
BMC (kg/m ²) ^b	25.46 ± 4.83	26.06 ± 4.98	23.10 ± 3.34	0.008
Skin color ^a				0.812
White	82 (71.9)	65 (71.4)	17 (73.9)	
Nonwhite	32 (28.1)	26 (28.6)	6 (26.1)	
Diabetes ^a				0.010
No	81 (71.1)	70 (76.9)	11 (47.8)	
Yes	33 (28.9)	21 (23.1)	12 (52.2)	
Hypertension ^a				0.345
No	46 (40.4)	39 (42.9)	7 (30.4)	
Yes	68 (59.6)	52 (57.1)	16 (69.6)	
Cardio disease ^a				0.034
No	93 (81.6)	78 (85.7)	15 (65.2)	
Yes	21 (18.4)	13 (14.3)	8 (34.8)	
Dialysis time (sessions) ^b	639.00 ± 411.39	637.00 ± 527.96	642.00 ± 412.51	0.972
Total	114 (100)	91 (79.8)	23 (20.2)	

^a Simple and relative frequencies (%) calculated per row ^b Mean and standard deviation

Table 2: Mean and standard deviation of biomarker of acute kidney injury in end-stage renal disease (ESRD) patients according to survive or death group.

Variables	Survive	Death	p-value
Creatinine (mg/dL)	9.58 ± 2.83	7.83 ± 2.73	0.010
Urea Pre HD (mg/dL)	121.23 ± 35.46	107.43 ± 30.37	0.068
Urea Post HD (mg/dL)	36.32 ± 16.26	39.22 ± 27.37	0.631
Hemoglobin (mg/dL)	10.02 ± 1.65	8.95 ± 1.29	0.005
Hematocrit (%)	31.36 ± 4.85	28.42 ± 4.24	0.007
Phosphorus (mg/dL)	4.84 ± 1.30	4.30 ± 1.21	0.070
Potassium (mg/dL)	5.24 ± 0.72	5.07 ± 0.89	0.386

Calcium (mg/dL)	9.10 ± 0.77	8.76 ± 0.66	0.040
Albumin (mg/dL)	3.99 ± 0.34	3.49 ± 0.43	≤ 0.001

T-test, represent by mean and standard deviation