



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Enfermedad cardiovascular en hemodiálisis: análisis de la prevalencia y relevancia de los factores de riesgo cardiovascular

Silvia Collado Nieto

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



## TESIS DOCTORAL

### **“ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR EN HEMODIÁLISIS: ANÁLISIS DE LA PREVALENCIA Y RELEVANCIA DE LOS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR”**

Doctoranda. SILVIA COLLADO NIETO

#### DEPARTAMENTOS:

- Centro donde se desarrolló la Investigación: Hospital Clínic. Departament de Medicina. Universitat de Barcelona. IDIBAPS.
- Servicio de Nefrología, Parc de Salut Mar, Institut Mar D´Investigacions Mèdiques.

TUTOR: ALEIX CASES i AMENÓS.

#### DIRECTORES DE TESIS:

- PROF. ALEIX CASES i AMENÓS.
- PROF. JULIO PASCUAL SANTOS.

FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSITAT DE BARCELONA.

#### LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Biopatología y bioingeniería respiratoria, cardiovascular y renal.

#### GRUPO DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades nefro-urológicas y trasplante renal (IDIBAPS).

Este estudio se ha sido realizado gracias al apoyo del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (FISS nº 03/0791) y a la inestimable participación de todos los investigadores, médicos y enfermeras de las Unidades de hemodiálisis participantes del Hospital Clínic, Fresenius Medical Care y Diaverum.

El Institut Mar d'Investigacions Mèdiques ha colaborado con una ayuda para la financiación de la impresión de esta tesis doctoral.

A mi familia...a los que están y a los que ya no...



---

**ÍNDICE**



## **INDICE**

AGRADECIMIENTOS

ABREVIATURAS

I. INTRODUCCIÓN

II. HIPÓTESIS

III. OBJETIVOS

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

1. Diseño del estudio

2. Variables del estudio

3. Recogida de datos

4. Análisis estadístico

5. Aspectos éticos

V. PLAN DE TRABAJO REALIZADO

VI. PUBLICACIONES QUE CONSTITUYEN LA PRESENTE TESIS DOCTORAL

VII. RESULTADOS: DATOS PENDIENTES DE PUBLICACIÓN

VIII. DISCUSIÓN

IX. CONCLUSIONES

X. BIBLIOGRAFÍA

XI. COMUNICACIONES DERIVADAS DEL ESTUDIO

XII. AYUDAS RECIBIDAS PARA LA REALIZACIÓN DEL ESTUDIO

XIII. ANEXOS

1. Aprobación del Comité Ético

2. Publicaciones que componen la tesis





---

**AGRADECIMIENTOS**



## **AGRADECIMIENTOS**

El trabajo de la presente tesis inició su gestación durante mis años de residencia en el Hospital Clínico y posteriormente, un largo seguimiento durante mi sucesiva etapa de adjunta en el Hospital del Mar. No hubiese sido posible sin la colaboración y el trabajo en equipo multidisciplinar de muchos profesionales, tanto de los centros de diálisis, como de estos dos estupendos hospitales, enseñándome todo lo que soy como persona y como profesional.

A mi tutor y director de tesis, Aleix Cases i Amenós, por confiar en mí desde mis inicios en el mundo de la nefrología. Ha sido mi referencia, mentor y guía, una mano a la que agarrarse. Siempre constante y dispuesto, mente brillante e incansable. Gracias por no perder la ilusión en este proyecto y remontarme en los malos momentos.

A Julio Pascual, por todas las oportunidades y apoyo que me ha brindado, por tener la capacidad de potenciarme y aprender de mis errores. Mi admiración y respeto para ambos, maravillosos profesionales de los que cada día son un ejemplo a seguir y con una capacidad de trabajo insaciable.

A todos los que me enseñaron en mis inicios, adjuntos, residentes y personal de enfermería del Hospital Clínico. Los que siguen y los que volaron. A Beth Coll, fuente de aprendizaje constante durante todos estos años. Mujer maravillosa que me ha enseñado que las dificultades son la fuerza que nos hace actuar y evolucionar.

A Ángela Matamoros, por sus sabios consejos, hermana y amiga, que nunca ha dudado de mis posibilidades. Gracias por prestarme tus alas siempre que las mías no se acordaban de cómo volar. No pierdas tu magia nunca porque es la energía que te mueve.

A todos y cada uno de mis compañeros del Servicio de Nefrología del Hospital del Mar, que seguís enseñándome y ayudándome cada día. En especial a Higini y Francesc, amigos, confidentes, leales y colaboradores. Gracias por cuidarme y estar ahí en todo momento.

A Raquel, por su alegría, compañía y complicidad durante estos años. Eres más increíble de lo que piensas. Sólo has de confiar más en ti. You can!!

A tantos implicados en este trabajo de una manera u otra. A Ramón Deulofeu, Carles Nicolau y Manel Azqueta, y a todo el equipo de los centros de diálisis participantes, por su inestimable colaboración y ayuda. A JM. Cruzado, Mercè Pons, Bernat de la Torre... y a los pacientes que sin su aprobación, este proyecto no habría sido posible.

A Sergi Mojal i a Xavi Duran, por tantos dolores de cabeza que les he dado y esas largas tardes de dedicación en el análisis de este trabajo.

A Silvia M, Montse y Miriam. Gracias por vuestra amistad y comprensión. Por haber estado tantos años a mi lado a pesar de la distancia, por vuestras palabras de apoyo y sabios consejos. Por enseñarme a mirar con otros ojos el presente, el mundo, mi vida... Y Amparo, fuente de iluminación. Siempre estaréis conmigo.

Y por supuesto a mi familia. A mi madre y mi hermano, por su amor y apoyo incondicional. Por enseñarme los valores de la constancia en el trabajo y el esfuerzo en silencio. Por inculcarme unos principios de vida honestos y leales que me acompañan en todo lo que hago. Gracias por tantos sacrificios y lucha juntos que me han ayudado a culminar este momento.

A mi padre, siempre conmigo presente en todo lo que hago. Nunca te has ido del todo.... Mi ser de luz al final del camino.

Y a Conrad, por su amor, cariño y paciencia. Por caminar junto a mí a pesar de las dificultades. Por ver la vida con ilusión y alegría cada día. Ahora es tiempo de creer, de levantarse y de seguir adelante. Gracias por serlo todo.

## **ABREVIATURAS**

---



## ABREVIATURAS

**ADMA:** Dimetilarginina asimétrica;

**AHA:** American Heart Association;

**AOPP:** Productos avanzados de oxidación proteica;

**ARA2:** Antagonistas de los receptores de la angiotensina II;

**BMP-7:** Proteína morfogenética ósea 7;

**BNP:** Péptido natriurético cerebral;

**BUN:** Nitrógeno ureico en sangre;

**Ca:** Calcio total;

**CAD:** Enfermedad carotídea aterosclerótica (Carotid atherosclerotic disease);

**CV:** Cardiovascular;

**DM:** Diabetes Mellitus;

**DOPPS:** Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study;

**EC:** Células endoteliales (Endothelial cells);

**ECV:** Enfermedad cardiovascular;

**ERC:** Enfermedad renal crónica;

**ERCT:** Enfermedad renal crónica terminal;

**FG:** Filtrado glomerular;

**FGF-23:** Factor de crecimiento de los fibroblastos-23;

**FEVI:** Fracción de eyección del ventrículo izquierdo;

**FMLV:** Fibra muscular lisa vascular;

**GIM:** Grosor Intima-media;

**HD:** Hemodiálisis;

**HR:** Hazard Ratio;

**HTA:** Hipertensión arterial;

**HVI:** Hipertrofia ventricular izquierda;

**IAM:** Infarto agudo de miocardio;

**IECA:** Inhibidores de la enzima convertora de la angiotensina;

**IL:** Interleukina;

**IMC:** Índice de masa corporal;

**IMVI:** Índice de masa ventricular izquierda;

**IRC:** Insuficiencia renal crónica;

**JNC:** Joint National Committee;



**KDIGO:** Kidney Disease Improving Global Outcomes;  
**Kt/V:** Kt sobre V. Medida del aclaramiento de urea durante la diálisis;  
**LVM:** Masa del ventrículo izquierdo (Left ventricular mass);  
**Lp(a):** Lipoproteína(a);  
**MDA:** Malondialdehído;  
**MIA:** Síndrome de inflamación-malnutrición-aterosclerosis;  
**NKF:** National Kidney Foundation;  
**OPG:** Osteoprotegerina;  
**OS:** Estrés oxidativo (oxidative stress);  
**PA:** Presión arterial;  
**PAS:** Presión arterial sistólica;  
**PAD:** Presión arterial diastólica;  
**PCR:** Proteína C reactiva;  
**PEW:** Protein Energy Wasting (Malnutrición proteico-energética);  
**PTHi:** Parathormona intacta;  
**Pi:** Fosfato;  
**RANKL:** Ligando del Receptor Activador del Factor Nuclear- $\kappa$ B;  
**RMRC:** Registre de Malalts Renals de Catalunya;  
**SEH-ESC:** Sociedad Europea de Hipertensión-Sociedad Europea de Cardiología;  
**TNF:** Factor de necrosis tumoral;  
**TRAIL:** Ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF;  
**TRS:** Tratamiento renal substitutivo;  
**VI:** ventrículo izquierdo;  
**VSMC:** Células de músculo liso vascular (Vascular smooth muscle cells);

## **I. INTRODUCCIÓN**



## INTRODUCCIÓN

### **1.- Enfermedad Renal Crónica Terminal y Enfermedad Cardiovascular.**

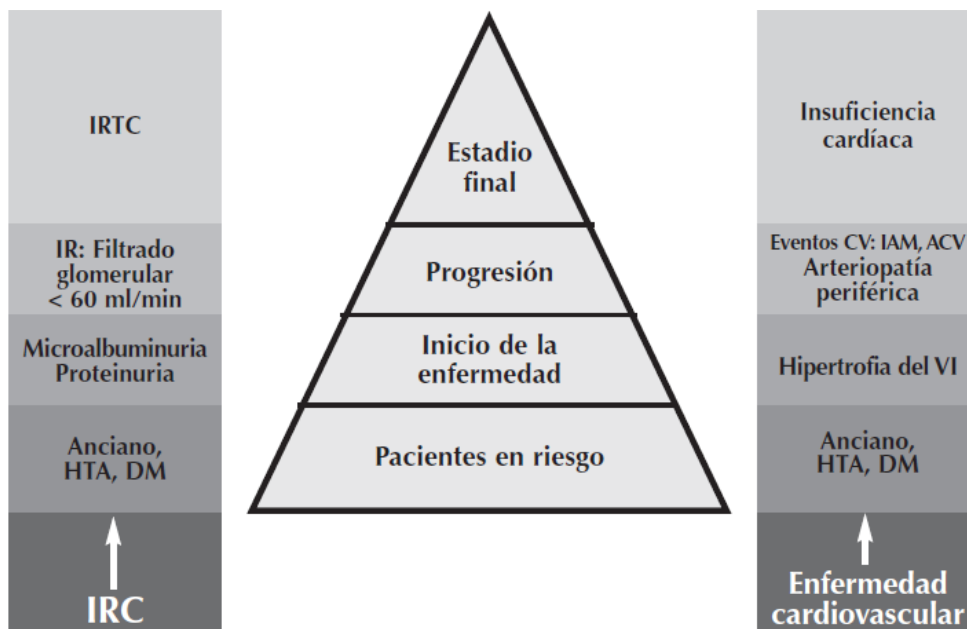
La enfermedad renal crónica (ERC) tiene una alta prevalencia y afecta a un 5-10 % de la población mundial. El estudio EPIRCE, publicado en 2010 (1), situaba la prevalencia de la ERC grado 3-5 en España en alrededor del 6.8 % de la población, un 21.4% en edades superiores a 64 años. Este aumento en los últimos años viene dado por el envejecimiento global de la población, la mayor prevalencia de obesidad y diabetes mellitus, que afecta actualmente a uno de cada 7 adultos en España (2). La morbilidad que conlleva la propia enfermedad y el coste asociado, especialmente a la terapia renal sustitutiva (TRS), hacen de la ERC un problema creciente de salud pública, aunque la prevalencia de ERC terminal (ERCT) que precisa TRS o trasplante renal, es inferior al 0.2% de la población (2,3).

La ERC es un factor de riesgo cardiovascular (CV), tal como ya han reconocido las diferentes guías internacionales de nefrología y riesgo CV (KDIGO, AHA, JNC-7, SEH-ESC...) que la consideran un factor de riesgo CV mayor o un equivalente a lesión de órgano diana. A medida que progresa la propia enfermedad renal, también aumenta el riesgo CV, y la enfermedad CV constituye la primera causa de morbimortalidad en esta población. De hecho, una proporción importante de pacientes con insuficiencia renal leve-moderada, no llegarán al estadio terminal por fallecimiento previo, de causa cardiovascular en la mayoría de ocasiones (4), hecho corroborado también en algunos estudios europeos (5).

Los avances en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares (ECV) han aumentado la expectativa de vida, pero también la prevalencia de ERC. Actualmente entre el 30-50 % de las causas de ERC son atribuibles a enfermedad vascular y diabetes mellitus. La nefropatía diabética y la nefropatía vascular comparten mecanismos etiopatogénicos comunes para la enfermedad

renal y la ECV y la progresión de ambos procesos ocurre en muchos casos de un modo simultáneo (Figura 1). Existe una relación inversa entre el grado de función renal y riesgo de ECV. Por una parte, la disminución del filtrado glomerular (FG) es testigo de patología vascular subyacente desde fases iniciales. A su vez, en los pacientes con ERC la severidad de la patología cardiovascular asociada tiene una relación directa con el ritmo de deterioro del FG (6), problema que se agrava al iniciar TRS.

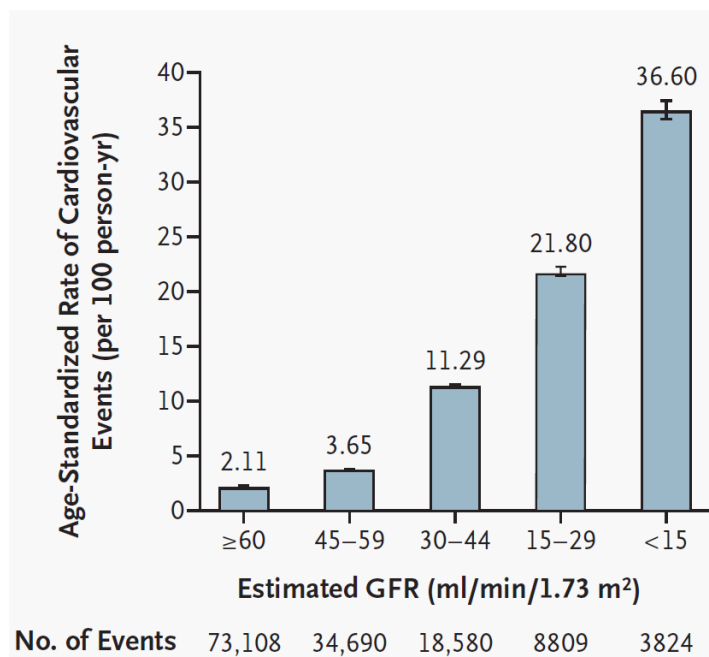
**Figura 1.** Estadios evolutivos paralelos de la enfermedad renal crónica y de la enfermedad cardiovascular. Adaptada de Sarnak MJ y Levey AS (7).



El estudio más amplio que analizó la relación entre ERC y riesgo cardiovascular fue un análisis de la base de datos del Kayser Permanente del Norte de California publicado en el año 2004 (4), con un seguimiento medio de 2.84 años de 1.120.295 adultos, en el que fueron excluidos los pacientes en programa de diálisis o trasplantados renales. El riesgo de eventos CV y de mortalidad ajustados por edad aumentó de forma inversa y exponencial a medida que disminuía el FGe, desde FG inferiores a 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> y especialmente, con FG inferiores a 45 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. De la misma manera, el riesgo de hospitalización siguió un patrón similar de relación inversa y exponencial con el FGe. Esta asociación fue significativa tanto en hombres como en mujeres y

persistía tras ajustar por múltiples factores de confusión sociodemográficos, factores de riesgo cardiovascular clásicos y comorbilidades (Figura 2).

**Figura 2.** Tasa de mortalidad y de eventos cardiovasculares en función del grado de disfunción renal (Go AS et al) (8).

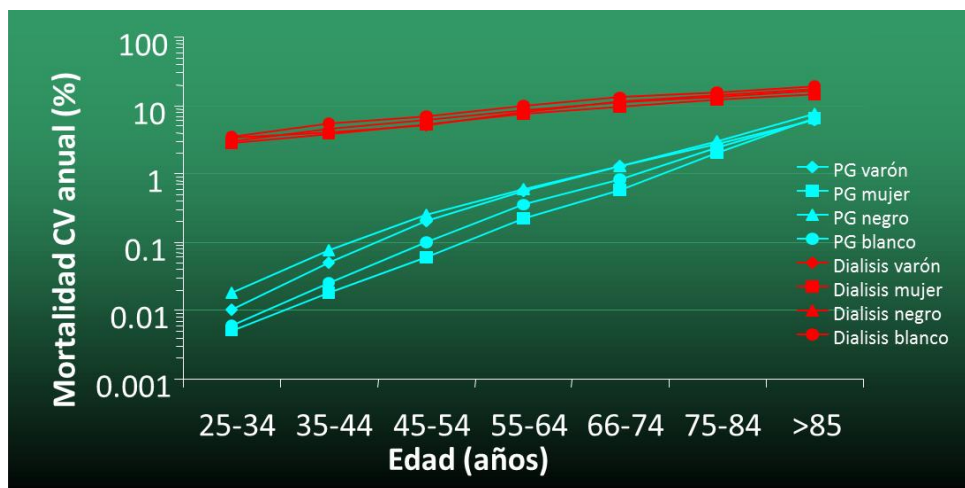


La presencia de ERC implica también un peor pronóstico en pacientes con enfermedad vascular establecida, mientras que, la enfermedad vascular establecida predispone a la aparición o agravamiento de la ERC (2). Así pues, la relación entre la ERC y la ECV es bidireccional, demostrando una compleja interrelación entre ambas que conduce a un círculo vicioso.

Esta situación aún es más relevante en el subgrupo de pacientes en TRS. La patología CV representa la principal causa de muerte en los pacientes en hemodiálisis (cerca del 50% de todas las causas de muerte, dependiendo de las diferentes series) (8-12) y alrededor de un 30 % de las causas de hospitalización (13). Estos pacientes tienen una tasa de mortalidad CV entre 10 y 20 veces superior a la de la población general, pero en el grupo de edad de 45-54 años la tasa de mortalidad es alrededor de 65 veces superior en los pacientes en diálisis respecto a la población general, independientemente de su raza y sexo (14) (Figura 3). Aunque el riesgo CV en pacientes trasplantados renales es inferior al

de los pacientes en diálisis, éste sigue siendo superior al de la población general (15).

**Figura 3.** Mortalidad CV en pacientes en hemodiálisis, según edad, sexo y raza.

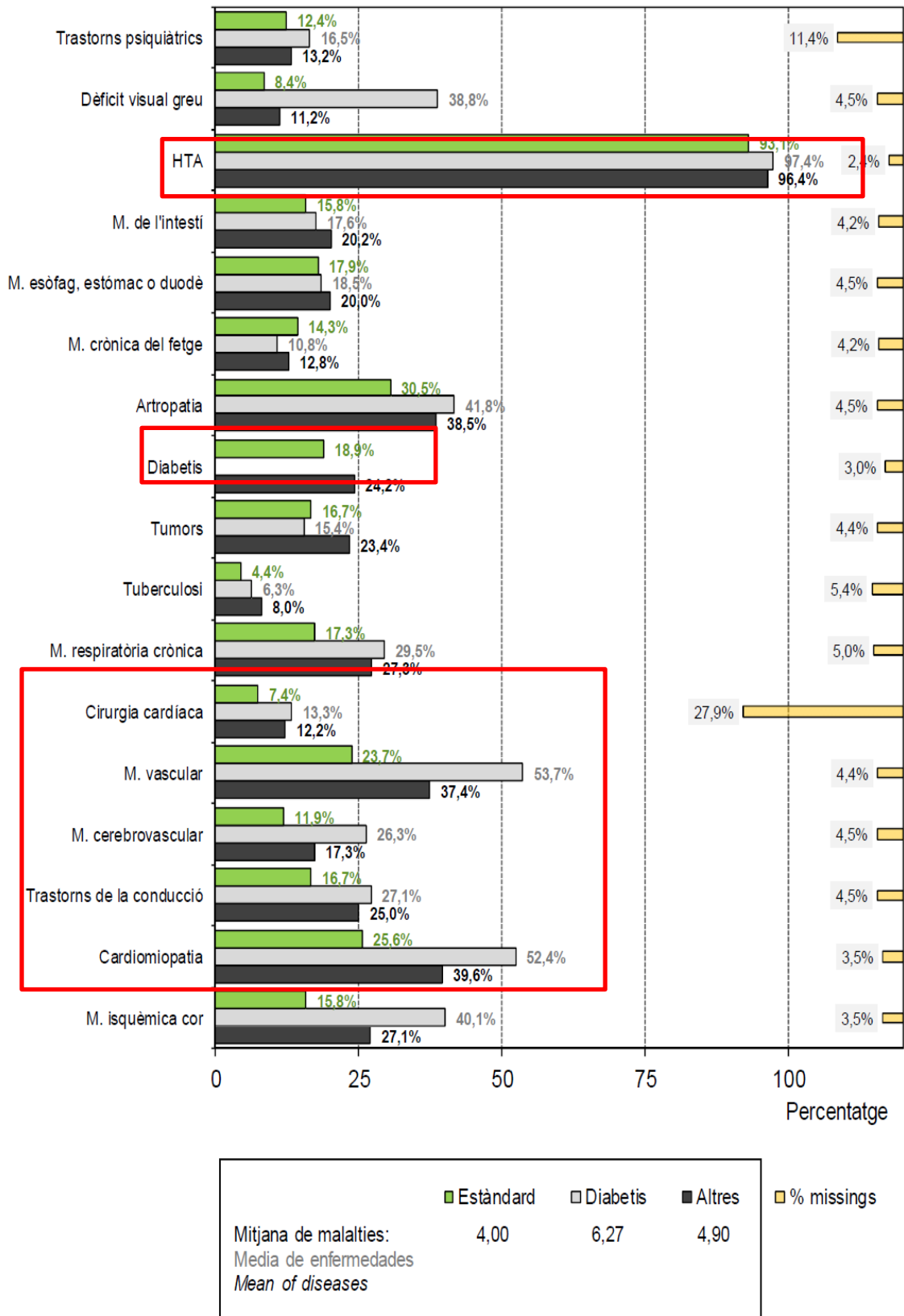


En nuestra área de referencia, el Registre de Malalts Renals de Catalunya (RMRC) confirma esta misma tendencia a lo largo de los años (16). La prevalencia de patología CV en nuestra población en hemodiálisis se sitúa en el 35.7%, y suponen unos 324 casos de muertes/año (22.7% de origen cardíaco y 14.1% de origen vascular) (Figura 4A y 4B).

**Figura 4A.** Distribución de las causas de muerte en pacientes en TRS. RMRC, 2015.

	n	%
<b>Desconegudes Desconocidas Unknown</b>	83	9,4
<b>Cardíacues Cardíacas Cardiac</b>	200	22,7
<b>Vasculars Vasculares Vascular</b>	124	14,1
<b>Infecçioses Infecciosas Infectious</b>	170	19,3
<b>Hepàtiques Hepáticas Hepatic</b>	6	0,7
<b>Socials Sociales Social</b>	116	13,2
<b>Neoplàsies Neoplasias Neoplasia</b>	94	10,7
<b>Miscel·lània Miscelania Miscellaneous</b>	89	10,1
<b>Total</b>	882	100

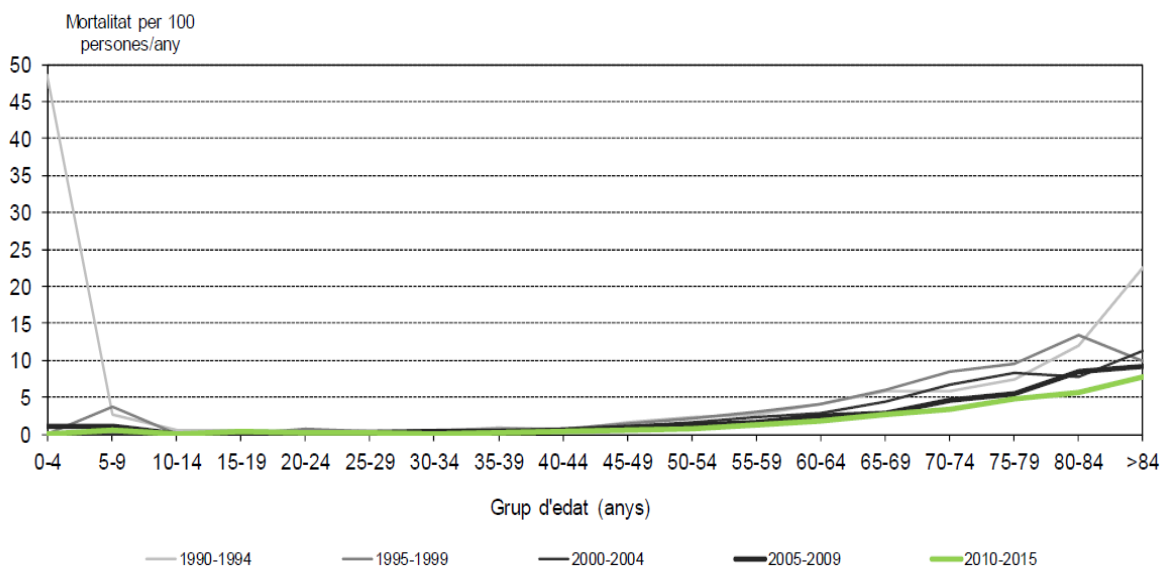
**Figura 4B.** Comorbilidades asociadas según la enfermedad renal primaria. Datos del RMRC, a 31 de Diciembre de 2015 (16).





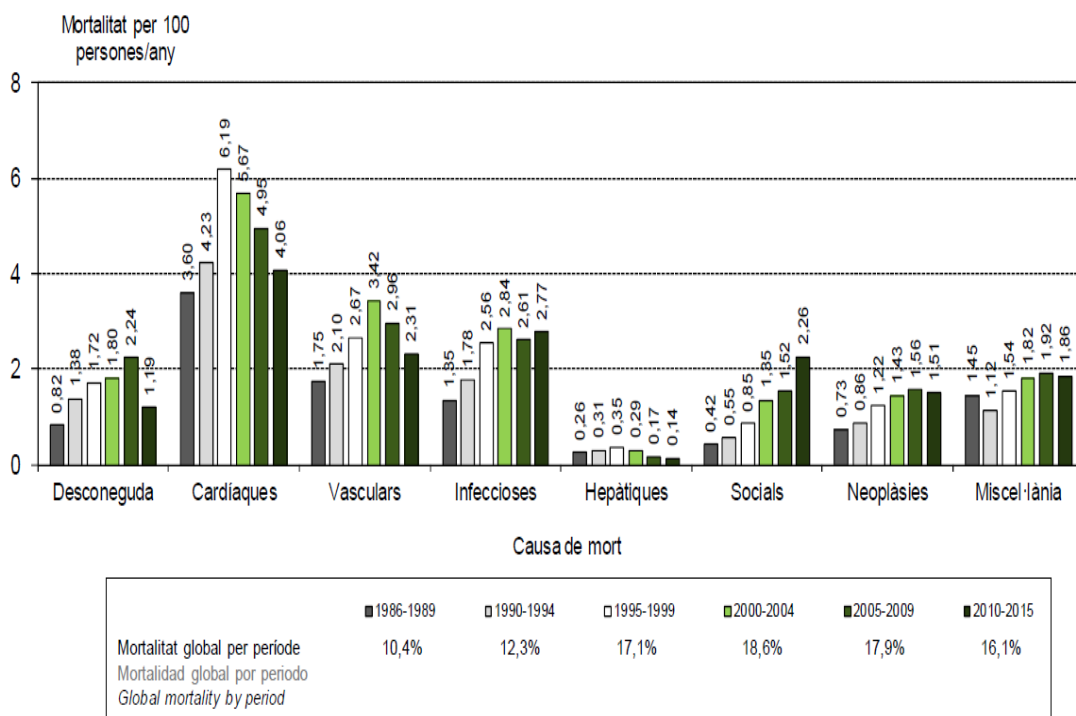
A pesar de que la tasa de mortalidad cardíaca y vascular ha ido disminuyendo durante los últimos años (Figura 5), continúan siendo la primera causa de muerte en esta población en Cataluña, tal y cómo se muestra en la Figura 6.

**Figura 5.** Mortalidad por causas cardíacas según grupo de edad y período de



tratamiento. Enfermos en TRS 1990-2015. RMRC, 2015.

**Figura 6.** Mortalidad según la causa de muerte y período de tratamiento. Enfermos en TRS 1986-2015. RMRC, 2015.



## **2.- Características fenotípicas de la enfermedad cardiovascular en la ERC terminal.**

La ERC se asocia con unas condiciones especiales que favorecen el desarrollo de complicaciones CV, ya que existen cambios a nivel del sistema cardiovascular que explicarían el peor pronóstico en estos pacientes. Estos pacientes presentan una mayor carga aterosclerótica con mayor afectación multivaso o más frecuente afectación de la arteria coronaria descendente anterior (17). Se ha postulado que el estado urémico *per se*, se asociaría con una aterosclerosis acelerada (18), en el que la técnica de diálisis posiblemente jugaría un papel contribuyente (19), lo que explicaría el elevado riesgo CV. Además, los pacientes con ERC presentan un aumento de la captación de <sup>18</sup>F-fluorodesoxiglucosa en la pared arterial de aorta y carótidas en el PET/SCAN, compatible con un estado inflamatorio vascular aumentado, y sus monocitos presentan un fenotipo proadhesivo y una capacidad migratoria *in vitro* aumentada, cambios que se relacionan inversamente con el FGe. Esto sugiere que el estado proinflamatorio asociado a la ERC contribuye al elevado riesgo CV en esta población (20). Además, sus lesiones ateroscleróticas presentan características diferenciales, un aumento del componente lipídico y “core necrótico”, una disminución del tapón fibroso, mayor contenido de calcio y mayor disrupción de la placa, lo que las hace más vulnerables (21). En este sentido, el score de calcificación coronaria es superior en esta población y se asocia con una mayor morbimortalidad (21).

En la ERC existe también una arteriosclerosis, caracterizada por un remodelado generalizado de la capa media, con un engrosamiento fibroso o fibroelástico de las fibras elásticas y musculares con disminución de las fibras elásticas, engrosamiento de la media y la íntima con pérdida de la integridad de las fibras de elastina y, como consecuencia de ello, un aumento de la rigidez arterial (22). La rigidez aórtica aumenta en un grado mucho mayor que la rigidez arterial periférica, disipando progresivamente el gradiente de la rigidez. Esto limita y disminuye progresivamente la reflexión parcial, y aumenta la transmisión de la oscilación de la presión arterial a la microcirculación periférica, favoreciendo el daño tisular en la microvasculatura de órganos de alto flujo y baja presión, como el cerebro y el riñón. Asimismo, produce un aumento de la postcarga y reduce la

perfusión coronaria, lo que favorece el desarrollo de hipertrofia ventricular izquierda (HVI), cardiopatía isquémica e insuficiencia cardiaca (23) (Figura 7). Diversos estudios han demostrado que la elasticidad de las grandes arterias (compliance) está disminuida en la uremia y que ello se asocia con una mayor morbimortalidad CV (24). Así, la velocidad de la onda de pulso a nivel de la aorta o la distensibilidad de la arteria carótida (como marcadores de rigidez arterial) son marcadores potentes e independientes de riesgo CV en pacientes con ERCT (25).

La calcificación vascular es más frecuente en pacientes con ERC y su prevalencia aumenta con la severidad de la enfermedad, agrava la rigidez arterial, aumenta la presión aórtica central y la presión del pulso y se asocia con un mayor riesgo de eventos CV y mortalidad (26). Aproximadamente el 70-80% de los pacientes presentan evidencia de calcificación vascular al inicio de diálisis (27). Asimismo, presentan una alteración de la microvasculatura con rarefacción capilar y una disfunción endotelial con alteración de la vasodilatación endotelio-dependiente (22).

La prevalencia de HVI en los pacientes con ERC es elevada y aumenta a medida que disminuye la función renal (28,29). La prevalencia oscila entre el 25-70% en pacientes con ERC y alcanza el 70% o más en pacientes con ERCT.

**Figura 7.** Efectos de la rigidez arterial sobre la patología cardiovascular.

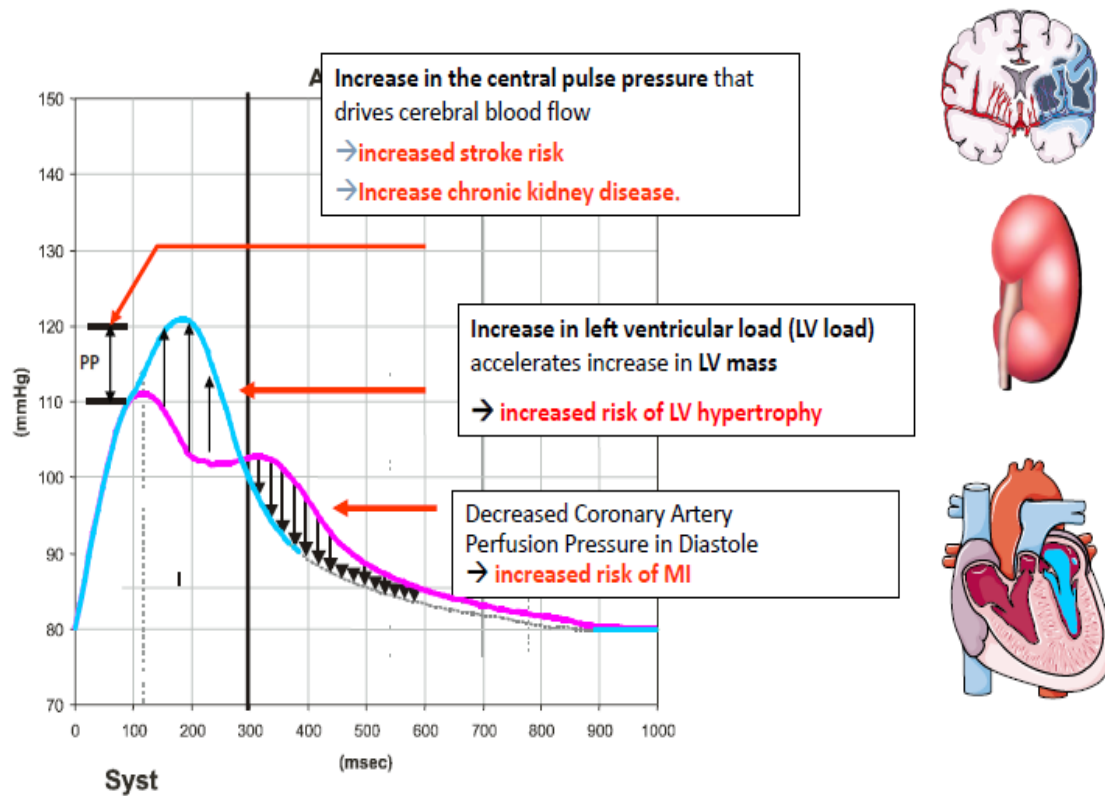


Figura gentileza del Dr. Gerard London (Paris, Francia).

Esta HVI es predominantemente concéntrica (30) y se considera una respuesta adaptativa a un incremento del trabajo cardíaco, clásicamente generado por un aumento de la sobrecarga de presión y/o de volumen, aunque en la ERC también están implicados mecanismos no hemodinámicos. Asimismo, se ha descrito un aumento de la fibrosis y de la matriz extracelular miocárdicas y una disminución de la densidad capilar a este nivel en la ERC, que constituye en su conjunto la miocardiopatía urémica. Además, la HVI induce una disminución de la reserva coronaria, que puede verse agravada por la rarefacción capilar y la disfunción endotelial presentes en la ERC. La fibrosis miocárdica en la ERC conlleva un aumento de la rigidez del ventrículo izquierdo (VI), una alteración del llenado diastólico del VI que puede afectar la función cardíaca y favorecer la disfunción diastólica (30). De hecho, la prevalencia de disfunción diastólica aumenta paralelamente al incremento de la masa del VI (29). Además, podría favorecer las arritmias ventriculares y muerte súbita, cuya prevalencia está muy aumentada

en esta población (31). En un estudio reciente, la HVI y la fracción de eyección del VI, entre otros, predecían de forma independiente el riesgo de eventos CV en pacientes con ERC (32). En estos pacientes también se ha descrito un aumento del volumen de la aurícula izquierda (30), atribuida a la disfunción diastólica, sobrecarga de volumen y el estado inflamatorio, el cual se ha asociado con un aumento del riesgo de mortalidad, eventos CV y progresión de la ERC (30, 33). Todo ello confiere un mayor riesgo CV y peor pronóstico tras una complicación CV en la ERC (Figura 8).

**Figura 8.** Cambios patológicos del sistema cardiovascular en la ERCT.

**Grandes vasos**

- Aterosclerosis
- Arteriosclerosis
- Calcificación vascular
- Rigidez arterial



**Microvasculatura**

- Engrosamiento de la pared arteriolar
- Hipertrofia FMLV
- Rarefacción capilar
- Disfunción endotelial

**Miocardiopatía**

- ↑ Grosor pared VI
- Aumento volumen cavidad
- Disminución número miocardiocitos
- Aumento fibrosis
- Aumento tejido adiposo
- Calcificación coronaria
- Rarefacción capilar/DE
  - Disminución de la reserva de flujo coronario
- Dilatación AI
- Calcificación valvular

FMLV: fibra muscular lisa vascular. VI: ventrículo izquierdo. DE: disfunción endotelial, AI: aurícula izquierda

### **3.- Factores de Riesgo Cardiovascular y eventos CV en la ERCT**

La prevalencia de factores de riesgo “clásicos” (la hipertensión arterial, la diabetes, la dislipemia, el tabaquismo, el sedentarismo o la HVI) y de ECV es elevada en los pacientes renales, lo que podría explicar el exceso de morbimortalidad CV que presentan. Sin embargo, esta mayor prevalencia de comorbilidad y de factores de riesgo CV clásicos (Framingham) en pacientes urémicos, no explican totalmente su mayor riesgo CV (9). De hecho, los estudios publicados, han demostrado que el *score* de Framingham infraestima el riesgo CV en esta población (9-12, 34). Por ello, se ha postulado que factores de riesgo alternativos (nuevos o emergentes y/o asociados a la ERC) favorecerían el desarrollo de aterosclerosis y arteriosclerosis en la uremia. Además, la asociación entre los factores de riesgo CV tradicionales y la incidencia de eventos cardiovasculares en la ERC es más compleja y aparentemente paradójica por el denominado fenómeno de la epidemiología inversa: es decir, la asociación directa y lineal entre los factores de riesgo clásicos (como hipertensión, hipercolesterolemia, obesidad e hiperhomocisteinemia) y riesgo CV en la población general, no existe, o incluso parece invertirse, en pacientes con ERC avanzada o terminal (35). Asimismo, la prescripción de fármacos que reducen el riesgo CV en la población general, como estatinas o inhibidores del sistema renina-angiotensina, no han demostrado beneficio en pacientes con ERCT (36,37).

La prevalencia de los nuevos factores de riesgo CV antes mencionados es elevada en el paciente renal, y podrían jugar un papel importante en el desarrollo de las complicaciones cardiovasculares (38,39).

Aunque los eventos ateroscleróticos oclusivos que afectan a arterias coronarias, cerebrales o periféricas representan un porcentaje importante de los eventos CV en la población en diálisis (10,12), no es menos importante el riesgo de eventos CV de origen no aterosclerótico, asociados con la miocardiopatía urémica, la enfermedad microvascular y la disminución de la compliance arterial a nivel de aorta y grandes vasos de conductancia (arteriosclerosis), debido a un remodelado arterial patológico y a las calcificaciones vasculares (40,41). Entre

estos eventos destaca la elevada prevalencia de muerte súbita, posiblemente por arritmias malignas, que es la principal causa de muerte en los pacientes en hemodiálisis (42,43).

Además, estos pacientes han sido sistemáticamente excluidos de los estudios de intervención que han demostrado una reducción del riesgo CV con diferentes aproximaciones farmacológicas en la población general, mientras que los ensayos clínicos aleatorizados realizados hasta la fecha en esta población han demostrado consistentemente un escaso o nulo beneficio en la supervivencia, tanto con el aumento de la dosis de diálisis, como con medidas de soporte nutricional, la reducción de niveles de homocisteína, la normalización de los niveles de hemoglobina con agentes estimuladores de la eritropoyesis, el tratamiento de la dislipemia con estatinas o el tratamiento con inhibidores del sistema renina-angiotensina (inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina [IECAs] o antagonistas del receptor de la angiotensina [ARA2]). Finalmente, el pronóstico tras un evento CV es peor en los pacientes en diálisis respecto a la población general o los pacientes con ERC no en diálisis (42).

Así pues, tanto la patología CV, como el perfil de factores de riesgo CV difieren sustancialmente del de la población general, lo que puede explicar los resultados desalentadores en este grupo de pacientes.

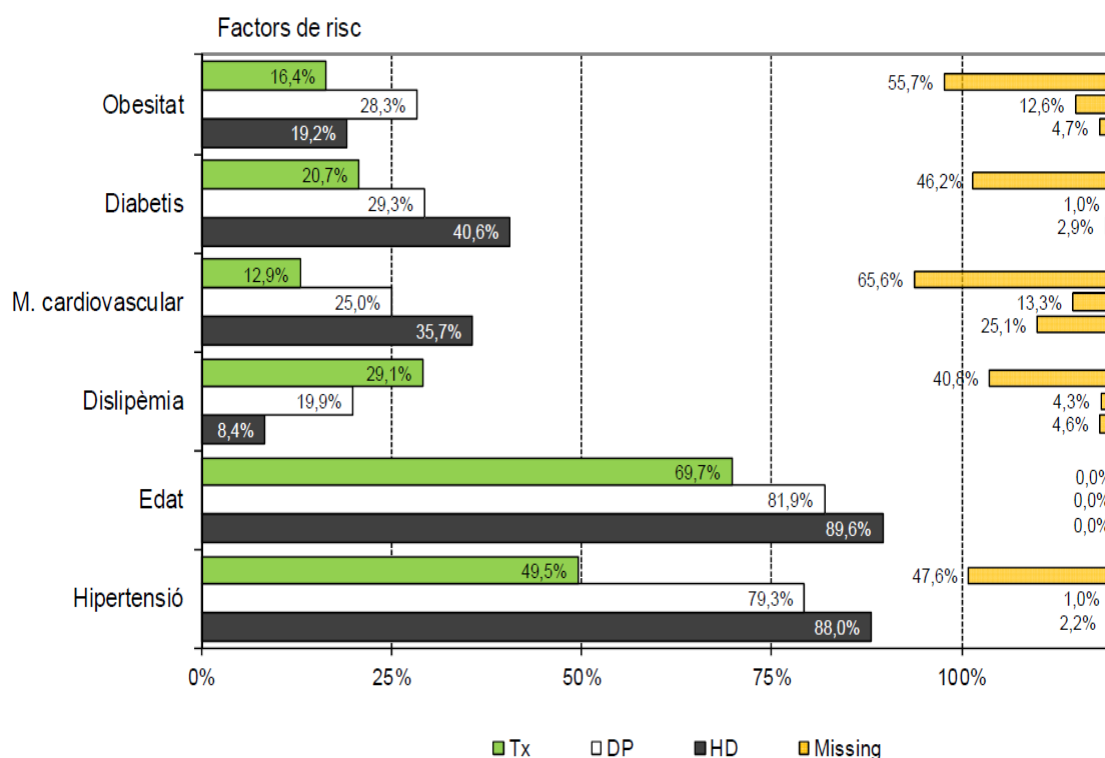
Actualmente hay en marcha estudios diseñados específicamente para valorar el papel relativo de los diferentes factores de riesgo CV en esta población, entre ellos el proyecto NEFRONA en España (44). El definir la importancia relativa de cada factor de riesgo CV en este grupo de pacientes tiene relevancia clínica, ya que están muy polimedificados por sus múltiples complicaciones, y deberán priorizarse aquellos tratamientos que demuestren un beneficio sobre la morbimortalidad CV.

#### 4.- Importancia de los factores de riesgo CV: clásicos, nuevos y asociados a la uremia.

##### 4.1- Factores de riesgo CV clásicos o tradicionales.

La prevalencia de factores de riesgo CV clásicos es elevada en esta población (Figura 9). Sin embargo, a pesar de esta elevada prevalencia, el papel que juegan estos factores, parece ser menos relevante en estos pacientes tal y cómo ya se ha referido previamente y se discute a continuación (34).

**Figura 9.** Factores de riesgo cardiovascular en pacientes en TRS. RMRC, 2015 (16).



##### 4.1.1.- Hipertensión arterial (HTA).

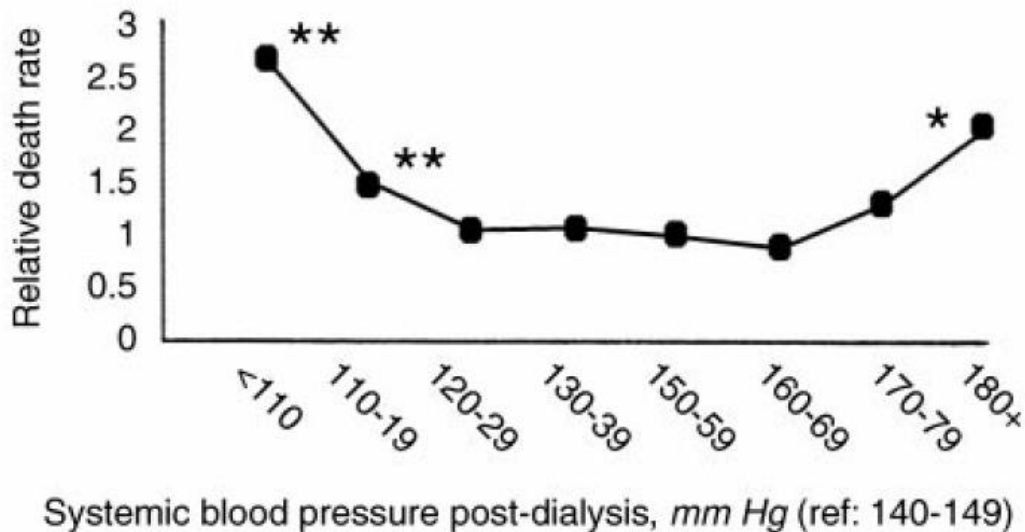
Al inicio del TRS, el 80-90% de los pacientes en hemodiálisis y alrededor del 30% en diálisis peritoneal tienen una presión arterial (PA) >140/90 mmHg. Esta cifra posteriormente desciende al 50-60% debido al mejor control de la volemia. El estudio Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS) refleja que



el 77,4% de los pacientes que inician hemodiálisis en España tienen HTA (45). La mayoría tienen HTA sistólica aislada y un aumento de la presión del pulso, como consecuencia de la rigidez arterial debida a la arterioesclerosis difusa. Además, la HTA nocturna con un patrón patrón circadiano “*non-dipper*” es frecuente en los pacientes en diálisis, posiblemente debido a sobrehidratación, síndrome de apnea obstructiva del sueño y/o a una neuropatía autonómica (46).

La relación entre el nivel de PA y la mortalidad en esta población muestra una forma de curva en “U” o “J” invertida, con un exceso de la misma tanto con las cifras más altas como las más bajas (Figura 10) (47). Además, un descenso de la PA durante el seguimiento en estos pacientes se asocia con un peor pronóstico, probablemente porque en muchos casos traduce una miocardiopatía subyacente.

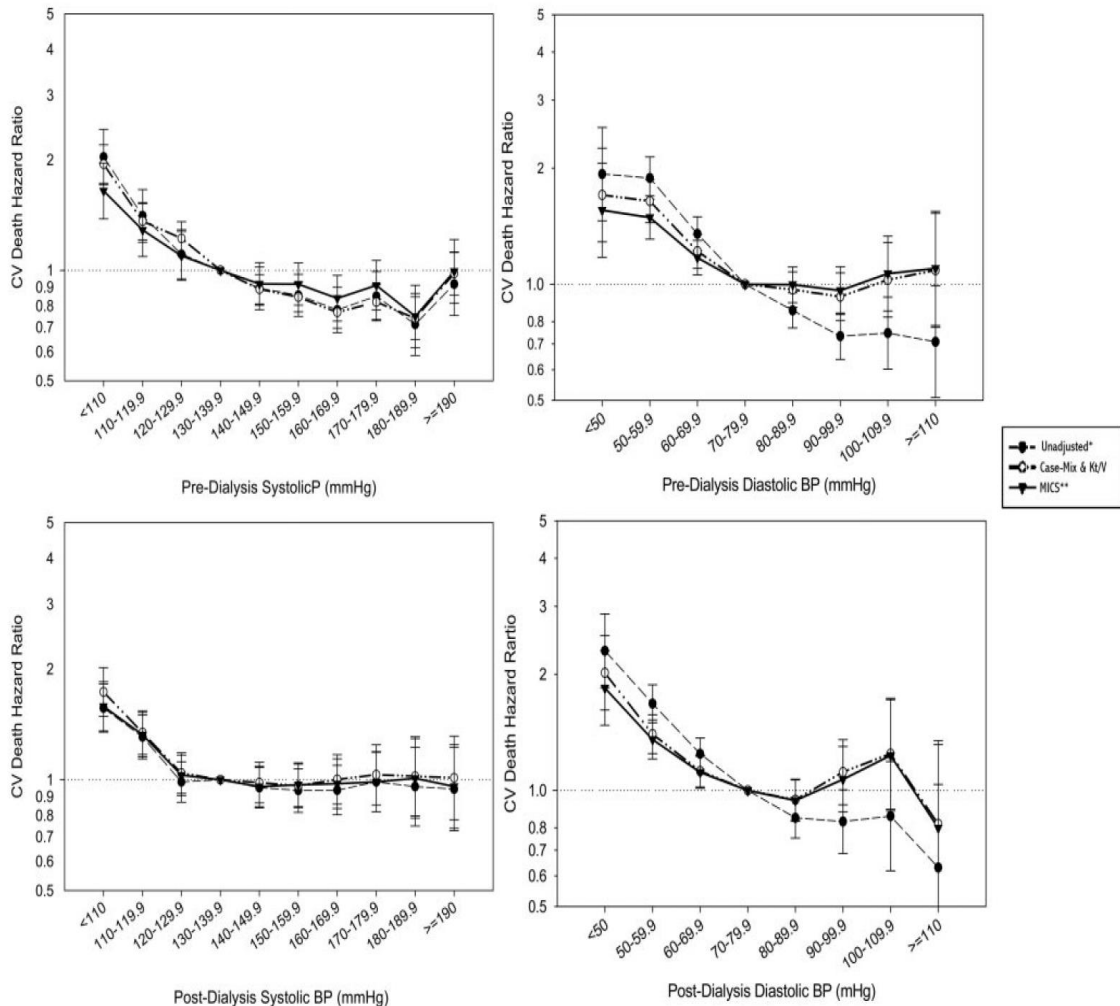
**Figura 10.** Relación en curva en “U” entre PAS posthemodiálisis y mortalidad cardio/cerebrovascular, en pacientes en hemodiálisis (Zager et al. 47).



Estos resultados se han confirmado en otros estudios. Así Kalantar-Zadeh K et al, en un análisis de 40933 pacientes en hemodiálisis (48) demostró que la PA sistólica prediálisis era predictor de mortalidad total y cardiovascular, y que tras

ajustar por la presencia de síndrome de malnutrición-inflamación-aterosclerosis (MIA), sólo la PA más baja se asoció con una mayor mortalidad (Figura 11).

**Figura 11.** Asociación entre la PA y muerte CV en 40933 pacientes en programa de HD crónica (Kalantar-Zadeh K et al. 48).



Sin embargo, la relación entre niveles de PA y mortalidad varía a lo largo del tiempo en esta población, de manera que en aquellos pacientes que sobreviven más de tres años en TSR es la PAS elevada la que se asocia con mayor mortalidad (49). Además, mantener el objetivo de control tensional según las guías KDOQI, se asocia paradójicamente con un aumento del 90% del riesgo de mortalidad frente a aquellos que no lo alcanzan (50). En un análisis del estudio DOPPS, el riesgo de mortalidad aumenta un 20% en el grupo con PAS 110-129 mmHg en comparación con el grupo de PAS>160 mmHg, y el grupo con mejor

supervivencia es aquel con PAS entre 130-159 mmHg (51), aunque se trata de un estudio observacional y no de intervención.

Así pues, a diferencia de lo que ocurre en la población general, las recomendaciones sobre objetivos de control tensional en esta población no están claras, debido a la falta de evidencia y a la relación inversa o en “U” entre niveles de PA y mortalidad (47). Hasta el momento no existe ningún estudio controlado en pacientes en diálisis que relacione diferentes objetivos de PA a alcanzar con la mortalidad CV o la mortalidad total. De hecho, las guías han optado por extrapolar los objetivos de la población general para tener una referencia de actuación clínica. Mientras la Sociedad Española de Nefrología (S.E.N) aconseja mantener la PA más baja que sea tolerada por el paciente, sin episodios de hipotensión intradiálisis, las guías K/DOQI recomiendan un objetivo de PA prediálisis <140/90 mmHg e <130/90 mmHg postdiálisis, pero reconociendo que un control más estricto de la PA se asocia a un aumento de episodios de hipotensión intradiálisis (52), la cual se ha asociado también con un peor pronóstico.

Por ello, el objetivo de control de la PA en esta población debe individualizarse en función de la edad, comorbilidades asociadas, fragilidad, tolerancia a la sesión de hemodiálisis (estabilidad hemodinámica), etc.

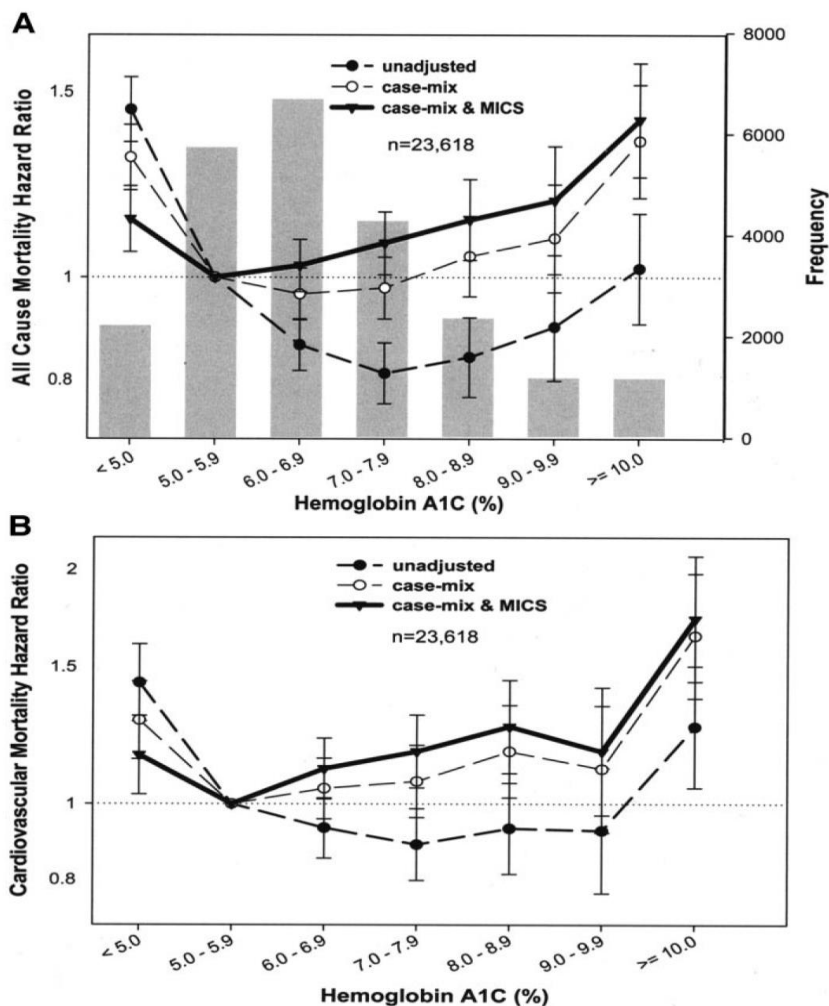
#### **4.1.2.- Diabetes Mellitus.**

La diabetes mellitus (DM) es actualmente la principal causa de ERCT que precisa TSR en el mundo occidental, con una prevalencia en Estados Unidos del 50% y en España del 21.7%.

En la DM tipo 1, la mortalidad por nefropatía diabética está descendiendo debido al mejor control glucémico. En cambio en la DM tipo 2, la prevalencia ascendente y el descenso de la mortalidad CV por el mejor control de los factores de riesgo asociados (HTA, dislipemia, tabaquismo) ha producido un aumento de los casos de nefropatía diabética y de sus complicaciones.

Durante los últimos años, la supervivencia de los pacientes diabéticos en diálisis ha aumentado ligeramente a pesar del envejecimiento de la población. Sin embargo, la morbimortalidad sigue siendo significativamente mayor que en los no diabéticos (42), alrededor del 20% anual y sólo el 31% sobreviven a los 5 años. Este peor pronóstico se debe a la progresión de las enfermedades coexistentes, sobre todo cardiovasculares, que representan la principal causa de muerte (Figura 12) (53).

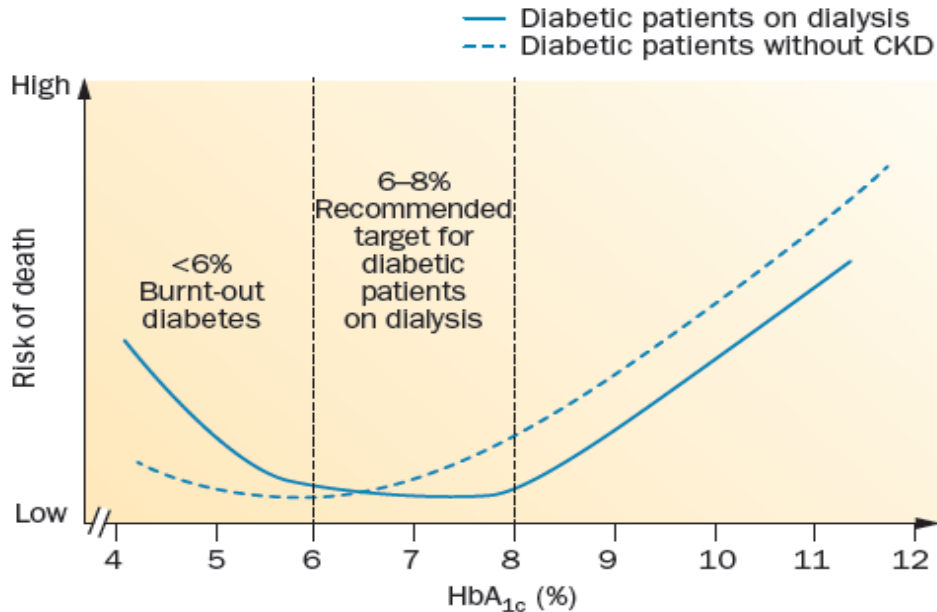
**Figura 12.** Riesgo de mortalidad por todas las causas (A) y cardiovasculares (B) ajustada y no ajustada según intervalos de HbA1C en 23618 pacientes diabéticos en HD (Kalantar-Zadeh K, 53).



La relación entre el grado de control glicémico y la supervivencia en HD muestra también una relación en “U” en estudios observacionales (54). Un excesivo control glicémico se asociaría a más complicaciones, mayor riesgo de

hipoglicemia y peor supervivencia, sobre todo en pacientes de mayor edad (Figura 13).

**Figura 13.** Riesgo de muerte en relación a niveles de Hb glicosilada: Metaanálisis (Hill CJ et al.) (54).



Otro aspecto a destacar es el mayor riesgo de hipoglicemia en esta población, la cual se ha asociado a un aumento de la morbimortalidad, lo que complica el tratamiento y conseguir los objetivos de control glicémico (55).

Respecto a la idoneidad de la HbA<sub>1c</sub> como medida del control glicémico en esta población, existen circunstancias que limitan su precisión. Por un lado, la uremia favorece la formación de carbamilo de hemoglobina que interfiere en la determinación de HbA<sub>1c</sub> (falsamente elevada); por otro lado se pueden producir valores falsamente más bajos por la menor vida media de los eritrocitos y el aumento de eritropoyesis con el tratamiento con agentes estimuladores de la eritropoyesis. La albúmina glicosilada y la fructosamina podrían ser mejores marcadores del control glucémico que la HbA<sub>1c</sub> en pacientes en diálisis, pero no se encuentran ampliamente disponibles y sus ventajas potenciales no se han validado en estudios a largo plazo (56,57).

Por todo lo anteriormente citado, las guías clínicas tampoco se ponen de acuerdo sobre los objetivos de control glicémico en esta población (KDOQI, KDIGO, ERA-EDTA), por lo que al igual que en el capítulo anterior los objetivos de control glicémico deberán individualizarse teniendo en cuenta la edad, comorbilidades, fragilidad, riesgo de hipoglicemia, tipo de tratamiento hipoglucemiante, etc.

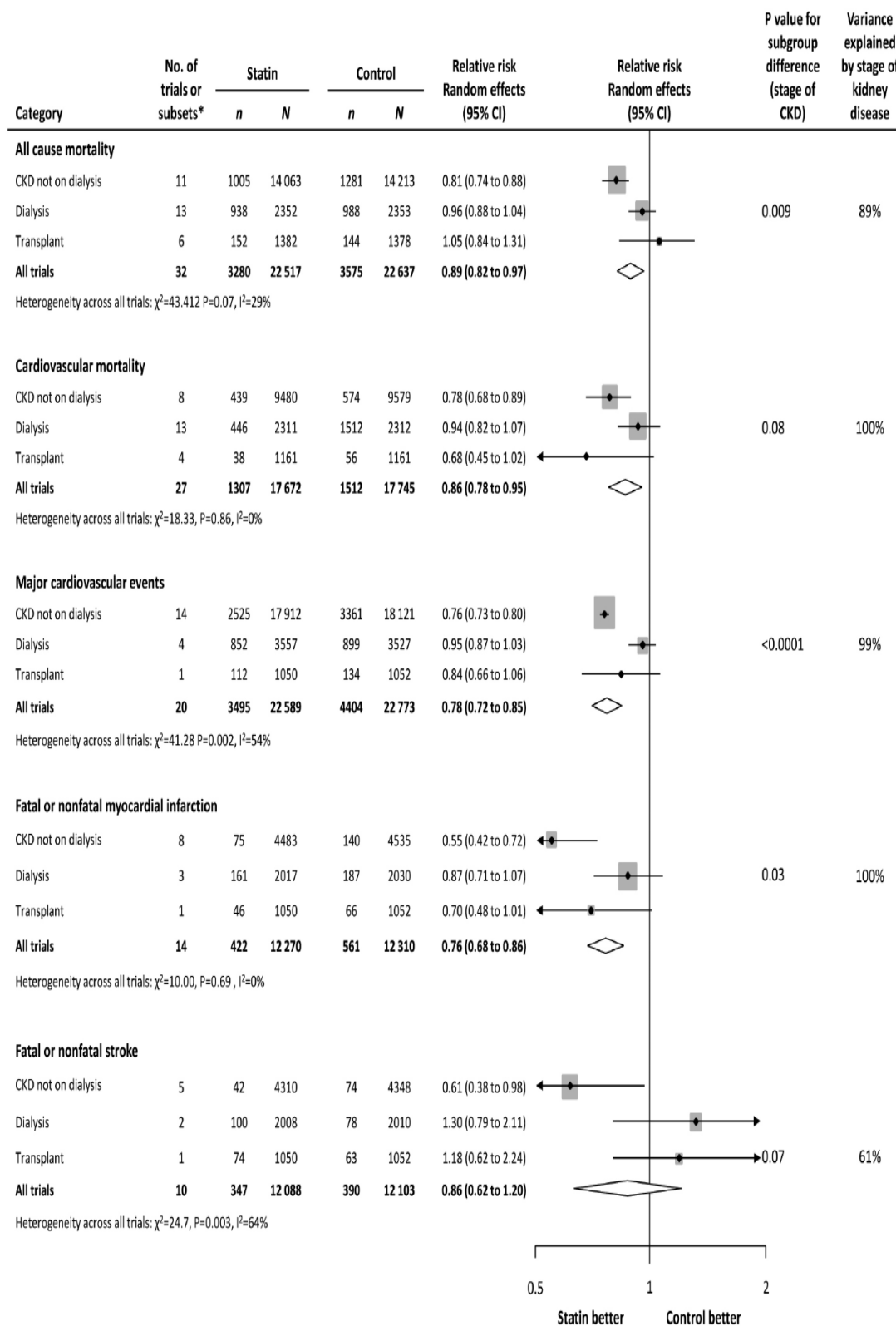
#### **4.1.3.- Dislipemia.**

La relación entre mortalidad y grado de dislipemia en pacientes con ERCT también es contradictoria. Existe una correlación paradójica o inversa entre los niveles de colesterol total y mortalidad en pacientes en diálisis, la cual es atribuida al efecto confusor de la malnutrición y la inflamación sobre la mortalidad (58,59).

En los estudios de intervención, a pesar de reducciones significativas de los niveles de LDL-c en el rango esperado, los estudios 4D, AURORA y SHARP en pacientes en hemodiálisis no mostraron que el tratamiento con estatinas o estatina/ezetimibe redujeran el riesgo de eventos CV (39,60-66), aunque, en un análisis post hoc del estudio 4D se evidenciaron beneficios en pacientes diabéticos y con niveles de LDL-c > 145 mg/dl (63). Además, diferentes metaanálisis (67-69) tampoco han demostrado un beneficio del tratamiento con estatinas sobre la reducción de eventos CV ateroscleróticos o la morbimortalidad CV en esta población. (Figura 12)

Por todo lo anterior, las guías KDIGO del año 2013 (70) recomiendan no iniciar tratamiento con estatinas o estatina/ezetimibe en esta población (Grado 2A), pero sugieren no suspender el tratamiento en caso de que ya lo estén recibiendo al iniciar diálisis (Grado 2C).

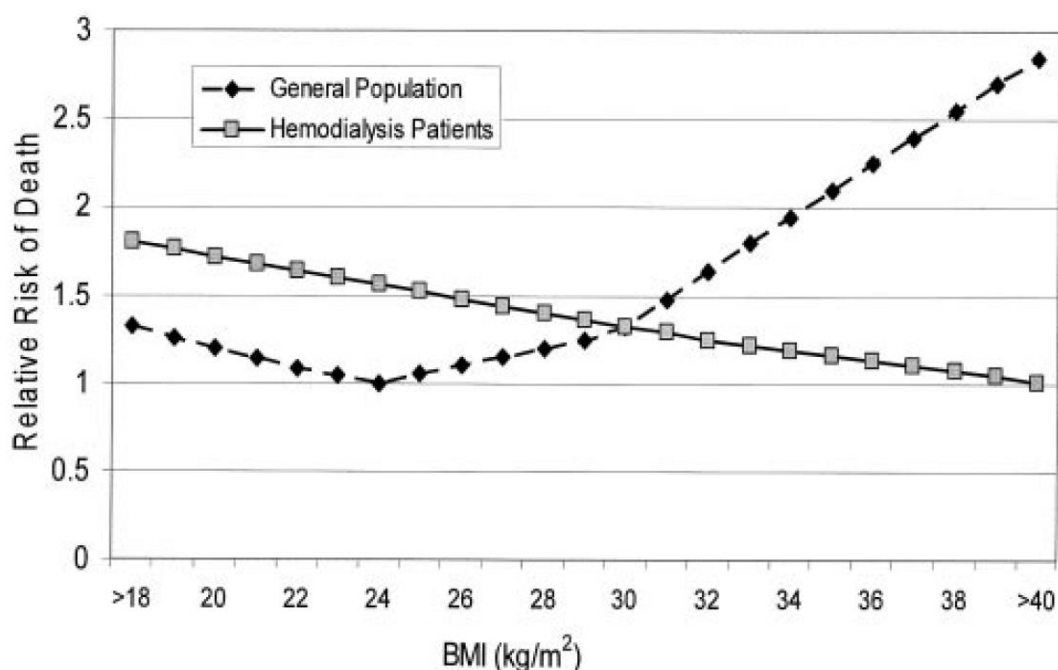
**Figura 14.** Efecto del tratamiento con estatinas versus placebo o control sin tratamiento sobre la mortalidad total y CV y sobre los principales eventos CV, agrupados por estadio de la enfermedad renal crónica (Palmer SC, et al 68).



#### 4.1.4.- Obesidad.

En la población general, un mayor índice de masa corporal (IMC) se asocia con mayor tasa de muerte por todas las causas y por ECV. Sin embargo, en la población de pacientes con ERCT, esta relación no es directa, sino que existe una relación inversa entre el IMC y la mortalidad total o CV, lo que se ha explicado también por el fenómeno de epidemiología inversa: los pacientes con ERC en diálisis presentan un estado proinflamatorio y de malnutrición asociado a un proceso de aterosclerosis acelerada (síndrome MIA) (Figura 15) (71). Este proceso condiciona una malnutrición progresiva con un IMC bajo, el cual es un potente predictor de mortalidad, especialmente a corto plazo.

**Figura 15.** Fenómeno de epidemiología inversa de la obesidad en pacientes en hemodiálisis en comparación con la población general (71).



Sin embargo, otros estudios que han analizado la relación entre grasa visceral y morbimortalidad CV sí han observado una relación directa con eventos, como en la población general, lo que complica la interpretación de los resultados anteriores, y sugiriendo que la obesidad central si es un factor de mal pronóstico en esta población, especialmente a medio-largo plazo (72-74).

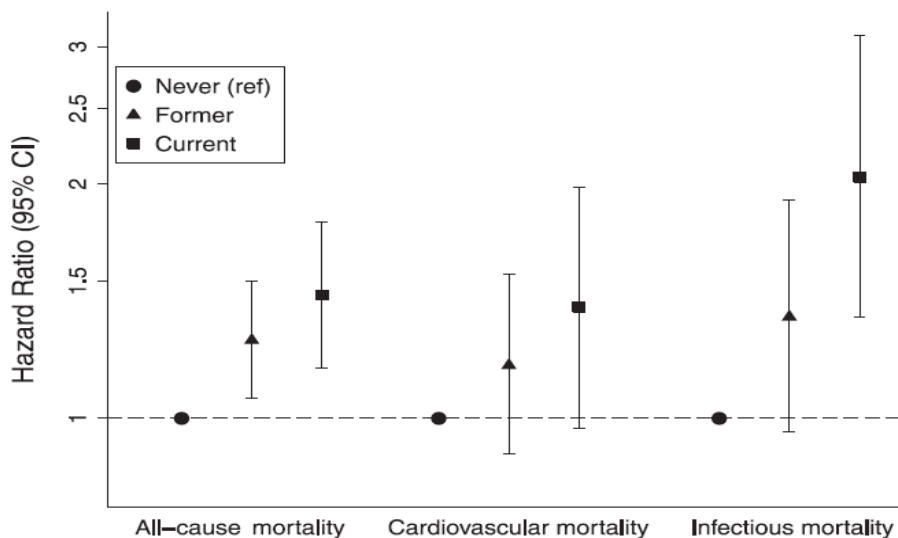


#### 4.1.5.- Tabaquismo.

El consumo de tabaco es la causa más común de mortalidad CV evitable en todo el mundo. Los efectos nocivos inmediatos de fumar están relacionados con la activación del sistema nervioso simpático, lo que aumenta el consumo miocárdico de oxígeno a través de un aumento en la presión arterial, la frecuencia cardíaca y la contractilidad miocárdica. Además, fumar induce un progresivo incremento de la rigidez arterial y es un factor de riesgo mayor de enfermedad CV y de cardiopatía isquémica, enfermedad cerebrovascular y enfermedad cardiovascular aterosclerótica total (75).

En pacientes con ERC avanzada, fumar es también un factor de riesgo CV y se asocia con un mayor riesgo de desarrollo de infarto agudo de miocardio (IAM), vasculopatía periférica, insuficiencia cardíaca y mortalidad. Sin embargo, a diferencia de la población general, hay pocos estudios que demuestren los beneficios del cese tabáquico sobre el riesgo CV en pacientes en diálisis. En un análisis post-hoc del estudio HEMO, se observó una mayor mortalidad total y una tendencia no significativa a un mayor riesgo CV en fumadores activos respecto a los no fumadores (Figura 16) (76). A pesar de ello, el abandono del tabaco debería de ser un objetivo terapéutico.

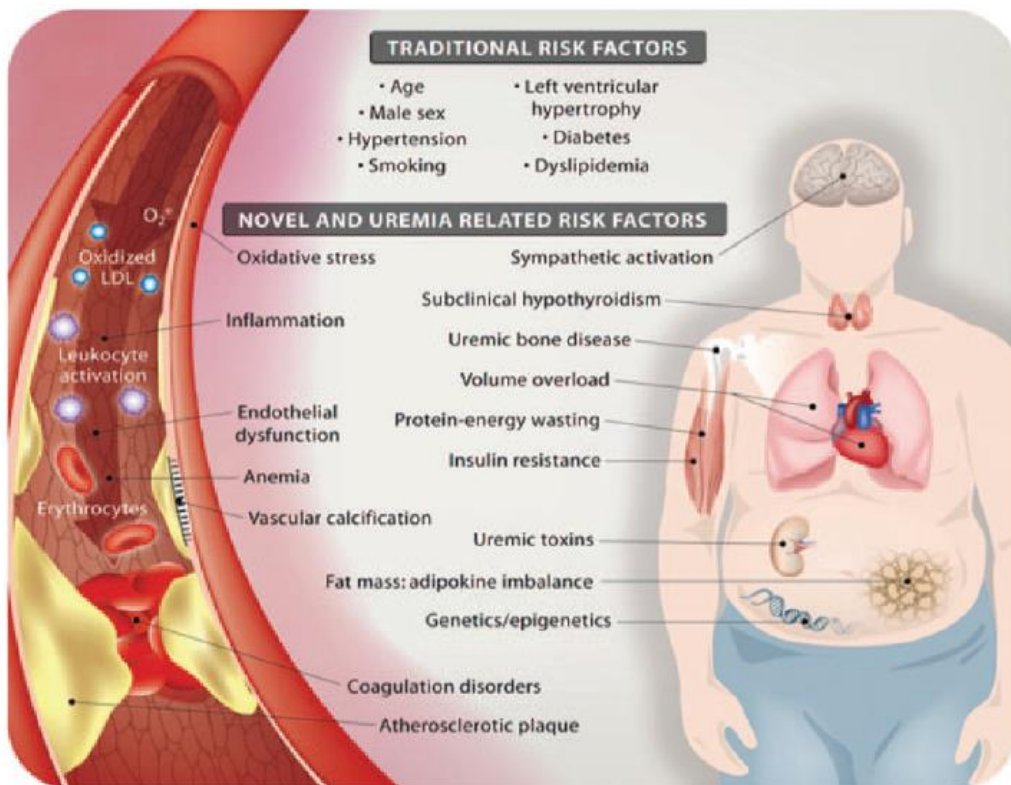
**Figura 16.** Riesgo ajustado de mortalidad para todas las causas, CV y mortalidad relacionada con la infección según el estado basal de tabaquismo (76).



#### 4.2.- Factores de riesgo CV relacionados con la uremia y factores emergentes o nuevos.

Existen factores de riesgo no tradicionales y alteraciones metabólicas observadas en el entorno urémico que pueden contribuir al riesgo excesivo de ECV en esta población (Figura 17). La inflamación, la disfunción endotelial, la hiperactividad simpática; los nuevos marcadores, como la lipoproteína (a), o la hiperhomocisteinemia; la malnutrición proteico-energética (PEW o desgaste energético-proteico) o el estrés oxidativo, son altamente prevalentes en estos pacientes y parecen jugar un papel mucho más importante en el desarrollo de la enfermedad vascular que en la población general (77). Además, a estos nuevos factores se le suman las complicaciones propias de la ERCT, como las alteraciones del metabolismo óseo-mineral, la hipervolemia, la acidosis metabólica, la anemia o la acumulación de toxinas urémicas, etc, que también podrían contribuir a la elevada morbimortalidad CV (78-81).

**Figura 17.** Factores de riesgo cardiovascular tradicionales, emergentes y asociados a la uremia (Stenvinkel P et al., 18).



Los pacientes urémicos presentan un estado inflamatorio crónico de origen multifactorial, que se ha implicado en múltiples complicaciones de la IRC, entre ellas la enfermedad CV aterosclerótica, la disfunción endotelial, la malnutrición, la anemia o la propia mortalidad. El estado inflamatorio parece estar implicado de forma estrecha con el elevado riesgo CV en esta población y en los últimos años se están diseñando estrategias dirigidas a su tratamiento con el fin de reducir sus complicaciones (22,78,81). Así, niveles circulantes elevados de marcadores inflamatorios, como IL-6 (82), IL-18 (83), fibrinógeno (84), mieloperoxidasa (85) o proteína C reactiva (PCR) (86) se han asociado consistentemente con la morbilidad y mortalidad cardiovascular en la ERC. Sin embargo, la relación entre estos mediadores inflamatorios y el pronóstico CV en la ERC, no implica causalidad, por lo que se requieren más estudios que demuestren este papel causal y que un tratamiento específico para reducir la inflamación reduzca el riesgo CV en esta población, como por ejemplo ha demostrado el estudio CANTOS con canakinumab en pacientes no renales de alto riesgo CV y niveles elevados de PCR (87).

La hiperhomocisteinemia es otro factor de riesgo CV emergente en la población general y es muy prevalente en la población en diálisis. Aunque existen múltiples mecanismos plausibles por los cuales este aminoácido sulfurado puede promover la disfunción endotelial y la enfermedad vascular, los estudios clínicos que relacionan la homocisteína plasmática total con la ECV en los pacientes en hemodiálisis han mostrado resultados contradictorios (88,89). De hecho, estudios recientes muestran que los niveles bajos de homocisteína están paradójicamente asociados con un peor pronóstico, lo que también se ha atribuido al fenómeno de la epidemiología reversa. Además, los tratamientos que reducen la hiperhomocisteinemia en esta población no han demostrado reducir el riesgo CV en la misma (90).

Los niveles plasmáticos de dimetilarginina simétrica (ADMA), un inhibidor endógeno de la síntesis de óxido nítrico, están aumentados en pacientes con insuficiencia renal y los niveles elevados de ADMA (91,92,93) son predictores de eventos CV en esta población. Además, se ha descrito su efecto sinérgico negativo con otros FRCV.

Existe una evidencia creciente de que los pacientes con ERC presentan un estrés oxidativo (OS) aumentado, incluso en etapas tempranas, que se agrava en estadios más avanzados de la ERC y es más severo en los pacientes con ERCT que precisan diálisis (94). El estrés oxidativo junto con la inflamación son elementos clave en el desarrollo y la progresión de disfunción endotelial, la calcificación vascular, y mortalidad total y CV en esta población. Aunque los estudios que han analizado los efectos de diferentes tratamientos antioxidantes sobre la morbimortalidad CV son pequeños e impiden sacar conclusiones definitivas, un reciente metaanálisis parece demostrar un efecto beneficioso del tratamiento antioxidante en esta población (94,95).

También los marcadores cardíacos se han asociado a un peor pronóstico en esta población. Así, los niveles elevados de troponina-I, un marcador de daño miocárdico, es un predictor de mortalidad CV y total en pacientes urémicos (88,96,97). Otro marcador de riesgo que ha despertado el interés entre los nefrólogos como predictor de eventos cardiovasculares en la ERC es el biomarcador cardíaco dependiente del volumen (pro-péptido natriurético cerebral N-terminal o NT-proBNP) y que también se ha asociado con un peor pronóstico CV (98). Ello tiene sentido pues serían marcadores de la severidad de la miocardiopatía urémica antes mencionada.

Las alteraciones del metabolismo óseo-mineral (hiperfosforemia, hiperparatiroidismo, déficit de vitamina D, niveles bajos de  $\alpha$ -klotho soluble y aumento de FGF-23), se han asociado a mayor rigidez arterial y el grado de calcificación vascular (99,100) Otras proteínas implicadas también en la calcificación vascular, como la osteoprotegerina, la fetuina-A, o la esclerostina, también se han asociado con una mayor mortalidad en estos pacientes (101,102). De hecho, se está implicando de forma creciente las alteraciones “clásicas” y nuevas del metabolismo óseo-mineral asociado a la ERC con la morbimortalidad total y CV (103-105).

El remodelado vascular urémico y la calcificación vascular, agravados por las alteraciones del metabolismo óseo-mineral anteriormente descritas, son altamente prevalentes en esta población y tienen implicaciones pronósticas. El análisis del estado vascular y de calcificación carotídea, ha mostrado valor

predictivo, tanto en la población general como en hemodiálisis, con algunas características diferenciales (22,106-108).

En la ERCT se ha descrito una dislipemia aterogénica, caracterizada por alteraciones cuantitativas y cualitativas. El patrón lipídico se caracteriza por unos valores de colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) bajos y de triglicéridos elevados, mientras que el colesterol total y el colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) muestran valores normales o ligeramente elevados. Además, las concentraciones de partículas de LDL pequeñas y densas, que son más aterogénicas, también están aumentadas. Asimismo, los valores de LDL-oxidada y de lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), que son altamente aterogénicas, están aumentados en la ERC. Además, las partículas de HDL-c muestran cambios en su composición y son disfuncionantes, y existen modificaciones postranslacionales de las partículas de LDL-c (como la oxidación o la carbamitación) que favorecen su aterogenicidad (109).

La Lp(a) tiene un efecto proaterogénico muy marcado, sus niveles están aumentados en los pacientes en diálisis y sus niveles elevados predicen el desarrollo de enfermedad ateromatosa carotídea y eventos vasculares en pacientes en diálisis. Sin embargo, su determinación no está generalizada, lo que puede atribuirse a que el tratamiento actual (estatinas o ezetimiba) no reducía sus niveles, hasta la aparición de los iPCSK9. Es verosímil que la acumulación de Lp(a) y LDL pequeñas y densas que son proaterogénicas contribuyan al estrés oxidativo y la inflamación en la ERC y tengan un papel significativo en la aterogénesis de estos pacientes independientemente de los niveles de colesterol total o LDL (110-112).

También recientemente se han descrito cambios en la diversidad y composición de la microflora intestinal, sobrecrecimiento bacteriano en intestino delgado, duodeno y yeyuno en la ERC. Las proteínas que alcanzan el colon son degradadas por la microflora intestinal produciendo, aminas, tioles, fenoles e índoles. Estos productos de la fermentación en colon son absorbidos pasan al torrente circulatorio y son eliminados por el riñón, por lo que se acumulan en la ERC. Los índoles y fenoles son toxinas urémicas ligadas a proteínas, que se

eliminan principalmente por secreción tubular y son pobremente eliminadas mediante la diálisis. Entre las toxinas urémicas derivadas de la microflora intestinal en la ERC están: el indoxil sulfato, p-cresol, o trimetilamina N-óxido (TMAO), que se han asociado a disfunción endotelial, efectos deletéreos sobre la fibra muscular lisa vascular, miocardiocitos, o células tubulares renales entre otras, así como con calcificación y rigidez arterial, enfermedad CV o progresión de la enfermedad renal (113,114).

Esta revisión no pretende ser exhaustiva, sino contextualizar el problema a tratar en la presente tesis doctoral. El papel de los numerosos marcadores de riesgo CV ha sido el tema de extensas revisiones, tanto en la literatura no renal como renal, pero aquí hemos optado por limitar esta revisión a aquellos factores de riesgo que parecen especialmente relevantes y de utilidad clínica en pacientes con ERCT.

Dado el gran número de biomarcadores tradicionales, emergentes y específicos de la uremia que se han asociado con un mayor riesgo CV y de mortalidad en la ERC, es clave definir la importancia relativa de cada uno de estos factores de riesgo en esta población, pues se trata de pacientes muy polimedicados por sus múltiples complicaciones, por lo que debe priorizarse el tratamiento de aquellos factores con mayor importancia relativa en su riesgo cardiovascular y su supervivencia y asegurar el cumplimiento terapéutico.



## **II. HIPÓTESIS**





## HIPÓTESIS DE TRABAJO

La elevada prevalencia de los factores de riesgo CV clásicos (Framingham) o de enfermedad CV en los pacientes en hemodiálisis no explican por si solos su elevado riesgo CV, por lo que se ha postulado que nuevos factores de riesgo CV (como el estrés oxidativo, la inflamación, o los niveles elevados de lipoproteína(a), ADMA, homocisteína, o troponina, entre otros) y/o factores propios de la ERC (la anemia, la sobrecarga de volumen, las alteraciones del metabolismo óseo-mineral, o la malnutrición, etc) podrían contribuir a incrementar este riesgo CV.

Además, se ha descrito una relación inversa y contraintuitiva entre los FRCV clásicos y la morbimortalidad CV en esta población (epidemiología reversa), mientras que fármacos que han demostrado reducir el riesgo CV en la población general (p.e. inhibidores del sistema renina-angiotensina o estatinas) no han demostrado beneficio en estos pacientes. Actualmente se considera que los FRCV clásicos, nuevos y propios de la uremia son altamente prevalentes en esta población y tienen un efecto sinérgico, lo que explica su mayor riesgo CV. Ello condiciona una elevada tasa de ingresos hospitalarios, una menor supervivencia y una disminución de la calidad de vida en este grupo de pacientes. Es pues esencial caracterizar aquellos FRCV más relevantes en esta población para identificar qué tratamientos pueden reducir su riesgo y buscar nuevas dianas terapéuticas que reduzcan la elevada morbimortalidad CV en esta población.

Esta preocupación creciente sobre el tema justifica plenamente la investigación de las causas implicadas en el desarrollo y progresión de la enfermedad CV en la uremia, que es el motivo de la presente tesis doctoral.



### **III. OBJETIVOS**

---



## OBJETIVOS

Los objetivos principales de la presente tesis han sido:

1. Analizar la prevalencia de enfermedad CV y de los factores de riesgo cardiovascular clásicos (Framingham) y nuevos en una población de pacientes prevalentes en hemodiálisis.
2. Analizar los factores de riesgo asociados con enfermedad CV prevalente en esta población
3. Analizar el valor pronóstico de la aterosclerosis carotídea sobre la morbimortalidad CV en una población prevalente de pacientes con ERC terminal en programa de hemodiálisis.
4. Analizar el valor pronóstico de marcadores del metabolismo óseo-mineral no habituales (osteoprotegerina o fetuina) sobre la mortalidad total o la morbimortalidad CV en la población de estudio.

Objetivos Secundarios:

1. Analizar los factores de riesgo asociados con la mortalidad total y morbimortalidad CV durante el seguimiento en una población de pacientes prevalentes en HD.
2. Analizar la prevalencia de enfermedad cardiovascular subclínica, evaluada mediante doppler carotídeo, en una población de pacientes prevalentes en HD y determinar las características de la aterosclerosis carotídea y los factores de riesgo asociados a la misma.



## **IV. MATERIAL Y MÉTODOS**





## **METODOLOGÍA**

### **Diseño del estudio**

Se trata de un estudio multicéntrico, transversal y prospectivo de carácter observacional durante un periodo de seguimiento de hasta 6 años, en el que se han incluido 265 pacientes adultos de ambos sexos y con una edad superior a 18 años, prevalentes con ERC terminal en programa de hemodiálisis crónica durante al menos 6 meses, clínicamente estables y sin evidencia de insuficiencia cardiaca en el momento de su inclusión. La insuficiencia cardiaca se definió como disnea además de dos de las siguientes condiciones: aumento de la presión venosa yugular, crepitantes bibasales, hipertensión venosa pulmonar o edema intersticial que requiriera ingreso o ultrafiltración extra; y/o una fracción de eyección < 35 %), No se establecieron otros criterios de exclusión específicos.

Se reclutaron pacientes del Hospital Clínic (HCP) y de 4 centros de hemodiálisis satélites: Fresenius CETIRSA Barcelona, Diaverum Instituto Hemodiálisis Barcelona, Centro de Diálisis Verdum (HCP) y Diaverum Centre de Dialisi Bonanova de Barcelona.

### **Variables analizadas**

Se recogieron las características demográficas de la población (edad, sexo, tiempo en diálisis, antecedentes de trasplante renal previo), enfermedad renal primaria, datos antropométricos del paciente (peso seco [kg], talla [m], índice de masa corporal [ $\text{Kg}/\text{m}^2$ ]), el índice de comorbilidad de Charlson (ICC), la presencia de enfermedad CV de origen cardiaco, definida por la existencia de cardiopatía isquémica, enfermedad valvular, insuficiencia cardiaca o arritmia, la presencia de enfermedad CV de origen no cardiaco: cerebral (ictus o accidente isquémico transitorio) o periférica (vasculopatía periférica de extremidades inferiores, amputación por isquemia, isquemia intestinal, etc); la presencia de diabetes, historia de HTA, dislipemia, o tabaquismo; características de la hemodiálisis (hospitalaria o ambulatoria, tipo de membranas de diálisis (celulósicas o

sintéticas), tipo de acceso vascular, dosis de diálisis –Kt/V- y calcio en el baño de diálisis).

Asimismo, se analizaron los siguientes marcadores de riesgo CV: fibrinógeno, albúmina (marcador nutricional), colesterol total, HDL-c y LDL-c, triglicéridos, lipoproteína(a), homocisteína, proteína C reactiva (PCR) e interleukinas 6,10 y 18, dimetil-arginina asimétrica (ADMA), malondialdehído (MDA), productos avanzados de oxidación proteica (AOPP), adiponectina, osteoprotegerina (OPG), fetuína-A; y factores propios de la uremia (BUN, creatinina, calcio, fósforo, producto CaxP, PTHi) y niveles de hemoglobina y ferritina. Como marcadores cardíacos, se midieron niveles de troponina-I y péptido natriurético cerebral (BNP).

También se recogieron medicaciones concomitantes, con especial atención a medicación hipotensora, hipolipemiente, antiagregante/anticoagulante, quelantes del fósforo, metabolitos de la vitamina D, dosis diaria de calcio oral, agentes estimuladores de la eritropoyesis o dosis de hierro endovenosa mensual.

De forma prospectiva y con revisión anual, se recogió la mortalidad total y CV e incidencia de eventos CV durante el periodo de seguimiento de hasta seis años de todos los pacientes incluidos.

En el momento de la inclusión, todos los pacientes estaban realizando hemodiálisis convencional, entre 3.5 y 4.5 horas/tres veces por semana, con dializadores con membranas de diacetato de celulosa o de polisulfona. Se utilizó heparina de bajo peso molecular como anticoagulante estándar y la prescripción de diálisis tenía como objetivo un Kt/V  $\geq 1.3$ .

## **Métodos**

La medición de la presión arterial se realizó antes y después de cada una de las tres sesiones de hemodiálisis de la semana de evaluación, después de 10 minutos en reposo en decúbito supino. Las extracciones de sangre se realizaron

antes de la segunda o tercera sesión de hemodiálisis de la semana tras 20-30 minutos en reposo en decúbito supino. Las determinaciones analíticas propias del control clínico de estos pacientes, juntamente con la dosis de HD (Kt/V) se realizaron como parte del seguimiento rutinario.

A un subgrupo de 184 pacientes no seleccionados se les realizó asimismo un ecocardiograma, que midió los tamaños telediastólico y telesistólico de los ventrículos para calcular la fracción de eyección, el grosor parietal para calcular la masa ventricular izquierda, según el método de la Penn Convention, normalizada por la superficie corporal. Para calcular la función diastólica se midieron los parámetros de flujo transmitral y de venas pulmonares. Se realizó doppler tisular a nivel del anillo mitral. También se valoraron las disfunciones y las calcificaciones de las válvulas y los anillos valvulares.

A un subgrupo de 110 pacientes se les realizó una ecografía doppler de troncos supraaórticos mediante modelo doppler color con software para medir el grosor íntima-media carotídeo (GIM). Se utilizó un transductor lineal de alta resolución con 7,5 MHz de frecuencia y 0,1 mm de resolución de imagen en tiempo real y 3,75 MHz para el Doppler. Los sujetos se colocaron en posición supina con la cabeza girada a 45°, contralateral a la carótida examinada. Se valoraron tres segmentos: la arteria carótida común a 1 cm proximal del bulbo de la carótida, la bifurcación de la carótida (1-2 cm) y el origen de la carótida interna (1 cm distal a la bifurcación) de forma bilateral. El GIM de la carótida se midió a 1 cm de la bifurcación previa, se exploró en una sección longitudinal en la pared del fondo, y se obtuvieron 4 mediciones a intervalos regulares. Se calculó el promedio de 8 mediciones, derecha e izquierda, considerando como valor normal un GIM <0,9 mm, de acuerdo con los criterios de la Guía Europea de Hipertensión de la ESC-ESH de 2007 (115). Se definió la presencia de placa como la imagen de invasión de la luz arterial de al menos 0,5 mm o >50% del grosor carotídeo íntima-media circundante o la demostración de un engrosamiento > 1,5 mm medidos desde la interfaz media-adventicia a la interfaz de la íntima-luz. Para la evaluación de la placa, se valoró la sección longitudinal y transversal en modo B, se analizaron mediante doppler color la descripción de la ubicación, número y estructura, características ecográficas de la misma, incluyendo la calcificación (116). Con

ello se clasificaron en 4 grados de severidad: 1) IMT <0,9 mm, 2) IMT > 0,9 mm, 3) placa carotídea con estenosis <50% y 4) placa con estenosis > 50%.

La homocisteína se determinó por inmunoensayo, utilizando un kit comercial (Abott); la proteína C reactiva por nefelometría (BNII Siemens España, Barcelona); la lipoproteína(a) se determinó por inmunoturbidimetría; los niveles de Troponina-I, BNP y PTHi se midieron por electroquimioluminiscencia (analizador Advia Centaur Siemens, Tarrytown, USA); los niveles de osteoprotegerina se midieron mediante ELISA (Biomedica Medizinprodukte GmbH, Vienna, Austria), la fetuina-A mediante ELISA (Epitope Diagnostics, San Diego, California, USA), la dimetilarginina asimétrica (ADMA) por HPLC, los productos avanzados de oxidación proteica (AOPP) mediante el método fotométrico de Cloramina T, malondialdehído (MDA) por HPLC medido a través de los productos de reacción de ácido tiobarbitúrico, IL-6 e IL-10 por inmunoensayo enzimático (Diasource, Louvain-la-Neuve, Belgium), IL-18 mediante MBL (Nagoya, Japan) y adiponectina por radioinmunoensayo (Millipore Corp. Billerica, MA, USA).

Se recogió periódicamente la mortalidad total y de causa CV, así como la morbilidad CV durante el seguimiento. Los eventos CV y la mortalidad han sido revisados y adjudicados por cuatro médicos del grupo tras revisar cada evento. En caso de muerte sucedida fuera del hospital, se solicitó información a familiares para aclarar las circunstancias del óbito en lo posible.

## **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se ha realizado mediante el programa estadístico SPSS.22.0 (Statistical Package for the Social Sciences, versión 22.0, SPSS Inc).

Se evaluó la normalidad de las variables continuas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Los resultados se han presentado como media  $\pm$  desviación estándar para las variables de distribución continua; como mediana y rango intercuartil para las variables con distribución no normal y como número y porcentaje para las variables categóricas.

Para los análisis comparativos se utilizó el test de la T de Student para datos no apareados para variables cuantitativas continuas para muestras con 2 categorías y ANOVA para 3 o más categorías y el test de  $\chi^2$  para variables categóricas. Si las variables cuantitativas no mostraban una distribución normal, los datos se analizaron mediante la U de Mann-Whitney o el test de Kruskal-Wallis en función de si existían 2 o más categorías.

Para el estudio de asociación entre variables se utilizó el coeficiente de correlación lineal de Pearson para variables con distribución normal y para las no paramétricas el coeficiente de correlación de Spearman.

El análisis de supervivencia se realizó mediante el método de Kaplan-Meier y la relación entre la mortalidad total y eventos CV (fatales y no fatales) con otras variables mediante el análisis de regresión de Cox. En los pacientes que presentaron varios eventos, el análisis se ha restringido al primer evento. Se seleccionaron para los análisis multivariante aquellas variables con una  $p < 0,05$  en el análisis bivariado o bien aquellas que se derivaron del criterio clínico. Los resultados se expresaron mediante hazard ratio (HR) con su correspondiente intervalo de confianza del 95% (IC 95%). Se consideró significativa una  $p < 0.05$ , censurando a pacientes trasplantados, fallecidos o con pérdida de seguimiento durante la fase prospectiva.

## **Aspectos éticos**

Uno de los objetivos fundamentales de nuestro trabajo diario es elevar la calidad de la asistencia médica, disminuyendo la morbimortalidad y prolongando la calidad y expectativa de vida de los pacientes en hemodiálisis. Decidimos emprender esta investigación con el propósito de describir los factores de riesgo CV y su influencia sobre eventos CV, conociendo que estas alteraciones constituyen un potente factor independiente de morbimortalidad CV en nuestra población. Este estudio está basado en otras investigaciones internacionales de gran prestigio por sus resultados.

Los estudios se han realizado de acuerdo con lo establecido en la Declaración de Helsinki (Edimburgo 2000, acorde al inicio del estudio en 2003), sobre las investigaciones con seres humanos y fines terapéuticos y el bienestar de la persona que participa en la investigación como primacía sobre todos los demás intereses. Así como el cumplimiento de la Ley Orgánica de Protección de Datos (15/1999) que tiene por objeto garantizar y proteger, en lo que concierne al tratamiento de los datos personales, las libertades públicas y los derechos fundamentales de las personas físicas, y especialmente de su honor e intimidad personal y familiar de todos los pacientes que participaron en el estudio.

El protocolo de investigación fue sometido a la consideración y aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínic de Barcelona (Anexo 1).

Una vez identificados los pacientes potenciales para este estudio se solicitó su consentimiento informado por escrito para su participación en el mismo, previa entrega de la información detallada de las características del estudio; sus deberes, derechos y el beneficio potencial que les aportaría la investigación.

## **V. PLAN DE TRABAJO REALIZADO**





## **PLAN DE TRABAJO REALIZADO**

Todas las partes del proyecto han sido realizadas por la doctoranda, a excepción de las técnicas de laboratorio que se realizaron en el laboratorio del Hospital Clínic, así como las pruebas de imagen (ecografía carotídea o ecocardiogramas) realizadas por el centro de radiodiagnóstico y servicio de Cardiología, respectivamente.

1.- Inclusión de pacientes en el estudio, con la colaboración del Dr. Aleix Cases/Dra. Elisabeth Coll. La doctoranda se ha encargado de incluir a los pacientes en el estudio, gestionando el correcto procesamiento del consentimiento informado y del cuaderno de recogida de datos demográficos y clínicos.

2.- Recogida de todas las muestras analíticas para medición de los diferentes factores/marcadores de riesgo cardiovascular. La doctoranda también se ha encargado de gestionar la correcta recogida de las muestras y la creación y mantenimiento de la seroteca.

3.- Medición del índice tobillo-brazo para valorar la presencia de enfermedad vascular periférica subclínica.

4.- Creación de la base de datos e introducción de los resultados en la misma y colaboración en el análisis estadístico, que se analizó conjuntamente con el director del proyecto y otros colaboradores.

5.- Memoria y redacción del proyecto final de tesis. Finalmente la doctoranda también ha escrito el proyecto inicial de memoria, los informes parciales, así como la redacción y publicación de los correspondientes artículos, para la lectura final del proyecto de tesis.

**Partes del proyecto que se han delegado en colaboradores o terceras personas:**

I.- Asesoramiento en la inclusión de pacientes:

- Dra. Elisabeth Coll. Actualmente en el Servicio de Nefrología, Fundació Puigvert, Barcelona.
- Dr. Aleix Cases. Servicio de Nefrología, Hospital Clínic y CD Verдум.
- Dra. Mercedes Pons. CETIRSA Barcelona, Fresenius Medical Care, Barcelona.
- Dr. Josep Maria Cruzado. Institut Hemodiàlisi Barcelona, Diaverum, Barcelona.
- Dr. Bernat de la Torre. CD Palau, Diaverum, Barcelona.

II.- Soporte en la recogida de datos y análisis de resultados:

- Dra. Elisabeth Coll. Servicio de Nefrología, Fundació Puigvert, Barcelona.
- Dr. Aleix Cases. Servicio de Nefrología, Hospital Clínic y CD Verдум.
- Dr. Julio Pascual. Jefe del Servicio de Nefrología, Hospital del Mar, Barcelona.

III.- Soporte y colaboración en las determinaciones analíticas y determinación de marcadores de riesgo cardiovascular (OPG, Fetuina, Lp(a), albúmina, IL-6, IL-10, IL-18, homocisteína, ADMA...)

- Dr. Ramón Deulofeu CDB, Hospital Clínic.

IV.- Soporte en exploraciones complementarias y su análisis:

- Dr. Carlos Nicolau. CDI, Hospital Clínic, Barcelona (ecografía Doppler carotídea).
- Dr. Manel Azqueta. Servicio de Cardiología, Hospital Clínic, Barcelona. (ecocardiogramas)

V.- Soporte en el análisis estadístico:

- Sergi Mojal y Xavi Duran, Departamento de Estadística, Instituto Mar de Investigaciones Médicas, Barcelona.

**VI. PUBLICACIONES QUE**  
**CONSTITUYEN LA PRESENTE TESIS**



## **PUBLICACIONES QUE CONSTITUYEN LA PRESENTE TESIS**

- Collado S, Coll E, Deulofeu R, Guerrero L, Pons M, Cruzado JM, de la Torre B, Vera M, Azqueta M, Nicolau C, Cases A. Prevalence of cardiovascular disease in uraemia and relevance of cardiovascular risk factors. *Nefrologia*. 2010;30(3):342-8.
- Collado S, Coll E, Nicolau C, Pons M, Cruzado JM, Pascual J, Cases A. Carotid atherosclerotic disease predicts cardiovascular events in hemodialysis patients: a prospective study. *PLoS One*. 2015 Jun 1;10(6):e0127344. doi: 10.1371/journal.pone.0127344. eCollection 2015.
- Collado S, Coll E, Nicolau C, Azqueta M, Pons M, Cruzado JM, de la Torre B, Deulofeu R, Mojal S, Pascual J, Cases A. Serum osteoprotegerin in prevalent hemodialysis patients: associations with mortality, atherosclerosis and cardiac function. *BMC Nephrol*. 2017 Sep 7;18(1):290. doi: 10.1186/s12882-017-0701-8.



## **VII. RESULTADOS PENDIENTES DE PUBLICACIÓN**





## RESULTADOS PENDIENTES DE PUBLICACIÓN

### Estudio prospectivo

Durante los 6 años de seguimiento, 85 pacientes (32.1%) fueron trasplantados y fallecieron 90 (34%) (Tabla 1). De éstos, 40 casos (44.4%) fueron por eventos CV; continuaban vivos 71 (26.8%) y hubo una pérdida de seguimiento o traslado de centro en 19 pacientes (7.2%). La muerte súbita cardíaca, fue la principal causa de muerte CV en nuestra serie, así como en muchos registros y estudios previos (42).

**Tabla 1.** Causas de muerte cardiovascular en nuestra población.

<b>Etiología muerte CV (40)</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Enfermedad Cardíaca</b>	27	67.5%
Muerte súbita	14	35%
Infarto agudo de miocardio	10	25%
Arritmia	1	2.5%
<b>Enfermedad vascular no cardíaca</b>	13	32.5%
Isquemia mesentérica	5	12.5%
Enfermedad vascular periférica	4	10%
Accidente vascular cerebral	4	10%

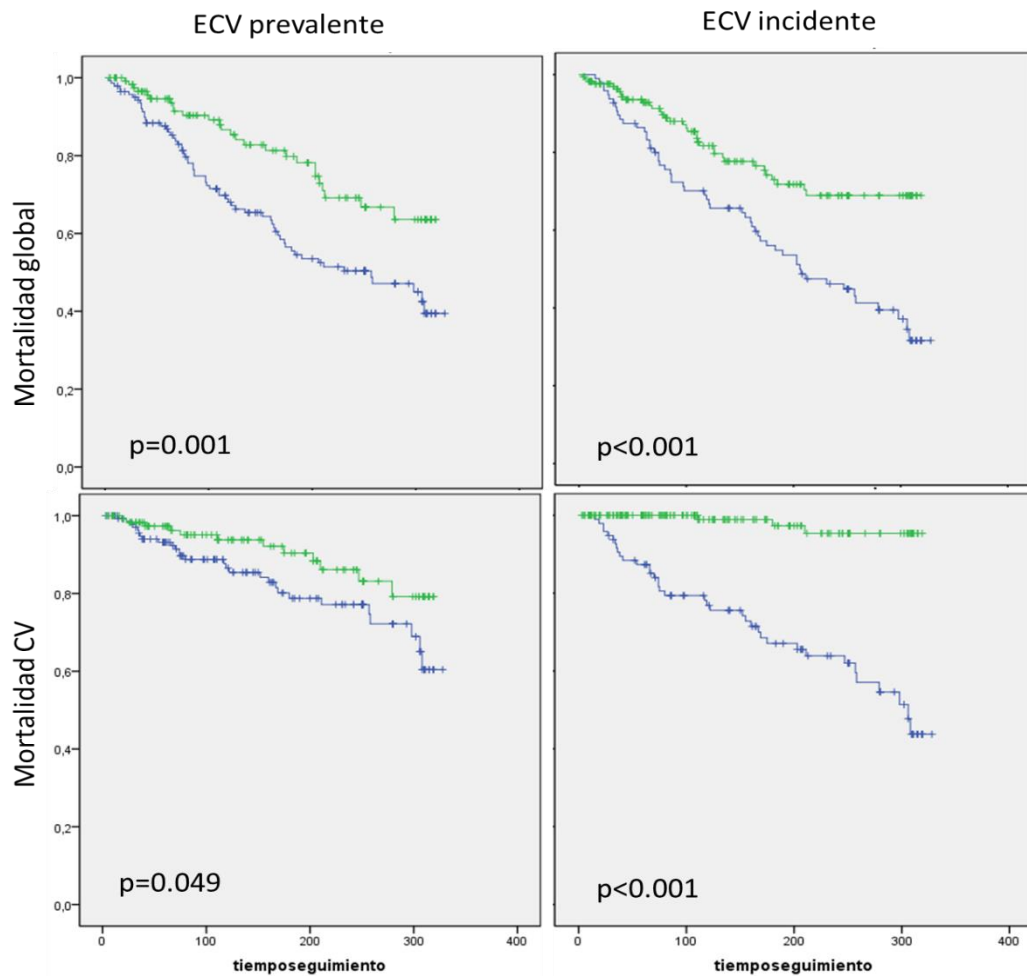
A lo largo del seguimiento, se registraron 97 eventos cardiovasculares, 61 de causa cardíaca y 36 de causa vascular no cardíaca (Tabla 2).

**Tabla 2.** Eventos cardiovasculares registrados durante el seguimiento.

<b>Evento CV (n=97)</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Enfermedad cardíaca</b>	<b>61</b>	<b>62.8%</b>
Infarto agudo de miocardio	17	17.7%
Muerte súbita	14	14.8%
Insuficiencia cardíaca	12	12.5%
Arritmia	10	10.4%
Angina inestable	8	8,3%
<b>Enfermedad vascular no cardíaca</b>	<b>36</b>	<b>37.1%</b>
Enfermedad vascular periférica	18	18.8%
Accidente vascular cerebral	8	8,3%
Accidente isquémico transitorio	5	5.2%
Isquemia mesentérica	5	5.2%

En el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier, la presencia de ECV prevalente y de los nuevos eventos CV se asociaron con la mortalidad total ( $p=0.001$  y  $p<0.001$  respectivamente) y la mortalidad CV ( $p=0.049$  y  $p<0.001$ , respectivamente) (Figura 18).

**Figura 18.** Análisis de supervivencia a 6 años para mortalidad total y CV según la presencia de enfermedad CV prevalente o incidente.



En el análisis de regresión de Cox univariado (Tabla 3), la mortalidad total mostró asociación con los antecedentes de ECV previa (sobre todo a expensas de cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca, HVI, arritmia y enfermedad vascular) y patología CV incidente; así como con el índice de comorbilidad de Charlson, tabaquismo, diabetes, niveles de glucosa, PCR, BNP, troponina-I, osteoprotegerina, IL-18, y tratamiento con IECAs y antiagregantes; y negativamente con PAD, ganancia de peso interdiálisis, fracción de eyección del VI, niveles de albumina, creatinina y fósforo.

**Tabla 3.** Análisis de regresión de Cox univariado de variables asociadas a la mortalidad total.

<b>Variable</b>	<b>HR</b>	<b>IC 95%</b>	<b>P-Value</b>
Edad	1.05	1.033-1.069	<b>&lt;0.001</b>
ECV previa	1.824	1.194-2.787	<b>0.005</b>
ECV incidente	2.294	1.501-3.507	<b>&lt;0.001</b>
Hipertrofia ventricular izda	1.717	1.111-2.653	<b>0.015</b>
Enfermedad coronaria	1.925	1.237-2.995	<b>0.004</b>
Arritmia	1.790	1.129-2.840	<b>0.013</b>
Enfermedad vascular	2.934	1.933-4.454	<b>&lt;0.001</b>
Insuficiencia Cardiaca	1.712	1.095-2.676	<b>0.018</b>
Diabetes	1.565	1.016-2.410	<b>0.042</b>
Tabaquismo	1.713	1.132-2.593	<b>0.011</b>
Índice de comorbilidad de Charlson	1.30	1.208-1.419	<b>&lt;0.001</b>
GIM	18.830	4.605-77.0	<b>&lt;0.001</b>
Troponina-I	12.257	3.929-38.23	<b>&lt;0.001</b>
BNP	1.00	1.000-1.001	<b>&lt;0.001</b>
Tratamiento antiagregante	1.606	1.037-2.489	<b>0.034</b>
PCR	1.172	1.102-1.247	<b>&lt;0.001</b>
IL-18	1.00	1.00-1.001	<b>0.007</b>
Glucosa	1.005	1.001-1.009	<b>0.008</b>
Osteoprotegerina	1.084	1.041-1.128	<b>&lt;0.001</b>
Albúmina	0.869	0.834-0.905	<b>&lt;0.001</b>
Fósforo	0.857	0.747-0.984	<b>0.028</b>
Creatinina	0.790	0.712-0.876	<b>&lt;0.001</b>
Tx previo	0.493	0.283-0.858	<b>0.012</b>
Tto IECAs/ARA2	0.457	0.229-0.911	<b>0.026</b>

Ganancia peso interHD	0.752	0.58-0.975	<b>0.032</b>
PAD	0.977	0.96-0.994	<b>0.008</b>
FE del ventrículo izdo	0.967	0.948-0.987	<b>0.001</b>

En el análisis de regresión de Cox multivariado se evidenció una asociación independiente entre mortalidad y la presencia de ECV previa, la gravedad de la comorbilidad asociada (índice de Charlson >7 puntos, y la malnutrición-inflamación evaluada con marcadores clásicos, como la albúmina < 40 g/l, o la PCR, y otros marcadores emergentes, como la troponina-I, niveles de OPG o IL-18 (Tabla 4).

**Tabla 4.** Análisis de regresión de Cox multivariado de variables asociadas a mortalidad total.

<b>Variable</b>	<b>HR</b>	<b>IC 95%</b>	<b>P-Value</b>
Índice comorbilidad Charlson >7 puntos	4.57	1.586-13.2	<b>0.005</b>
Troponina-I	4.93	1.239-19.636	<b>0.024</b>
Albúmina <40 g/l	4.85	2.322-10.146	<b>&lt;0.001</b>
Enfermedad vascular	2.08	1.113-3.901	<b>0.022</b>
PCR	1.14	1.014-1.289	<b>0.029</b>
Osteoprotegerina	1.07	1.019-1.125	<b>0.006</b>
IL-18	1.0	1.0-1.001	<b>0.011</b>
Fósforo	1.17	0.978-1.419	0.085
Hipertrofia ventricular izquierda	1.66	0.931-2.974	0.086

En el estudio prospectivo también se analizó las variables asociadas con la mortalidad CV y se observó una correlación positiva con los antecedentes de enfermedad coronaria previa, tabaquismo, niveles de calcio y osteoprotegerina. Y correlación negativa con algunos parámetros de malnutrición como niveles de albúmina, así como con los niveles de vitamina B12 (Tabla 5).

**Tabla 5.** Variables asociadas a la mortalidad CV en el análisis multivariado de regresión de Cox.

<b>Variable</b>	<b>HR</b>	<b>IC 95%</b>	<b>P-Value</b>
Enfermedad coronaria	3.235	1.56-6.7	<b>0.002</b>
Tabaquismo	2.59	1.2-5.58	<b>0.015</b>
Calcio	1.735	1.194-2.52	<b>0.004</b>
Osteoprotegerina	1.093	1.026-1.165	<b>0.006</b>
Vitamina B12	0.997	0.995-0.999	<b>0.008</b>
Albúmina	0.92	0.852-0.992	<b>0.03</b>

Respecto al desarrollo de eventos CV el análisis multivariado de regresión de Cox mostró una asociación positiva independiente con los antecedentes previos de enfermedad coronaria, insuficiencia cardíaca, la masa ventricular izquierda y los niveles plasmáticos de lipoproteína (a) y BNP. Y de forma negativa con la presión arterial diastólica (Tabla 6).

**Tabla 6.** Variables asociadas a la aparición de nuevos eventos CV en el análisis multivariado de regresión de Cox.

<b>Variable</b>	<b><math>\beta</math></b>	<b>IC 95%</b>	<b>P-Value</b>
Enfermedad coronaria	3.399	2.007-5.757	<b>&lt;0.001</b>
Insuficiencia cardíaca	2.297	1.324-3.984	<b>0.003</b>
Masa del VI	1.004	1.0-1.008	<b>0.037</b>
Lipoproteína (a)	1.01	1.003-1.018	<b>0.007</b>
BNP	1.0	1.0-1.001	<b>0.001</b>
PAD	0.959	0.937-0.982	<b>0.001</b>

## **VIII. DISCUSIÓN**





## DISCUSIÓN

En la presente tesis se ha estudiado la prevalencia de enfermedad CV y sus factores de riesgo asociados en nuestra población de pacientes en hemodiálisis, se analizó el valor pronóstico de la aterosclerosis carotídea sobre la mortalidad total y morbimortalidad CV, así como el papel de marcadores no habituales del metabolismo óseo-mineral sobre la mortalidad total y morbimortalidad CV en la población de estudio.

### **8.1 Prevalencia de enfermedad cardiovascular y relevancia de los factores de riesgo cardiovascular y resultados del estudio prospectivo.**

El elevado riesgo CV que presentan los pacientes en HD es muy superior al de la población general, e incluso al de otros grupos reconocidos de pacientes de alto riesgo CV (p.e. diabéticos o hipertensos). Ello es en parte explicable por la alta prevalencia de ECV, tanto clínica como subclínica, así como de factores de riesgo CV clásicos y nuevos. Foley et al en su clásico estudio de 1998 (14), describió que el riesgo de mortalidad CV en los pacientes en diálisis era de 10 a 20 veces superior a la de la población general. Aunque en los últimos años, ha habido una discreta reducción de la mortalidad CV en estos pacientes, como puede verse en los datos del RMRC, esta ha sido menor a la observada en la población general (Figura 5, 16).

De los resultados de nuestro estudio transversal, que analizó las características basales de los pacientes, destaca la elevada prevalencia de ECV (53.2%) y de enfermedad vascular no cardíaca (25.3%), así como la alta prevalencia de ECV subclínica (HVI, aumento del grosor del complejo íntima-media o presencia de placas carotídeas). Asimismo, la prevalencia de FRCV clásicos fue también elevada (tabaquismo [o ex-tabaquismo] 41.5%, diabetes 26.8%, hipertensión arterial 86.8%, dislipemia 36.2%). También destaca la alta prevalencia de los nuevos FRCV: lipoproteína(a) (>30 mg/dl) 52.8%, proteína C reactiva (>0.8 mg/dl) 59.6 %, troponina-I (>0.1 ng/ml) 81.9% y homocisteína (>15  $\mu$ mol/l)

93.1%. Ello explicaría, en parte, la elevada incidencia de eventos CV fatales y no fatales que presentaron estos pacientes a lo largo del seguimiento.

Aunque el análisis basal de nuestra población destacaba el valor predictivo de la edad y de los antecedentes de dislipemia, como FRCV clásicos en la prevalencia de ECV en el análisis multivariante, no se confirmó en el estudio prospectivo el valor pronóstico de los FRCV clásicos sobre la morbimortalidad CV y total, sugiriendo el limitado valor predictivo de los FRCV clásicos (aunque no pueden descartarse del todo dado el limitado tamaño muestral y el número de eventos registrados en nuestra población y, especialmente respecto a la mortalidad total, la edad y la diabetes estarían incluidas en el índice de comorbilidad de Charlson); y, la posible relevancia de los factores de riesgo emergentes en la supervivencia de los pacientes en hemodiálisis, según los datos de nuestra cohorte. Por ejemplo, a diferencia de otras series, en nuestro estudio observamos que la DM se asoció de forma significativa con mayor mortalidad total y eventos CV en el análisis univariado y curvas de Kaplan Meier, pero no pudimos encontrar dicha asociación en el análisis multivariado ni tampoco asociación con mortalidad CV, aunque debemos considerar las limitaciones anteriormente mencionadas.

A destacar en el estudio prospectivo el valor pronóstico de estado de desgaste proteico-energético (en el contexto de un estado inflamatorio persistente con niveles elevados de PCR y niveles de albúmina bajos) sobre la mortalidad total. Respecto a la mortalidad total destaca la asociación con los niveles de troponina I y cerca de la significación con la HIV, que podrían ser marcadores de una miocardiopatía urémica, mientras que para mortalidad CV destaca la asociación con los niveles de osteoprotegerina y calcio. La relación de los niveles elevados de OPG y la mortalidad CV nos pareció interesante y novedoso, y dado que en los últimos años ha habido un interés creciente por el posible papel de las alteraciones del metabolismo óseo-mineral (p.e., hiperfosforemia, hiperparatiroidismo, osteoprotegerina, fetuina-A o FGF-23) (102) o de las calcificaciones vasculares sobre la morbimortalidad CV en los pacientes en HD, decidimos analizar este factor de forma independiente, lo que se discute más adelante en el artículo derivado de este proyecto y que forma parte de la presente tesis doctoral.

Respecto al riesgo de aparición de eventos CV, destaca su asociación con los niveles de Lp(a) y BNP. La Lp(a) tiene un efecto proaterogénico y, sus niveles están aumentados en los pacientes en diálisis, como hemos demostrado en el estudio transversal. Sus niveles elevados predicen el desarrollo de enfermedad ateromatosa carotídea y eventos vasculares en pacientes en diálisis (108). Es plausible que la acumulación de Lp(a) y LDL pequeñas y densas, que son proaterogénicas, contribuyan al estrés oxidativo y la inflamación vascular (20) en la ERC y tengan un papel significativo en la aterogénesis de estos pacientes, independientemente de los niveles de colesterol total o LDL (110-111). En este sentido, las estatinas no reducen los niveles de Lp(a), pero los inhibidores de PCSK9 y nuevos tratamientos en investigación si son capaces de reducir sus niveles, por lo que podrían ser potencialmente beneficiosos en estos pacientes (112).

Otro aspecto a destacar de nuestro estudio transversal es que el grado de control de los FRCV y el uso de tratamientos que han demostrado un efecto protector CV en la población no urémica (inhibidores del SRAA, estatinas, antiagregantes) fue bajo en nuestra población, incluso entre pacientes diabéticos o con ECV, de manera similar a lo que se ha descrito en la literatura (117). Este bajo control de FRCV y un cierto «nihilismo terapéutico» observado en nuestra y en otras series también podrían contribuir a la elevada morbimortalidad en los pacientes en HD. Aunque ello podría ser explicado, en parte, a que estos pacientes están polimedcados, lo que dificulta el cumplimiento terapéutico y facilita la inercia terapéutica, además de las escasas evidencias de los efectos beneficiosos de los tratamientos antes mencionados en la reducción del riesgo de eventos CV en los pacientes en HD (39,40,60).

## 8.2 Papel predictor de la enfermedad carotídea aterosclerótica.

La presencia de placas ateroscleróticas carotídeas ha sido considerada como un marcador de lesión de órgano diana por las guías de riesgo cardiovascular (115), y es un marcador independiente de riesgo de eventos CV y de mortalidad en pacientes en HD (118,119).

La prevalencia de placas ateromatosas a nivel carotídeo en los pacientes en hemodiálisis es elevada (está presente en más del 60% de los pacientes en varios estudios [118]), y se ha descrito además una mayor prevalencia de placas calcificadas en esta población frente a la población general (120). Sin embargo, la evaluación del GIM y de la presencia de placas carotídeas no ha sido uniforme en los estudios previos, lo que dificulta su interpretación y la comparación de los resultados entre los diferentes estudios (121). Así, mientras unos autores, como Leskinen Y et al, consideran la suma del grosor de todas las placas encontradas (120), otros como Stenvinkel P et al consideran la suma de la ubicación bilateral de todas las placas (122), mientras que Schwaiger JP et al, proponen puntuaciones basadas en el número o la calcificación de placas (118). Además, previos a este estudio existían pocos análisis prospectivos a largo plazo que evaluaran el valor pronóstico de los hallazgos de la ecografía carotídea en la población en HD.

Nuestro estudio confirma una prevalencia de aterosclerosis carotídea más elevada que en otras series (83.6%) el predominio de placas, sobre todo calcificadas (72.7%), y un grado severo de aterosclerosis carotídea (grados 3-4, según nuestra estratificación). Quizás estos resultados puedan deberse a la mayor edad media de los pacientes y un tiempo en diálisis más prolongado respecto a los estudios previos. La presencia de éstas, pero no el GIM carotídeo, se asoció a la aparición de nuevos eventos CV durante el seguimiento. Ello ha sido confirmado más recientemente en el estudio NEFRONA, un amplio estudio multicéntrico prospectivo español de pacientes con enfermedad renal crónica, que incluyó pacientes en diálisis (123). En esta población, Valdivieso JM et al, observaron que las características asociadas con una mayor incidencia acumulada de ECV en el análisis multivariado fueron un mayor tiempo en diálisis,

la diabetes mellitus, niveles de colesterol ( $>240$  vs  $<200$  mg/dL), niveles elevados de fósforo y la presencia de placa de ateroma. Los autores concluyen que posiblemente en pacientes en diálisis, la determinación de la presencia/ausencia de placas podría ser suficiente para predecir el riesgo de ECV.

Además, la presencia de placas calcificadas fue predictora tanto de nuevos eventos CV, como de mortalidad CV, lo que sugiere el valor predictivo adicional de la calcificación de la placa en pacientes en hemodiálisis. Aunque se ha sugerido clásicamente que las placas calcificadas son más estables, este concepto ha sido cuestionado recientemente, tanto en la población general, como en la ERCT. Más recientemente, se ha descrito que el tipo de calcificación de la placa coronaria, densa vs microcalcificación (*spotty*), se asocia con estabilidad o vulnerabilidad de la misma, respectivamente (124). En este sentido, algunos estudios han observado que las placas ateroscleróticas coronarias de los pacientes con ERC son más complejas que las de individuos con función renal normal, sugiriéndose que serían más vulnerables, a pesar de la mayor presencia de calcio (125). El valor predictivo adicional de la composición de la placa carotídea sobre el riesgo cardiovascular en la población en hemodiálisis, merece futuras investigaciones al respecto.

Clásicamente, la insuficiencia renal crónica se ha asociado con un aumento del GIM carotídeo (126,127). El GIM carotídeo se había considerado también tradicionalmente como un marcador de aterosclerosis subclínica, tanto en la población general, como en pacientes en diálisis. Sin embargo, en recientes estudios se ha observado que este parámetro no mejora el valor predictivo cuando se añade a los modelos tradicionales de predicción de riesgo cardiovascular en la población general (107). En nuestra población de pacientes en hemodiálisis, el GIM carotídeo se asoció con la presencia de enfermedad CV prevalente, con algunos factores tradicionales de riesgo CV (edad, sexo masculino, tabaquismo) y con la presión del pulso (un marcador indirecto de rigidez arterial), pero no con otros FRCV o marcadores de desnutrición-inflamación. Sin embargo, a diferencia de la elevada prevalencia de placas y de placas calcificadas en carótida en nuestra población, la prevalencia de un GIM patológico ( $> 0.9$  mm) fue solamente del 40.2%, y no observamos su asociación

con la incidencia de eventos CV, ni con la mortalidad total, ni CV. Aunque algunos autores habían descrito una relación entre el GIM y la mortalidad en hemodiálisis (127,128), esta relación podría ser indirecta, ya que en nuestro estudio el GIM se asoció con la enfermedad CV prevalente y la presencia de placas. Por lo tanto, el aumento del GIM parece ser un marcador de arteriosclerosis (rigidez arterial), pero no de riesgo CV. Estos datos coinciden con otros hallazgos descritos en la literatura de que la presencia de aterosclerosis carotídea es mejor predictor de eventos CV futuros que el GIM carotídeo (129) u otro en los que la tasa de formación de nuevas placas era un predictor potente e independiente de nuevos eventos CV en la ERCT, mientras que los cambios en el GIM no predecían el riesgo de desarrollo de eventos CV durante el seguimiento (114).

La calcificación de la placa carotídea en esta población se ha asociado históricamente a las alteraciones del metabolismo óseo-mineral, la hipoalbuminemia y el estado inflamatorio crónico (130). En nuestro estudio, y en concordancia con otro estudio previo (131), no hemos hallado correlación entre la presencia de placas calcificadas y marcadores del metabolismo óseo-mineral, como los niveles de fósforo, calcio o iPTH; dosis diaria prescrita de calcio o de análogos de vitamina D, aunque este tema sigue siendo controvertido.

Las alteraciones lipídicas y los niveles elevados de lipoproteína (a) sérica también se han asociado con el GIM, o la presencia y el número de placas, sugiriendo un papel de la lipoproteína (a) como un factor de riesgo independiente para la aterosclerosis en esta población (132,133). En nuestro caso y a diferencia de estos estudios, no hallamos ninguna relación entre las alteraciones lipídicas o Lp (a) y el GIM. Sin embargo, sí evidenciamos una asociación entre niveles de Lp (a) y la severidad de la enfermedad carotídea aterosclerótica, y tanto en el análisis univariado como en el análisis multivariado en la incidencia de eventos CV, de acuerdo con estudios similares (108). Ello sugiere un papel de Lp(a), lipoproteína altamente aterogénica, en el desarrollo de la placa aterosclerótica en esta población.

Así pues, la severidad ecográfica de la enfermedad carotídea y especialmente, la presencia de placas calcificadas, son predictores de eventos CV en pacientes

en programa crónico de hemodiálisis, mientras que el GIM no lo fue. Estos resultados desafían la creencia histórica de que las placas calcificadas son más estables, al menos en esta población, y sugiere que la composición de la placa calcificada (densa vs microcalcificación) confiere una estabilidad de la placa distinta. Se necesitan estudios prospectivos más amplios para evaluar la relevancia de la enfermedad aterosclerótica carotídea y, específicamente, la presencia de placas calcificadas, como predictores independientes de riesgo CV en pacientes con ERCT. Los resultados de nuestro y otros estudios, sugieren que la ecografía carotídea es una herramienta simple y no invasiva que puede ayudar a evaluar la carga aterosclerótica en pacientes urémicos y, quizás, en combinación con otros marcadores bioquímicos o de imagen, pueda mejorar la predicción del riesgo CV en esta población. Este punto es especialmente relevante en la población en hemodiálisis, en la que el score de Framingham subestima el riesgo cardiovascular real que presentan (41), por lo que se precisan escalas de riesgo CV específicas para esta población, como la recientemente propuesta por el grupo ARO (134).



### **8.3 Asociación de los niveles séricos de osteoprotegerina con la mortalidad, la aterosclerosis carotídea y la función cardíaca en pacientes en hemodiálisis.**

En el análisis del estudio prospectivo de nuestra serie observamos el valor predictivo independiente de los niveles séricos elevados de osteoprotegerina sobre la mortalidad. Ello nos hizo analizar más específicamente este marcador junto con otro marcador del metabolismo óseo-mineral, como la fetuina-A, que también se había asociado con mortalidad en esta población en estudios previos (135,136).

La OPG es una citoquina soluble de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral (TNF) que se expresa en osteoblastos, pero también en células endoteliales (EC), células del músculo liso vascular (VSMC) o en el corazón, y está modulada por citoquinas inflamatorias. Actúa como “decoy receptor” (señuelo) para RANKL, inhibiendo la diferenciación y actividad osteoclástica y también se une al ligando inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral (TRAIL), previniendo la apoptosis inducida por este factor (137). Aunque la OPG protege frente a la calcificación vascular, los pacientes con ERCT muestran niveles séricos de OPG aumentados y este marcador se ha asociado directamente con la calcificación vascular (135,138), la rigidez arterial (98) y el aumento del riesgo de mortalidad en esta población (139). Sin embargo, el valor predictivo de OPG sobre la mortalidad es independiente de la presencia o no de patología vascular en algunos estudios, lo que sugiere que podría estar involucrada en otras vías o mecanismos no vasculares (140). Asimismo, también es independiente su asociación con la calcificación vascular y su progresión y con la rigidez arterial en pacientes con ERCT (141-144).

En nuestro estudio, el tercil superior de los niveles de OPG se asoció de forma independientemente con la mortalidad global. Por contra, los niveles séricos de fetuina-A no mostraron esta asociación, lo que sugiere que OPG podría ser un mejor biomarcador pronóstico en esta población. Nuestros resultados aportan evidencia adicional a estudios previos y otros más recientes (102, 141,142) y el metaanálisis reciente de Pichler G (100), en los que se demostraba un aumento

del riesgo de mortalidad asociado a niveles más elevados de OPG. Además, los resultados de estos estudios indican que los niveles de OPG podrían también ser predictivos de eventos CV fatales y no fatales, aunque en nuestro estudio la tendencia no alcanzó significación estadística. Un reciente estudio basado en la cohorte del estudio NEFRONA ha demostrado una asociación entre OPG y riesgo de eventos cardiovasculares en pacientes con ERC, incluyendo pacientes en diálisis (143).

Es probable que OPG pueda desempeñar un papel en el desarrollo de la aterosclerosis al inhibir la apoptosis inducida por TRAIL a nivel vascular. Además, la OPG circulante puede interactuar directamente con el heparansulfato en el endotelio, favoreciendo la adhesión de los leucocitos (145). La OPG se ha relacionado también con cambios en la composición de la matriz extracelular vascular, el desarrollo de la enfermedad macrovascular diabética, la aterosclerosis avanzada o la desestabilización de la placa (146,147). Sin embargo, a pesar de estas evidencias, no está claro si la OPG está causalmente relacionada con la aterosclerosis o es un marcador de la carga aterosclerótica, siendo los niveles altos de OPG una respuesta compensatoria a la enfermedad CV subclínica y su progresión (106).

En nuestro estudio observamos que los niveles de OPG se asociaron directamente con el GIM carotídeo, grados severos de aterosclerosis carotídea y calcificación de las placas carotídeas, como se ha descrito en la población general. Estos hallazgos están de acuerdo con estudios previos (138,142), aunque no hay unanimidad (98). El mecanismo que puede explicar la asociación entre niveles elevados de OPG y la calcificación vascular en hemodiálisis es un tema controvertido. Puede elevarse como resultado del daño vascular (148), estaría elevada porque tiene un papel en el proceso de calcificación en sí (149), o puede ser una respuesta compensatoria a la progresión de la calcificación vascular. Se ha descrito que los niveles circulantes de OPG en pacientes con ERC podrían indicar un estado de resistencia a la acción de OPG debido al estado urémico (150).

Asimismo, observamos una interesante asociación entre OPG y biomarcadores cardíacos, como la troponina-I (marcador de daño cardíaco) o el BNP (marcador

de estrés biomecánico cardíaco), así como su relación con la presencia de arritmias o hipertrofia ventricular izquierda (en este último caso en el límite de la significación), así como su relación inversa con la fracción de eyección del ventrículo izquierdo. Además, en el análisis multivariado los niveles séricos de BNP, se mantuvieron como un predictor independiente de los niveles de OPG, de acuerdo con el estudio previo de Kuźniewski (142).

Dos estudios previos habían demostrado la asociación de los niveles OPG con el “global longitudinal strain” (GLS) o deformación longitudinal global, un marcador de disfunción ventricular subclínica en pacientes hipertensos diabéticos (151) y pacientes diabéticos con insuficiencia cardíaca (152), pero no se había descrito previamente en pacientes renales. El GLS global es una técnica robusta, bien validada y reproducible para la medición de la función ventricular (153) que tiene un valor predictivo de mortalidad por cualquier causa, así como del compuesto de muerte cardíaca, arritmia maligna, hospitalización por insuficiencia cardíaca, cirugía valvular urgente o trasplante cardíaco e isquemia coronaria aguda (154). Nuestro estudio demostró por primera vez una asociación entre los niveles de OPG y marcadores de disfunción cardíaca en la ERCT. Es tentador especular que la relación entre niveles de OPG y la mortalidad en pacientes en hemodiálisis puede estar relacionada, al menos en parte, con su posible asociación con la miocardiopatía urémica, como se ha propuesto para la miocardiopatía diabética (151,152). El RNAm de OPG está ampliamente distribuido en varios órganos, incluido el corazón (155). Hay evidencia de su producción intracardíaca y su liberación a la circulación coronaria, y se ha formulado la hipótesis de que podría estar involucrada en el desarrollo de la HVI (156,157), patología muy prevalente en nuestra población. Los niveles circulantes de OPG también reflejan la gravedad de los trastornos cardiovasculares, como la enfermedad coronaria, la HVI y la insuficiencia cardíaca en la población general (158). Sin embargo, un estudio en un modelo animal *knock out* para OPG demostró que esta proteína juega un papel en la preservación de la estructura y función miocárdica con la edad a través de la disminución de la apoptosis y la preservación de la estructura de la matriz extracelular, efectos que eran independientes de sus efectos sobre la vasculatura (159). Por ello, la asociación entre niveles elevados de OPG y los

marcadores de alteraciones cardíacas en nuestra población podrían ser un mecanismo compensador, más que un mecanismo causal, por lo que se precisan más estudios al respecto.

La muerte súbita es la causa más frecuente de mortalidad en pacientes con ERCT (154,160), lo que corroboramos en nuestro estudio. Aunque la muerte súbita puede ocurrir en individuos con miocardio estructuralmente normal, se observa comúnmente en pacientes con miocardiopatía subyacente, la cual puede desencadenar arritmias fatales. En pacientes en diálisis, se pueden identificar como desencadenantes o factores de riesgo la anemia, las alteraciones del metabolismo óseo-mineral, los cambios bruscos de electrolitos y del pH durante la sesión de diálisis, la sobrecarga de volumen crónica, la patología coronaria, la disfunción autonómica, la fibrilación auricular, la insuficiencia cardíaca con disfunción sistólica o la HVI.

En nuestro estudio, los niveles de OPG no se asociaron con la presencia de FRCV clásicos, como diabetes o hipertensión, ni tampoco con marcadores del metabolismo óseo-mineral, de acuerdo con algunos estudios previos (161), aunque no en todos (162). Aunque los niveles de OPG se han asociado con marcadores de inflamación-malnutrición en algunos estudios, en nuestro estudio tampoco encontramos una relación entre niveles de OPG y PCR o albúmina, aunque su relación negativa con los niveles de creatinina sérica, BUN o fosfato podría ser atribuida a su posible asociación con una posible malnutrición. De hecho, la relación de este biomarcador con los niveles de PCR y/o albúmina no es uniforme en la literatura (98).

La fetuina-A es una glicoproteína circulante secretada por los hepatocitos y que actúa como un potente inhibidor sistémico de la calcificación. La fetuina-A evita la precipitación de calcio y fosfato en el suero, y protege de la calcificación arterial al inhibir la apoptosis de la VSMC y prevenir la nucleación de partículas de calcio básicas en la matriz extracelular. En pacientes en hemodiálisis, sus niveles plasmáticos son más bajos que en la población general y esto se ha asociado en algunos estudios con una calcificación vascular más extensa y severa, la rigidez arterial, así como con una mayor mortalidad global y cardiovascular (106,136). Sin embargo, ello no se ha confirmado en otros análisis a pesar de ajustar por

diversos factores de riesgo CV, o la calcificación vascular (163). En nuestro estudio, tampoco hemos podido hallar una asociación entre los niveles de fetuina-A y la mortalidad global, CV, ni con nuevos eventos CV. Tampoco con la presencia de aterosclerosis carotídea, al igual que otro estudio previo (98). La fetuina-A es un reactante de fase aguda negativo, cuyos niveles pueden estar influenciados por la presencia de inflamación, por la resistencia insulínica, la intolerancia a la glucosa, el síndrome metabólico y un perfil lipídico aterogénico. En nuestro estudio, sí observamos su asociación con diabetes mellitus, la dosis diaria de sales de calcio prescrita, la masa ventricular izquierda y algunos biomarcadores de inflamación o estrés oxidativo, como IL-6, MDA o ADMA. Tampoco se observó una asociación entre marcadores del metabolismo óseo-mineral, como niveles de vitamina D, o PTHi, y morbimortalidad a diferencia de otros estudios recientes (104,105).

### **Limitaciones de la presente tesis doctoral:**

A pesar de la una estrecha monitorización durante el análisis prospectivo y con un número mínimo de pérdidas de seguimiento, el número de pacientes estudiados fue limitado, así como la incidencia de algunos tipos de eventos CV, que fue inferior a la esperada, especialmente el accidente cerebrovascular.

Otra limitación es que no se realizaron exámenes ecográficos carotídeos o ecocardiogramas basalmente en todos los pacientes, sino a subgrupos no seleccionados. Sin embargo, no hay razones para sospechar la existencia de un sesgo significativo en la interpretación de los resultados. Tampoco se realizaron determinaciones seriadas de las variables analíticas, ni exámenes de imagen adicionales durante el seguimiento por lo que nuestros análisis se basaron en las evaluaciones basales. La alta variabilidad de algunos parámetros y la evolución clínica de la aterosclerosis carotídea requeriría determinaciones seriadas o longitudinales. Por otro lado, se desconoce la evolución de los pacientes que fueron sometidos a un trasplante renal; ya que se perdió el seguimiento después del mismo.

Otra limitación del estudio fue la inclusión de pacientes con enfermedad cardiovascular prevalente, que tienen un mayor riesgo CV. Sería interesante repetir este estudio con pacientes incidentes en hemodiálisis sin enfermedad CV previa.

Asimismo, la definición de enfermedad carotídea aterosclerótica de alto riesgo se basó en datos publicados que relacionan la gravedad y las características de la placa. Posiblemente debido al escaso tamaño muestral y al número de eventos CV registrados durante el seguimiento, en el análisis multivariado se perdió la asociación entre la aterosclerosis carotídea y placas calcificadas con la incidencia de dichos eventos CV. Es por ello que se requieren más estudios con mayor tamaño muestral y más eventos, para confirmar nuestros hallazgos sobre el valor predictivo de la presencia de placas (y/o placas calcificadas) sobre la morbimortalidad en esta población.

Respecto a la OPG, dado que el número de eventos ha sido inferior al esperado, sería necesaria una cohorte de pacientes mayor para confirmar nuestras conclusiones, aunque las evidencias del metaanálisis de Pichler G (100) permiten pensar que la OPG podría ser un biomarcador de mortalidad en esta población. Nuestro análisis se limita a los valores basales obtenidos al inicio del estudio. La falta de mediciones repetidas de los niveles tanto de OPG como de fetuina-A durante el seguimiento limitó nuestra capacidad para determinar una relación causal entre la OPG y la mortalidad (164). Tampoco se midieron otros marcadores de remodelado óseo, como FGF23, esclerostina y  $\alpha$ -Klotho soluble, ya que eran poco conocidos o incluso desconocidos al inicio del estudio. En la actualidad existen evidencias del papel de estos factores (165) sobre la fisiopatología de la HVI, la cardiomiopatía urémica y su asociación con la mortalidad en esta población. Conocer la posible interacción entre estos factores, es relevante para clarificar su papel en la fisiopatología de la miocardiopatía urémica y las alteraciones vasculares asociadas a la ERCT.

Otra posible limitación son los problemas técnicos inherentes a los ensayos para la determinación de OPG o fetuina A (por ejemplo, fragmentación potencial) que no han sido analizados en la actualidad. En la ERC, la fetuina-A sérica está presente principalmente como un complejo fetuín-mineral (compuesto de fetuina-A, fibrinógeno, fibronectina-I y calcio), y la fracción de fetuina-A total como un complejo, en lugar de fetuina-A libre aumenta progresivamente a medida que disminuye el filtrado glomerular estimado (166).

## **IX. CONCLUSIONES**





## CONCLUSIONES

1. La prevalencia de enfermedad CV clínica o subclínica fue elevada en nuestra población de pacientes prevalentes en hemodiálisis, tanto respecto a la patología cardíaca, como no cardíaca.
2. Los factores predictores de ECV clínica en nuestra población fueron la edad, el índice de masa corporal, la presencia de ECV subclínica (HVI y GIM), factores de riesgo CV clásicos o el tiempo en diálisis, entre otros en el análisis univariante.
3. La prevalencia de los FRCV clásicos (HTA, diabetes, dislipemia o tabaquismo) y nuevos (inflamación, hiperhomocisteinemia, Lp(a), etc) es también elevada en esta población.
4. El control de los FRCV clásicos y el uso de medicaciones cardioprotectoras en esta población general es subóptimo, tanto en prevención primaria como secundaria, según las recomendaciones de las distintas guías de práctica clínica en estos pacientes, lo que podría contribuir al mayor riesgo CV en esta población.
5. La severidad de la enfermedad aterosclerótica carotídea es un predictor de eventos CV y, la presencia de placas carotídeas calcificadas es predictor de eventos y de mortalidad CV, mientras que el grosor intima-media carotídeo no lo fue en nuestra serie. Estos resultados cuestionan la creencia previa de que la calcificación de la placa proporcione mayor estabilidad a la misma, al menos en la población en hemodiálisis.
6. La ecografía carotídea es una herramienta simple y no invasiva que puede ayudar a evaluar la carga aterosclerótica en los pacientes urémicos y, quizás, en combinación con otros marcadores bioquímicos o de imagen puede ayudar a mejorar la estratificación del riesgo CV en esta población, en la que las escalas de riesgo CV clásicas tienen un valor predictivo limitado.
7. Los niveles elevados de OPG, pero no de fetuina-A, se asociaron con una mayor mortalidad global en pacientes en programa de hemodiálisis. Además, se asoció con una tendencia, aunque no significativa, de mayor riesgo de eventos y de mortalidad CV.

8. Los niveles altos de OPG se asocian con marcadores de aterosclerosis subclínica y de disfunción cardíaca, pero no con biomarcadores del metabolismo óseo-mineral. Su asociación con aterosclerosis y calcificación vascular ya era conocida, pero no así su asociación con marcadores y disfunción cardíaca en estos pacientes. Ello, junto con las asociaciones de OPG y alteraciones cardíacas en otras patologías y el papel de OPG en modelos animales sugieren que podría jugar un papel en la miocardiopatía urémica, por lo que merece que se profundice en su estudio.

## **Perspectivas de futuro**

El conocimiento de la prevalencia y de la importancia relativa de los diferentes FRCV (tanto clásicos como nuevos) en este subgrupo de pacientes de muy alto riesgo CV, ha de permitir diseñar estrategias específicas y la priorización del tratamiento para reducir este elevado riesgo CV en unos pacientes que, además están muy polimedicados por sus diversas complicaciones, lo que dificulta el cumplimiento terapéutico y favorece la inercia terapéutica.

En el futuro, el uso rutinario de determinados biomarcadores de riesgo CV, junto a pruebas de imagen, como la ecografía carotídea, ha de permitir una mejor estratificación del riesgo CV en esta población e iniciar terapéuticas específicas a fin de mejorar su supervivencia y su calidad de vida, y reducir las hospitalizaciones.

Dada la elevada prevalencia de patología CV y el mal pronóstico de los eventos CV, parece aconsejable tratar precoz (en la etapa prediálisis) y agresivamente los FRCV en estos pacientes para intentar reducir su elevada morbimortalidad CV posterior en la fase de diálisis.

La comprensión de la interacción de las alteraciones del metabolismo óseo-mineral en la ERC (no sólo de los factores clásicos, como la hiperfosforemia, el hiperparatiroidismo o el déficit de vitamina D, sino también FGF-23,  $\alpha$ -Klotho, OPG, fetuina-A, esclerostina, etc) y la enfermedad CV es fundamental para conocer mejor la fisiopatología de la patología macro y microvascular, así como de la miocardiopatía urémica en esta población.



## **X. BIBLIOGRAFIA**

---



## BIBLIOGRAFÍA

1. Otero A, de Francisco A, Gayoso P, García F; EPIRCE Study Group. Prevalence of chronic renal disease in Spain: results of the EPIRCE study. *Nefrologia*. 2010;30(1):78-86.
2. Gorostidi M, Sánchez-Martínez M, Ruilope LM, Graciani A, de la Cruz JJ, Santamaría R, Del Pino MD, Guallar-Castillón P, de Álvaro F, Rodríguez-Artalejo F, Banegas JR. Chronic kidney disease in Spain: Prevalence and impact of accumulation of cardiovascular risk factors. *Nefrologia*. 2018 Jun 18. pii: S0211-6995(18)30075-4. doi: 10.1016/j.nefro.2018.04.004
3. Górriz Teruel JL, Otero González A. Social and health impact of advanced chronic kidney disease. *Nefrologia*. 2008;28 Suppl 3:7-15.
4. Keith DS, Nichols GA, Gullion CM, Brown JB, Smith DH. Longitudinal follow-up and outcomes among a population with chronic kidney disease in a large managed care organization. *Arch Intern Med*. 2004 Mar 22;164(6):659-63.
5. Smink PA, Lambers Heerspink HJ, Gansevoort RT, de Jong PE, Hillege HL, Bakker SJ, de Zeeuw D. Albuminuria, estimated GFR, traditional risk factors, and incident cardiovascular disease: the PREVEND (Prevention of Renal and Vascular Endstage Disease) study. *Am J Kidney Dis*. 2012 Nov;60(5):804-11.
6. Marín R. Kidney and cardiovascular disease. *Nefrología*. 2004; 24(Supl 6): 17-19.
7. Sarnak MJ, Levey AS. Cardiovascular disease and chronic renal disease: a new paradigm. *Am J Kidney Dis*: 35 (Suppl 1): S117-S131, 2000.
8. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*. 2004 Sep 23;351(13):1296-305.
9. Zoccali C. Cardiovascular risk in uraemic patients- is it fully explained by classical risk factors?. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15: 454-457.
10. Stenvinkel P, Bárány P: Dialysis in 2011. Can cardiovascular risk in dialysis patients be decreased?. *Nat Rev Nephrol*. 2011;8: 72-74.
11. Rakhit DJ, Marwick TH, Armstrong KA, Johnson DW, Leano R, Isbel NM. Effect of aggressive risk factor modification on cardiac events and myocardial ischaemia in patients with chronic kidney disease. *Heart*. 2006;92: 1402-1408.



12. Shah DS, Polkinghorne KR, Pellicano R, Kerr PG. Are traditional risk factors valid for assessing cardiovascular risk in end-stage renal failure patients?. *Nephrology*. 2008;13: 667-671.
13. Park SH, Stenvinkel P, Lindholm B. Cardiovascular biomarkers in chronic kidney disease. *J Ren Nutr*. 2012;22: 120-127.
14. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis*. 1998 Nov;32(5 Suppl 3):S112-9.
15. Kabbalo MA, Canney M, O'Kelly P, Williams Y, O'Seaghdha CM, Conlon P. A comparative analysis of survival of patients on dialysis and after kidney transplantation. *Clin Kidney J*. 2018 Jun;11(3):389-393.
16. Registre de Malalts Renal de Catalunya. 2015. Servei Català de la Salut/Organització Catalana de Trasplantaments (OCATT). 1a edició, Maig 2017. <http://trasplantaments.gencat.cat>
17. Baber U, Mehran R, Kirtane AJ, Gurbel PA, Christodoulidis G, Maehara A, Witzenbichler B, Weisz G, Rinaldi MJ, Metzger DC, Henry TD, Cox DA, Duffy PL, Mazzaferri EL Jr, Xu K, Parise H, Brodie BR, Stuckey TD, Stone GW. Prevalence and impact of high platelet reactivity in chronic kidney disease: results from the Assessment of Dual Antiplatelet Therapy with Drug-Eluting Stents registry. *Circ Cardiovasc Interv* 2015; 8(6):e001683.
18. Stenvinkel P, Carrero JJ, Axelsson J, Lindholm B, Heimbürger O, Massy Z. Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in the chronic kidney disease patient: how do new pieces fit into the uremic puzzle? *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008 Mar;3(2):505-21.
19. Nubé MJ, Peters SAE, Blankestijn PJ, Canaud B, Davenport A, Grooteman MPC, Ascì G, Locatelli F, Maduell F, Morena M, Ok E, Torres F, Bots ML; HDF Pooling Project investigators. Mortality reduction by post-dilution online-haemodiafiltration: a cause-specific analysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2017 Mar 1;32(3):548-555.
20. Bernelot Moens SJ, Verweij SL, van der Valk FM, van Capelleveen JC, Kroon J, Versloot M, et al. Arterial and Cellular Inflammation in Patients with CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2017; 28(4):1278-1285.
21. Munnur RK, Nerlekar N, Wong DT. Imaging of coronary atherosclerosis in various susceptible groups. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2016; 6(4):382-95.

22. Wanner C, Amann K, Shoji T. The heart and vascular system in dialysis. *Lancet*. 2016; 388(10041):276-84.
23. O'Rourke MF, Hashimoto J. Mechanical factors in arterial aging: a clinical perspective. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50:1–13.
24. Briet M, Burns KD. Chronic kidney disease and vascular remodeling: molecular mechanisms and clinical implications. *Clin Sci*. 2012 Oct;123(7):399-416.
25. Townsend RR. Arterial Stiffness in CKD: A Review. *Am J Kidney Dis*. 2018 Jun 13. pii: S0272-6386(18)30649-8.
26. Cannata-Andía JB, Rodríguez-García M, Carrillo-López N, Naves-Díaz M, Díaz-López B. Vascular calcifications: pathogenesis, management, and impact on clinical outcomes. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17, S267–S273.
27. Schwaiger JP, Neyer U, Sprenger-Mähr H, Kollerits B, Mündle M, Längle M, Kronenberg F. A simple score predicts future cardiovascular events in an inception cohort of dialysis patients. *Kidney Int*. 2006 Aug;70(3):543-8.
28. Paoletti E, De Nicola L, Gabbai FB, Chiodini P, Ravera M, Pieracci L, et al. Associations of Left Ventricular Hypertrophy and Geometry with Adverse Outcomes in Patients with CKD and Hypertension. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016; 11: 271-279.
29. Park M, Hsu CY, Li Y, Mishra RK, Keane M, Rosas, et al. Associations between kidney function and subclinical cardiac abnormalities in CKD. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23: 1725-1734.
30. Paoletti E, Zoccali C. A look at the upper heart chamber: the left atrium in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29 (10):1847-1853.
31. Whitman IR, Feldman HI, Deo R. CKD and sudden cardiac death: epidemiology, mechanisms, and therapeutic approaches. *J Am Soc Nephrol*. 2012; 23:1929-39.
32. Chen SC, Chang JM, Liu WC, Huang JC, Tsai JC, et al. Echocardiographic parameters are independently associated with increased cardiovascular events in patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 1064–1070.
33. Chen SC, Su HM, Hung CC, Chang JM, Liu WC, Tsai JC, et al. Echocardiographic parameters are independently associated with rate of

- renal function decline and progression to dialysis in patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011; 6:2750-2758.
34. Longenecker JC, Coresh J, Powe NR, Levey AS, Fink NE, Martin A, Klag MJ. Traditional cardiovascular disease risk factors in dialysis patients compared with the general population: the CHOICE Study. *J Am Soc Nephrol*. 2002 Jul;13(7):1918-27.
  35. Zannad F, Kessler M, Leheret P, Grünfeld JP, Thuilliez C, Leizorovicz A, Lechat P. Prevention of cardiovascular events in end-stage renal disease: results of a randomized trial of fosinopril and implications for future studies. *Kidney Int*. 2006; 70(7):1318-24.
  36. Locatelli F, Pozzoni P, Tentori F, del Vecchio L. Epidemiology of cardiovascular risk in patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 18 (Suppl 7):S2-S9, 2003.
  37. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. Novel Cardiovascular Risk Factors in End-Stage Renal Disease. *J Am Soc Nephrol* 15 (supl 1): S77-S80, 2004.
  38. Kasiske BL, Chakkera HA, Roel J. Explained and unexplained ischemic heart disease risk after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 11:1735-43, 2000.
  39. Wanner C, Krane V, Marz W, Olschewski M, Mann JF, Ruf G, Ritz; German Diabetes and Dialysis Study Investigators. Atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis. *N Eng J Med*. 2005 Jul 21; 353 (3):238-48.
  40. Blacher J, Safar ME, Pannier B, Guerin AP, Marchais SJ, London GM. Prognostic significance of arterial stiffness measurements in end-stage renal disease patients. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2002; 11: 629-34.
  41. Cheung AK, Sarnak MJ, Yan G, Dwyer JT, Heyka RJ, Rocco MV, et al. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2000;58: 353-62.
  42. UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM. 2017 USRDS Annual Data Report. <https://www.usrds.org/adr.aspx>
  43. EVOLVE Trial Investigators, Chertow GM, Block GA, Correa-Rotter R, Drüeke TB, Floege J, Goodman WG, Herzog CA, Kubo Y, London GM, Mahaffey KW, Mix TC, Moe SM, Trotman ML, Wheeler DC, Parfrey PS. Effect of cinacalcet on cardiovascular disease in patients undergoing dialysis. *N Engl J Med*. 2012 Dec 27;367(26):2482-94.

44. Junyent M, Martínez M, Borrás M, Betriu A, Coll B, Craver L, et al. Usefulness of imaging techniques and novel biomarkers in the prediction of cardiovascular risk in patients with chronic kidney disease in Spain: the NEFRONA project. *Nefrologia*. 2010;30: 119-126.
45. Cruz JM, Piera L, Bragg-Gresham JL, Feldman H, Port FK. Resultados del estudio internacional de hemodiálisis DOPPS en Europa y España. *Nefrología* 2003; 23:437-43.
46. Amar J, Vernier I, Rossignol E, Bongard V, Arnaud C, Conte JJ, Salvador M, Chamontin B. Nocturnal blood pressure and 24-hour pulse pressure are potent indicators of mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000;57:2485-2491.
47. Zager PG, Nikolic J, Brown RH, Campbell MA, Hunt WC, Peterson D, Van Stone J, Levey A, Meyer KB, Klag MJ, Johnson HK, Clark E, Sadler JH, Teredesai P. "U" curve association of blood pressure and mortality in hemodialysis patients. Medical Directors of Dialysis Clinic, Inc. *Kidney Int*. 1998 Aug;54(2):561-9.
48. Kalantar-Zadeh K, Kilpatrick RD, McAllister CJ, Greenland S, Kopple JD. Reverse epidemiology of hypertension and cardiovascular death in the hemodialysis population: the 58th annual fall conference and scientific sessions. *Hypertension*. 2005 Apr;45(4):811-7.
49. Stidley CA, Hunt WC, Tentori F, Schmidt D, Rohrscheib M, Paine S, Bedrick EJ, Meyer KB, Johnson HK, Zager PG; Medical Directors of Dialysis Clinic Inc. Changing relationship of blood pressure with mortality over time among hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2006 Feb;17(2):513-20.
50. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G, Benedetto FA, Cottini E, Giaccone G, Malatino L. Prediction of left ventricular geometry by clinic, pre-dialysis and 24-h ambulatory BP monitoring in hemodialysis patients: CREED investigators. *J Hypertens*. 1999 Dec;17(12 Pt 1):1751-8.
51. Inaba M, Karaboyas A, Akiba T, Akizawa T, Saito A, Fukuhara S, Combe C, Robinson BM. Association of blood pressure with all-cause mortality and stroke in Japanese hemodialysis patients: the Japan Dialysis Outcomes and Practice Pattern Study. *Hemodial Int*. 2014 Jul;18(3):607-15.
52. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for cardiovascular Disease in Dialysis Patients. *Am J Kidney Dis* 2005; 45 (suppl 3): S1 – S153.

53. Kalantar-Zadeh K, Kopple JD, Regidor DL, Jing J, Shinaberger CS, Aronovitz J, McAllister CJ, Whellan D, Sharma K. A1C and survival in maintenance hemodialysis patients. *Diabetes Care*. 2007 May;30(5):1049-55
54. Hill CJ, Maxwell AP, Cardwell CR, Freedman BI, Tonelli M, Emoto M, Inaba M, Hayashino Y, Fukuhara S, Okada T, Drechsler C, Wanner C, Casula A, Adler AI, Lamina C, Kronenberg F, Streja E, Kalantar-Zadeh K, Fogarty DG. Glycated hemoglobin and risk of death in diabetic patients treated with hemodialysis: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis*. 2014 Jan;63(1):84-94.
55. Abe M, Kalantar-Zadeh K. Haemodialysis-induced hypoglycaemia and glycaemic disarrays. *Nat. Rev. Nephrol*. 2015; 11, 302–313.
56. Kim JK, Park JT, Oh HJ, Yoo DE, Kim SJ, Han SH, Kang SW, Choi KH, Yoo TH. Estimating average glucose levels from glycated albumin in patients with end-stage renal disease. *Yonsei Med J*. 2012 May;53(3):578-86.
57. Shafi T, Sozio SM, Plantinga LC, Jaar BG, Kim ET, Parekh RS, Steffes MW, Powe NR, Coresh J, Selvin E. Serum fructosamine and glycated albumin and risk of mortality and clinical outcomes in hemodialysis patients. *Diabetes Care*. 2013 Jun;36(6):1522-33.
58. Liu Y, Coresh J, Eustace JA, et al. Association between cholesterol level and mortality in dialysis patients: role of inflammation and malnutrition. *JAMA* 2004, 291: 451-9.
59. Kilpatrick RD, McAllister CJ, Kovesdy CP, Derose SF, Kopple JD, Kalantar-Zadeh K. Association between serum lipids and survival in hemodialysis patients and impact of race. *J Am Soc Nephrol*. 2007 Jan;18(1):293-303.
60. Fellström BC, Jardine AG, Schmeider RE, et al. Rosuvastatin and cardiovascular events in patients undergoing hemodialysis. *New Engl J Med* 2009; 360:1395-407.
61. Baigent C, Landry M. Study of Heart and Renal Protection (SHARP). *Kidney Int* 2003, 63: S207-210.
62. Sarnak MJ, Bloom R, Muntner P, et al. KDOQI US commentary on the 2013 KDIGO Clinical Practice Guideline for Lipid Management in CKD. *Am J Kidney Dis* 2015; 65:354.
63. Winkler K, Holme I, Holdaas H, Wanner C; German Diabetes and Dialysis Study Investigators. Atorvastatin and low-density lipoprotein cholesterol in

- type 2 diabetes mellitus patients on hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011 Jun;6(6):1316-25.
64. Wanner C, Krane V. Sunrise of statins after AURORA and 4D? *J Am Soc Nephrol* 2011; 22:1184.
  65. Fellström B, Holdaas H, Jardine AG, Svensson MK, Gottlow M, Schmieder RE, Zannad F; AURORA Study Group. Cardiovascular disease in patients with renal disease: the role of statins *Curr Med Res Opin*. 2009 Jan;25(1):271-85.
  66. Baigent C, Landray MJ, Reith C, et al. The effects of lowering LDL cholesterol with simvastatin plus ezetimibe in patients with chronic kidney disease (Study of Heart and Renal Protection): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2011; 377:2181.
  67. Upadhyay A, Earley A, Lamont JL, et al. Lipid-lowering therapy in persons with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 2012; 157:251.
  68. Palmer SC, Craig JC, Navaneethan SD, et al. Benefits and harms of statin therapy for persons with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 2012; 157:263.
  69. Hou W, Lv J, Perkovic V, et al. Effect of statin therapy on cardiovascular and renal outcomes in patients with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J* 2013; 34:1807.
  70. KDIGO Clinical Practice Guideline for Lipid Management in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl* 2013; 3:263.
  71. Kalantar-Zadeh K, Abbott KC, Salahudeen AK, Kilpatrick RD, Horwich TB. Survival advantages of obesity in dialysis patients. *Am J Clin Nutr*. 2005 Mar;81(3):543-54.
  72. El Said HW, Mohamed OM, El Said TW, El Serwi AB. Central obesity and risks of cardiovascular events and mortality in prevalent hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol*. 2017 Jul;49(7):1251-1260.
  73. Chen HY, Chiu YL, Chuang YF, Hsu SP, Pai MF, Yang JY, Peng YS. Visceral adiposity index and risks of cardiovascular events and mortality in prevalent hemodialysis patients. *Cardiovasc Diabetol*. 2014 Oct 4;13:136.

74. Okamoto T, Morimoto S, Ikenoue T, Furumatsu Y, Ichihara A. Visceral fat level is an independent risk factor for cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Nephrol*. 2014;39(2):122-9.
75. Malatino LS, Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Zoccali C, Parlongo S, Cutrupi S, Marino C, Panuccio V, Garozzo M, Candela V, Bellanuova I, Cataliotti A, Rapisarda F, Fatuzzo P, Bonanno G, Seminara G, Stancanelli B, Tassone F, Labate C. Smoking, blood pressure and serum albumin are major determinants of carotid atherosclerosis in dialysis patients. CREED Investigators. Cardiovascular Risk Extended Evaluation in Dialysis patients. *J Nephrol*. 1999 Jul-Aug;12(4):256-60.
76. Mc Causland FR, Brunelli SM, Waikar SS. Association of smoking with cardiovascular and infection-related morbidity and mortality in chronic hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7:1827.
77. Muntner P, Hamm LL, Kusek JW, Chen J, Whelton PK, HeJ: The prevalence of nontraditional risk factors for coronary heart disease in patients with chronic kidney disease. *Ann Intern Med* 2004;140: 9–17.
78. Jamal SA, Vandermeer B, Raggi P, Mendelssohn DC, Chatterley T, Dorgan M, Lok CE, Fitchett D, Tsuyuki RT. Effect of calcium-based versus non-calcium-based phosphate binders on mortality in patients with chronic kidney disease: an updated systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2013;382(9900):1268-77.
79. Panichi V, Rizza GM, Paoletti S, Bigazzi R, Aloisi M, Barsotti G, Rindi P, Donati G, Antonelli A, Panicucci E, Tripepi G, Tetta C, Palla R; RISCAVID Study Group. Chronic inflammation and mortality in haemodialysis: effect of different renal replacement therapies. Results from the RISCAVID study. *Nephrol Dial Transplant*. 2008 Jul;23(7):2337-43.
80. Carrero JJ, Qureshi AR, Axelsson J, Avesani CM, Suliman ME, Kato S, Bárány P, Snaedal-Jonsdottir S, Alvestrand A, Heimbürger O, Lindholm B, Stenvinkel P. Comparison of nutritional and inflammatory markers in dialysis patients with reduced appetite. *Am J Clin Nutr*. 2007 Mar;85(3):695-701.
81. Jun M, Venkataraman V, Razavian M, Cooper B, Zoungas S, Ninomiya T, Webster AC, Perkovic V. Antioxidants for chronic kidney disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Oct 17;10:CD008176.

82. Sun J, Axelsson J, Machowska A, Heimbürger O, Bárány P, Lindholm B, Lindström K, Stenvinkel P, Qureshi AR. Biomarkers of Cardiovascular Disease and Mortality Risk in Patients with Advanced CKD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016 Jul 7;11(7):1163-72.
83. Liu YW, Su CT, Chang YT, Tsai WC, Su YR, Wang SP, Yang CS, Tsai LM, Chen JH, Sung JM Elevated serum interleukin-18 level is associated with all-cause mortality in stable hemodialysis patients independently of cardiac dysfunction. *PLoS One*. 2014 Mar 5;9(3):e89457.
84. Schuett K, Savvaidis A, Maxeiner S, Lysaja K, Jankowski V, Schirmer SH, Dimkovic N, Boor P, Kaesler N, Dekker FW, Floege J, Marx N, Schlieper G. Clot Structure: A Potent Mortality Risk Factor in Patients on Hemodialysis. *J Am Soc Nephrol*. 2017 May;28(5):1622-1630.
85. Wang AY, Lam CW, Chan IH, Wang M, Lui SF, Sanderson JE Prognostic value of plasma myeloperoxidase in ESRD patients. *Am J Kidney Dis*. 2010 Nov;56(5):937-46.
86. Honda H, Hirano T, Ueda M, Kojima S, Mashiba S, Hayase Y, Michihata T, Shishido K, Takahashi K, Hosaka N, Ikeda M, Sanada D, Shibata T. Associations among apolipoproteins, oxidized high-density lipoprotein and cardiovascular events in patients on hemodialysis. *PLoS One*. 2017 May 18;12(5):e0177980.
87. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, Fonseca F, Nicolau J, Koenig W, Anker SD, Kastelein JJP, Cornel JH, Pais P, Pella D, Genest J, Cifkova R, Lorenzatti A, Forster T, Kobalava Z, Vida-Simiti L, Flather M, Shimokawa H, Ogawa H, Dellborg M, Rossi PRF, Troquay RPT, Libby P, Glynn RJ; CANTOS Trial Group. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med*. 2017 Sep 21;377(12):1119-1131.
88. Sommerer C, Beimler J, Schwenger V, Hecke N, Katus HA, Giannitsis E, Zeier M. Cardiac biomarkers and survival in haemodialysis patients. *Eur J Clin Invest*. 2007 May;37(5):350-6.
89. Mallamaci F, Zoccali C, Tripepi G, Fermo I, Benedetto FA, Cataliotti A, Bellanuova I, Malatino LS, Soldarini A; CREED Investigators. Hyperhomocysteinemia predicts cardiovascular outcomes in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2002 Feb;61(2):609-14.



90. Jardine MJ, Kang A, Zoungas S, Navaneethan SD, Ninomiya T, Nigwekar SU, Gallagher MP, Cass A, Strippoli G, Perkovic V. The effect of folic acid based homocysteine lowering on cardiovascular events in people with kidney disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2012;13;344:e3533.
91. Ravani P, Tripepi G, Malberti F, Testa S, Mallamaci F, Zoccali C. Asymmetrical dimethylarginine predicts progression to dialysis and death in patients with chronic kidney disease: a competing risks modeling approach. *J Am Soc Nephrol*. 2005 Aug;16(8):2449-55.
92. Zoccali C, Bode-Boger S, Mallamaci F, et al. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001; 358: 2113-7.
93. Tripepi G, Mattace Raso F, Sijbrands E, Seck MS, Maas R, Boger R, Witteman J, Rapisarda F, Malatino L, Mallamaci F, Zoccali C. Inflammation and asymmetric dimethylarginine for predicting death and cardiovascular events in ESRD patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011 Jul;6(7):1714-21
94. Liakopoulos V, Roumeliotis S, Gorny X, Dounousi E, Mertens PR. Oxidative Stress in Hemodialysis Patients: A Review of the Literature. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:3081856.
95. Jun M, Venkataraman V, Razavian M, Cooper B, Zoungas S, Ninomiya T, Webster AC, Perkovic V. Antioxidants for chronic kidney disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Oct 17;10:CD008176.
96. Mallamaci F, Zoccali C, Parlongo S, et al. Troponin is related to left ventricular mass and predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2002; 40:68-75.
97. Stack AG, Saran R. Clinical correlates and mortality impact of left ventricular hypertrophy among new ESRD patients in the United States. *Am J Kidney Dis*. 2002 Dec;40(6):1202-10.
98. Pateinakis P, Papagianni A, Douma S, Efstratiadis G, Memmos D. Associations of fetuin-A and osteoprotegerin with arterial stiffness and early atherosclerosis in chronic hemodialysis patients. *BMC Nephrology*. 2013; 12;14:122.
99. Krishnasamy R, Tan SJ, Hawley CM, Johnson DW, Stanton T, Lee K, Mudge DW, Campbell S, Elder GJ, Toussaint ND, Isbel NM. Progression of arterial

- stiffness is associated with changes in bone mineral markers in advanced CKD. *BMC Nephrol.* 2017 Sep 4;18(1):281.
100. Pichler G, Haller MC, Kainz A, Wolf M, Redon J, Oberbauer R. Prognostic value of bone- and vascular-derived molecular biomarkers in hemodialysis and renal transplant patients: a systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2017 Sep 1;32(9):1566-1578.
101. Ishigami J, Iimori S, Kuwahara M, Sasaki S, Tsukamoto Y. Diagnostic value of B-type natriuretic peptide for estimating left atrial size and its usefulness for predicting all-cause mortality and cardiovascular events among chronic haemodialysis patients. *Nephrology (Carlton).* 2014 Dec;19(12):777-83.
102. Morena M, Terrier N, Jaussent I, Leray-Moragues H, Chalabi L, Rivory JP, Maurice F, Delcourt C, Cristol JP, Canaud B, Dupuy AM. Plasma osteoprotegerin is associated with mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(1):262–70.
103. Marthi A, Donovan K, Haynes R, Wheeler DC, Baigent C, Rooney CM, Landray MJ, Moe SM, Yang J, Holland L, di Giuseppe R, Bouma-de Krijger A, Mihaylova B, Herrington WG. Fibroblast Growth Factor-23 and Risks of Cardiovascular and Noncardiovascular Diseases: A Meta-Analysis. *J Am Soc Nephrol.* 2018 Jul;29(7):2015-2027.
104. Fernández-Martín JL, Martínez-Cambor P, Dionisi MP, Floege J, Ketteler M, London G, Locatelli F, Górriz JL, Rutkowski B, Ferreira A, Bos WJ, Covic A, Rodríguez-García M, Sánchez JE, Rodríguez-Puyol D, Cannata-Andia JB; COSMOS group. Improvement of mineral and bone metabolism markers is associated with better survival in haemodialysis patients: the COSMOS study. *Nephrol Dial Transplant.* 2015 Sep;30(9):1542-51.
105. Fernández-Martín JL, Dusso A, Martínez-Cambor P, Dionisi MP, Floege J, Ketteler M, London G, Locatelli F, Górriz JL, Rutkowski B, Bos WJ, Tielemans C, Martin PY, Wüthrich RP, Pavlovic D, Benedik M, Rodríguez-Puyol D, Carrero JJ, Zoccali C, Cannata-Andía JB; COSMOS group. Serum phosphate optimal timing and range associated with patients survival in haemodialysis: the COSMOS study. *Nephrol Dial Transplant.* 2018 May 7
106. Scialla JJ, Kao WH, Crainiceanu C, Sozio SM, Oberai PC, Shafi T, Coresh J, Powe NR, Plantinga LC, Jaar BG, Parekh RS. Biomarkers of vascular

- calcification and mortality in patients with ESRD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9(4):745–55.
107. Van den Oord SC, Sijbrands EJ, Ten Kate GL, van Klaveren D, van Domburg RT, van derSteen AF et al. Carotid intima-media thickness for cardiovascular risk assessment: Systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2013;228: 1-11.
108. Aggarwal HK, Jain D, Lathar M, Yadav RK, Sawhney A. Lipoprotein-A and carotid intima media thickness as cardiovascular risk factors in patients of chronic kidney disease. *Ren Fail*. 2010;32: 647-652.
109. Pascual V, Serrano A, Pedro-Botet J, Ascaso J, Barrios V, Millán J, Pintó X, Cases A. Chronic kidney disease and dyslipidaemia. *Clin Investig Arterioscler*. 2017 Jan - Feb;29(1):22-35.
110. Kronenberg F, Kathrein H, König P, Neyer U, Sturm W, Lhotta K, Gröchenig E, Utermann G, Dieplinger H. Apolipoprotein(a) phenotypes predict the risk for carotid atherosclerosis in patients with end-stage renal disease. *Arterioscler Thromb*. 1994 Sep;14(9):1405-11.
111. Koch M, Kutkuhn B, Trenkwalder E, Bach D, Grabensee B, Dieplinger H, Kronenberg F. Apolipoprotein B, fibrinogen, HDL cholesterol, and apolipoprotein(a) phenotypes predict coronary artery disease in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 1997 Dec;8(12):1889-98.
112. Borrelli MJ, Youssef A, Boffa MB, Koschinsky ML. New Frontiers in Lp(a)-Targeted Therapies. *Trends Pharmacol Sci*. 2019 Mar;40(3):212-225.
113. Cigarran Guldris S, González Parra E, Cases Amenós A. Gut microbiota in chronic kidney disease. *Nefrologia*. 2017;37(1):9-19.
114. Li DY, Tang WHW. Contributory Role of Gut Microbiota and Their Metabolites Toward Cardiovascular Complications in Chronic Kidney Disease. *Semin Nephrol*. 2018; 38(2):193-205.
115. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, et al. 2007 ESH-ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens*. 2007;25: 1751-1762.
116. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of

- the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2013;34(28):2159-219.
117. Ezekowitz J, McAlister FA, Humphries KH, Norris CM, Tonelli M, Ghali WA, Knudtson ML; APPROACH Investigators. The association among renal insufficiency, pharmacotherapy, and outcomes in 6,427 patients with heart failure and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1587-92.
  118. Schwaiger JP, Lamina C, Neyer U, König P, Kathrein H, Sturm W, Lhotta K, Gröchenig E, Dieplinger H, Kronenberg F. Carotid plaques and their predictive value for cardiovascular disease and all-cause mortality in hemodialysis patients considering renal transplantation: a decade follow-up. *Am J Kidney Dis.* 2006; 47: 888–897.
  119. Arroyo D, Betriu A, Martinez-Alonso M, Vidal T, Valdivielso JM, Fernández E; investigators from the NEFRONA study. Observational multicenter study to evaluate the prevalence and prognosis of subclinical atheromatosis in a Spanish chronic kidney disease cohort: baseline data from the NEFRONA study. *BMC Nephrol.* 2014 Oct 18;15:168
  120. Leskinen Y, Lehtimäki T, Loimaala A, Lautamatti V, Kallio T, Huhtala H, Salenius JP, Saha H. Carotid atherosclerosis in chronic renal failure—the central role of increased plaque burden. *Atherosclerosis.* 2003; 171: 295–302.
  121. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, Csiba L, Desvarieux M, Ebrahim S, Hernandez Hernandez R, Jaff M, Kownator S, Naqvi T, Prati P, Rundek T, Sitzer M, Schminke U, Tardif JC, Taylor A, Vicaute E, Woo KS. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. *Cerebrovasc Dis.* 2012; 34(4): 290–6.
  122. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre F, Diczfalusy U, Wang T, Berglund L, Jogestrand T. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int.* 1999; 55:1899–1911.
  123. Valdivielso JM, Betriu A, Martinez-Alonso M, Arroyo D, Bermudez-Lopez M, Fernandez E; NEFRONA investigators. Factors predicting cardiovascular events in chronic kidney disease patients. Role of subclinical atheromatosis

- extent assessed by vascular ultrasound. *PLoS One*. 2017 Oct 18;12(10):e0186665.
124. Nakahara T, Dweck MR, Narula N, Pisapia D, Narula J, Strauss HW. Coronary Artery Calcification: From Mechanism to Molecular Imaging. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2017 May;10(5):582-593.
125. Nakano T, Ninomiya T, Sumiyoshi S, Onimaru M, Fujii H, Itabe H, Nakashima Y, Sueishi K, Tsuruya K, Oda Y, Kitazono T, Kiyohara Y. Chronic kidney disease is associated with neovascularization and intraplaque hemorrhage in coronary atherosclerosis in elders: results from the Hisayama Study. *Kidney Int*. 2013; 84: 373–380.
126. Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Zoccali C. Prognostic value of ultrasonographic measurement of carotid intima media thickness in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2001; 12: 2458–2464.
127. Kato A, Takita T, Maruyama Y, Kumagai H, Hishida A. Impact of carotid atherosclerosis on long-term mortality in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2003; 64: 1472–1479.
128. Sánchez-Alvarez JE, Delgado-Mallén P, González-Rinne A, Hernández-Marrero D, Lorenzo-Sellares V. Carotid ultrasound: prevention of heart disease and mortality on haemodialysis. *Nefrologia*. 2010;30: 427–434.
129. Benedetto FA, Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C. Rate of atherosclerotic plaque formation predicts cardiovascular events in ESRD. *J Am Soc Nephrol*. 2008; 19: 757–763.
130. Nichols P, Owen JP, Ellis HA, Farndon JR, Kelly PJ, Ward MK. Parathyroidectomy in chronic renal failure: a nine-year follow-up study. *QJ Med*. 1990; 77: 1175–1193.
131. Savage T, Clarke AL, Giles M, Tomson CRV, Raine AEG. Calcified plaque is common in the carotid and femoral arteries of dialysis patients without clinical vascular disease. *Nephrol Dial Transplant*. 1998; 13: 2004–2012.
132. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, Clegg LX. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987–1993. *Am J Epidemiol*. 1997; 146: 483–494.

133. Nakashima A, Yorioka N, Asakimori Y, Ito T, Masaki T, Shigemoto K, Harada S. Different risk factors for the maximum and the mean carotid intima-media thickness in hemodialysis patients. *Intern Med.* 2003; 42:1095–1099.
134. Anker SD, Gillespie IA, Eckardt KU, Kronenberg F, Richards S, Druke TB, Stenvinkel P, Pisoni RL, Robinson BM, Marcelli D, Froissart M, Floege J; On behalf the ARO Steering Committee (collaborators). Development and validation of cardiovascular risk scores for haemodialysis patients. *Int J Cardiol.* 2016 Aug 1;216:68-77. (<http://aro-score.askimed.com/>)
135. Nitta K, Akiba T, Uchida K, Kawashima A, Kawashima A, Yumura W, Kabaya T, Nihei H. The progression of vascular calcification and serum osteoprotegerin levels in patients on long-term hemodialysis. *Am J Kidney Dis.* 2003;42(2):303–9.
136. Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnken AH, Böhm R, Metzger T, Wanner C, Jahnke-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.
137. Schoppet M, Preissner KT, Hofbauer LC. RANK ligand and osteoprotegerin: paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22(4):549–53.
138. Krzanowski M, Krzanowska K, Dumnicka P, Gajda M, Woziwodzka K, Fedak D, Grodzicki T, Litwin JA, Sułowicz W. Elevated Circulating Osteoprotegerin Levels in the Plasma of Hemodialyzed Patients With Severe Artery Calcification. *Ther Apher Dial.* 2018; 22(5):519-529.
139. Speer G, Fekete BC, El Hadj Othmane T, Szabó T, Egresits J, Fodor E, Kiss I, Logan AG, Nemcsik J, Szabó A, Németh ZK, Szathmári M, Tislér A. Serum osteoprotegerin level, carotid-femoral pulse wave velocity and cardiovascular survival in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2008 Oct;23(10):3256-62.
140. Mezquita-Raya P, de la Higuera M, García DF, Alonso G, Ruiz-Requena ME, de Dios Luna J, Escobar-Jiménez F, Muñoz-Torres M. The contribution of serum osteoprotegerin to bone mass and vertebral fractures in postmenopausal women. *Osteoporosis Int* 2005; 16: 1368–1374.
141. Nakashima A, Carrero JJ, Qureshi AR, Hirai T, Takasugi N, Ueno T, Taniguchi Y, Lindholm B, Yorioka N. Plasma osteoprotegerin, arterial stiffness, and

- mortality in normoalbuminemic Japanese hemodialysis patients. *Osteoporos Int.* 2011;22:1695–701.
142. Kuźniewski M, Fedak D, Dumnicka P, Stępień E, Kuśnierz-Cabala B, Cwynar M, Sułowicz W. Osteoprotegerin and osteoprotegerin/TRAIL ratio are associated with cardiovascular dysfunction and mortality among patients with renal failure. *Adv Med Sci.* 2016;61(2):269–75.
143. Bozic M, Méndez-Barbero N, Gutiérrez-Muñoz C, Betriu A, Egido J, Fernández E, Martín-Ventura JL, Valdivielso JM, Blanco-Colio LM; investigators from the NEFRONA study. Combination of biomarkers of vascular calcification and sTWEAK to predict cardiovascular events in chronic kidney disease. *Atherosclerosis.* 2018; 270:13-20.
144. Sigrist MK, Levin A, Er L, McIntyre CW. Elevated osteoprotegerin is associated with all-cause mortality in CKD stage 4 and 5 patients in addition to vascular calcification. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24(10):3157–62.
145. Shin JY, Shin YG, Chung CH. Elevated serum osteoprotegerin levels are associated with vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2006;29(7):1664–6.
146. Jono S, Ikari Y, Shioi A, Mori K, Miki T, Hara K, Nishizawa Y. Serum osteoprotegerin levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Circulation.* 2002;106(10):1192–4.
147. Montañez-Barragán A, Gómez-Barrera I, Sanchez-Niño MD, Ucerro AC, González-Espinoza L, Ortiz A. Osteoprotegerin and kidney disease. *J Nephrol.* 2014;27:607–17.
148. Kurnatowska I, Grzelak P, Kaczmarska M, Stefańczyk L, Nowicki M. Serum osteoprotegerin is a predictor of progression of atherosclerosis and coronary calcification in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract.* 2011;117(4):c297-30.
149. Morena M, Dupuy AM, Jaussent I, Vernhet H, Gahide G, Klouche K, Bargnoux AS, Delcourt C, Canaud B, Cristol JP. A cut-off value of plasma osteoprotegerin level may predict the presence of coronary artery calcifications in chronic kidney disease patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2009 Nov;24(11):3389-97.

150. Vattikuti R, D. Towler DA. Osteogenic regulation of vascular calcification: an early perspective. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004 May;286(5):E686-96.
151. Kalaycıoğlu E, Gökdeniz T, Aykan AÇ, Hatem E, Gürsoy MO, Ören A, Yaman H, Karadeniz AG, Çelik Ş. Osteoprotegerin is associated with subclinical left ventricular systolic dysfunction in diabetic hypertensive patients: a speckle tracking study. *Can J Cardiol.* 2014;30(12):1529–34.
152. Kruzliak P, Berezin A, Kremzer A, Samura T, Benacka R, Mozos I, Egom E, Rodrigo L. Global longitudinal strain and strain rate in type two diabetes patients with chronic heart failure: relevance to Osteoprotegerin. *Folia Med (Plovdiv).* 2016;58(3):164–73.
153. Kalam K, Otahal P, Marwick TH. Prognostic implications of global LV dysfunction: a systematic review and meta-analysis of global longitudinal strain and ejection fraction. *Heart.* 2014 Nov;100(21):1673-80.
154. Saran R, Robinson B, Abbott KC, Agodoa LYC, Bhave N, Bragg-Gresham J, et al., US Renal Data System 2017 Annual Data Report: epidemiology of kidney disease in the United States. *Am J Kidney Dis.* 2018; 71:A7.
155. Montagnana M, Lippi G, Danese E, Guidi GC. The role of osteoprotegerin in cardiovascular disease. *Ann Med.* 2013;45:254–64.
156. Koyama S, Tsuruda T, Ideguchi T, Kawagoe J, Onitsuka H, Ishikawa T, Date H, Hatakeyama K, Asada Y, Kato J, Kitamura K. Osteoprotegerin is secreted into the coronary circulation: a possible association with the renin-angiotensin system and cardiac hypertrophy. *Horm Metab Res.* 2014;46(8):581–6.
157. Avignon A, Sultan A, Piot C, Mariano-Goulart D, Thuan Dit Dieudonné JF, Cristol JP, Dupuy AM: Osteoprotegerin: a novel independent marker for silent myocardial ischemia in asymptomatic diabetic patients. *Diabetes Care.* 2007;30(11):2934–9.
158. Omland T, Ueland T, Jansson AM, Persson A, Karlsson T, Smith C, Herlitz J, Aukrust P, Hartford M, Caidahl K. Circulating osteoprotegerin levels and long-term prognosis in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51(6):627–33.
159. Hao Y, Tsuruda T, Sekita-Hatakeyama Y, Kurogi S, Kubo K, Sakamoto S, Nakamura M, Udagawa N, Sekimoto T, Hatakeyama K, Chosa E, Asada Y,



- Kitamura K. Cardiac hypertrophy is exacerbated in aged mice lacking the osteoprotegerin gene. *Cardiovasc Res*. 2016 May 1;110(1):62-72.
160. Wheeler DC, London GM, Parfrey PS, Block GA, Correa-Rotter R, Dehmel B, Drüeke TB, Floege J, Kubo Y, Mahaffey KW, Goodman WG, Moe SM, Trotman ML, Abdalla S, Chertow GM, Herzog CA; EVAluation Of Cinacalcet HCl Therapy to Lower CardioVascular Events (EVOLVE) Trial Investigators. Effects of cinacalcet on atherosclerotic and nonatherosclerotic cardiovascular events in patients receiving hemodialysis: the EVAluation Of Cinacalcet HCl Therapy to Lower CardioVascular Events (EVOLVE) trial. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(6):e001363.
161. Nishiura R, Fujimoto S, Sato Y, Yamada K, Hisanaga S, Hara S, Nakao H, Kitamura K. Elevated osteoprotegerin levels predict cardiovascular events in new hemodialysis patients. *Am J Nephrol*. 2009;29(3):257–63.
162. Yilmaz MI, Siritopol D, Saglam M, Unal HU, Karaman M, Gezer M, Kilinc A, Eyileten T, Guler AK, Aydin İ, Vural A, Oguz Y, Covic A, Ortiz A, Kanbay M. Osteoprotegerin in Chronic Kidney Disease: Associations with Vascular Damage and Cardiovascular Events. *Calcif Tissue Int*. 2016 Aug;99(2):121-30.
163. Ix JH, Shlipak MG, Sarnak MJ, Beck GJ, Greene T, Wang X, Kusek JW, Collins AJ, Levey AS, Menon V. Fetuin-a is not associated with mortality in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2007;72(11):1394–9.
164. Ciaccio M, Bivona G, Di Sciacca R, Iatrino R, Di Natale E, Li Vecchi M, Bellia C. Changes in serum fetuin-a and inflammatory markers levels in end-stage renal disease (ESRD): effect of a single session haemodialysis. *Clin Chem Lab Med*. 2008;46(2):212–4.
165. De Albuquerque Suassuna PG, Sanders-Pinheiro H, de Paula RB. Uremic Cardiomyopathy: A New Piece in the Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder Puzzle. *Front Med (Lausanne)*. 2018 Jul 24;5:206.
166. Hamano T, Matsui I, Mikami S, Tomida K, Fujii N, Imai E, Rakugi H, Isaka Y. Fetuin-mineral complex reflects extraosseous calcification stress in CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(11):1998–2007.

**XI. COMUNICACIONES Y PUBLICACIONES DERIVADAS  
DEL ESTUDIO**



## COMUNICACIONES Y PUBLICACIONES DERIVADAS DEL ESTUDIO

### COMUNICACIONES ORALES

1. Coll E, Collado S, Cases A. Factores clínico-analíticos relacionados con la enfermedad cardiovascular prevalente e incidente en pacientes en hemodiálisis. V Congreso Iberoamericano de Nefrología y XXXVI Congreso Nacional de la SEN. Madrid, 18-21 Octubre 2006. Nefrologia. 2006;26 Suppl 6:1-175. Pág.118. Abs 462.
2. Collado S, Coll E, Cases A. Factores clínico-analíticos relacionados con la enfermedad cardiovascular prevalente e incidente en pacientes en hemodiálisis. XXIII Reunión anual de la Sociedad Catalana de Nefrología, Lleida, 31- Mayo-1 Junio 2007. Libro de resúmenes: XXIII Reunió Anual SocietatCatalana de Nefrologia, 2007. Pág. 39. Abs 9.
3. Collado S, Coll E, Deulofeu R, Guerrero L, Azqueta M, Nicolau C, Cases A. Prevalencia de enfermedad cardiovascular en la uremia y relevancia de los factores de riesgo cardiovascular. XXXIX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología. Pamplona, 3-6 Octubre 2009. Nefrologia. 2009;29 Suppl 2:1-140. Pág 88. Abs 330.
4. Collado S, Coll E, Deulofeu R, Pons M, Cruzado JM, C Nicolau, Pascual J, Cases A. Importancia pronóstica del grosor del complejo íntima-media carotídeo sobre la prevalencia de enfermedad cardiovascular en pacientes en hemodiálisis. XXVI Reunión anual de la Sociedad Catalana de Nefrología. Sant Frutiós de Bages, 26-28 Mayo 2010. Libro de resúmenes: XXVI Reunió Anual Societat Catalana de Nefrologia, 2010. Pág. 47. Abs. O-2.
5. Collado S, Coll E, Deulofeu R, Pons M, Cruzado JM, C Nicolau, Pascual J, Cases A. Importancia pronóstica del grosor del complejo íntima-media carotídeo sobre la prevalencia de enfermedad cardiovascular en pacientes en hemodiálisis. XL Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología. Granada, 16-19 Octubre 2010. Nefrologia. 2010;30 Suppl 1:1-175. Pág. 88. Abs 330.

6. Collado S, Coll E, Deulofeu R, Pons M, Cruzado JM, B de la Torre, Pascual J, Cases A. Factores de riesgo cardiovascular y mortalidad en pacientes en hemodiálisis: estudio prospectivo a 4 años. XLII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología. Gran Canaria, 6-9 Octubre 2012. Nefrologia. 2012;32 Suppl 3: 1-196. Pág. 91. Abs 351.
7. Collado S, Coll E, Deulofeu R, Pons M, Cruzado JM, B de la Torre, Pascual J, Cases A. Asociación entre niveles de osteoprotegerina y mortalidad en pacientes en hemodiálisis. XLIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología. Bilbao, 5-8 Octubre 2013. Nefrologia. 2013;33 Suppl 2:1-206. Pág. 98. Abs 358.

## POSTERS

1. Cases A, Collado S, Coll E, Guerrero L, Deulofeu R, Pons M, Cruzado JM, Garcia-Camin R Clinical and Analytical Factors Related to Prevalent and Incident Cardiovascular Disease in Hemodialysis Patients. American Society of Nephrology ASN. San Francisco (USA). 31 Octubre- 5 Noviembre, 2007.
2. Cases A, Coll E, Collado S, Guerrero L, Deulofeu R, Vera M, Quintana LF, Pons M, Cruzado JM, Garcia-Camin R. Clinical and Analytical Factors Related to Prevalent and Incident Cardiovascular Disease in Hemodialysis Patients. American Society of Nephrology ASN. San Diego (USA), 14-19 Noviembre, 2006. (F-PO568).
3. Collado S, Coll E, Cases A. Factores clínico-analíticos relacionados con la enfermedad cardiovascular prevalente e incidente en pacientes en hemodiálisis. XXXVII Congreso anual de la Sociedad Española de Nefrología. Cádiz, 29 Septiembre- 2 Octubre 2007. Nefrologia. 2007;27 Suppl 4:1-143. Pág.69. Abs 263.
4. Collado S, Coll E, Cases A, Deulofeu R, Guerrero L, Cruzado JM, Pons M, Bernat de la Torre. Factores clínico-analíticos relacionados con la mortalidad total en pacientes en hemodiálisis. XXIV Reunión anual de la Sociedad Catalana de Nefrología, Alp, 3-4 Mayo 2008. Libro de resúmenes: XXIV Reunió Anual Societat Catalana de Nefrologia, 2008. Pág.86. Abs. 28.

5. Collado S, Coll E, Cases A, Deulofeu R, Guerrero L, Cruzado JM, Pons M, Bernat de la Torre. Factores clínico-analíticos relacionados con la enfermedad cardiovascular incidente en pacientes en hemodiálisis. XXIV Reunión anual de la Sociedad Catalana de Nefrología, Alp, 3-4 Mayo 2008. Libro de resúmenes: XXIV Reunió Anual Societat Catalana de Nefrologia, 2008. Pág. 73. Abs. 15.
6. Collado S, Coll E, Cases A, Deulofeu R, Guerrero L, Cruzado JM, Pons M, Bernat de la Torre Factores clínico-analíticos relacionados con la enfermedad cardiovascular incidente en pacientes en hemodiálisis. XXXVIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología, San Sebastián, 5-7 Octubre 2008. Nefrologia. 2008;28 Suppl 4:1-142. Pág. 87. Abs 342.
7. Collado S, Coll E, Cases A, Deulofeu R, Guerrero L, Cruzado JM, Pons M, Bernat de la Torre. Factores clínico-analíticos relacionados con la mortalidad total en pacientes en hemodiálisis. XXXVIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología, San Sebastián, 5-7 Octubre 2008. Nefrologia. 2008;28 Suppl 4:1-142. Pág. 83. Abs 325.
8. Collado S, Coll E, Nicolau C, Deulofeu R, Guerrero L, Pons M, Cruzado JM, Cases A. Importancia pronóstica del complejo íntima-media carotídea sobre la mortalidad total y enfermedad cardiovascular incidente en pacientes en hemodiálisis. XXXVIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología, San Sebastián, 5-7 Octubre 2008. Nefrologia. 2008;28 Suppl 4:1-142. Pág. 69. Abs 271.
9. Collado S, Coll E, Nicolau C, Pascual J, Cases A. Análisis de la enfermedad aterotrombótica carotídea como predictor de mortalidad y eventos cardiovasculares en pacientes en hemodiálisis. XLII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología, Gran Canaria. 6-9 Octubre 2012. Nefrologia. 2012;32 Suppl 3: 1-196. Pág. 95. Abs 364.
10. Guerrero L, Coll E, Collado S. Utilidad de la Troponina I como factor predictor de Enfermedad Cardiovascular en pacientes con Enfermedad Renal Crónica Terminal. XXV Congreso de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Bilbao, 9-11 Octubre 2006.
11. Collado S, Coll E, Nicolau C, Azqueta M, Pons M, Cruzado JM, de la Torre B, Deulofeu R, Mojal S, Pascual J, Cases A. Asociación entre niveles de

osteoprotegerina y mortalidad en pacientes en hemodiálisis. XLV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología. España. Valencia, Octubre 2015. Nefrología. 2015;35. Supl 1:82-5 Pág 82. Abs 292.

## **XII. AYUDAS RECIBIDAS PARA LA REALIZACIÓN DEL ESTUDIO**





## **AYUDAS RECIBIDAS PARA LA REALIZACIÓN DEL ESTUDIO**

El trabajo que constituye esta tesis doctoral ha sido efectuado gracias a la consecución de las siguientes becas y ayudas:

1. Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (FISS REF. 03/0791): “Enfermedad Cardiovascular en la Uremia: Análisis de la Prevalencia y Relevancia de los Factores de Riesgo Cardiovascular”. Investigador principal: Aleix Cases i Amenós. Participación como investigadora-colaboradora (reclutamiento de pacientes, recogida de datos y elaboración de resultados). Hospital Clínico y Provincial de Barcelona. 2003-2006. Objetivos: Evaluar la prevalencia de enfermedad cardiovascular y factores de riesgo cardiovascular clásicos (Framingham), "nuevos" o asociados a la uremia en una población de pacientes con insuficiencia renal crónica terminal en tratamiento substitutivo renal con hemodiálisis. Analizar la posible contribución de cada uno de los factores de riesgo cardiovascular sobre la mortalidad total y cardiovascular, así como en la morbilidad cardiovascular. Analizar la posible asociación de los factores de riesgo cardiovascular clásicos y nuevos con las alteraciones cardiovasculares presentes en la uremia (hipertrofia ventricular izquierda, grosor de la íntima media/aterosclerosis carotídea, rigidez arterial).

2. Beca Premio Especial fin de Residencia “Emili Letang” 2006: “Rigidez arterial y riesgo cardiovascular en la insuficiencia renal crónica y trasplante renal. Papel de las hormonas reguladoras de la calcificación vascular: osteoprotegerina y fetuina-A”. Participación como investigadora principal. Hospital Clínico y Provincial de Barcelona. Junio 2006- Septiembre 2007. Objetivos: 1- Evaluar el grado de rigidez arterial mediante estudio de la velocidad de la onda de pulso en pacientes con insuficiencia renal crónica estadio IV-V (prediálisis), en pacientes en programa de hemodiálisis y en pacientes en diálisis peritoneal, a fin de evaluar el papel relativo de la uremia y/o de los diferentes tipos de terapia substitutiva renal sobre la misma. 2- Evaluar prospectivamente los cambios en la rigidez

arterial en los tres grupos anteriores, así como en aquellos pacientes que hayan sido trasplantados y que tengan una función renal adecuada (FG > 40 ml/min). Analizar posibles diferencias en la evolución de la VOP en relación al tipo de tratamiento inmunosupresor (con o sin anticalcineurínicos). 3- Analizar la posible relación entre la rigidez arterial en estos pacientes y su progresión en el tiempo y las alteraciones del metabolismo calcio-fósforo, PTHi, marcadores de inflamación (IL-6, PCR), estrés oxidativo (AOPP) y niveles de osteoprotegerina y fetuina-A.

3. Beca Johns Hopkins Fall Institute: Introduction to Clinical Research. Noviembre 2010.

4. Ayuda "Ajut per a la finalització de tesis doctorals de la Fundació IMIM".

## **XIII. ANEXOS**

---



## ANEXO I

Carta de aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico y Provincial de Barcelona.



**D. Ramon Gomis de Barbera**, Adjunto a la Dirección de Investigación del Hospital Clínico de Barcelona, y Presidente del CEIC

CERTIFICA:

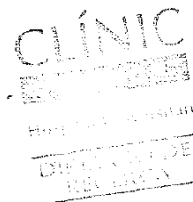
Que el Comité de Investigación del Hospital Clínic, en la sesión celebrada en el día de hoy, ha analizado el proyecto de investigación titulado:

*Enfermedad cardiovascular en la uremia: análisis de la prevalencia y relevancia de los factores de riesgo cardiovascular*

cuyo investigador principal es el Dr. **Cases, Aleix** entendiendo que dicho estudio se incluye en una de las líneas de investigación biomédica acreditadas en este centro, cumpliendo los requisitos metodológicos necesarios, y que es viable en todos sus términos, por lo que lo ha considerado adecuado y ha decidido su aprobación.

Lo que firmo en Barcelona, a 25/02/03

C.I.F. G-08431173



*Ramon Gomis de Barbera*

Ref: 1520

**D. Miguel Angel Asenjo Sebastian**, Profesor Titular de Medicina Preventiva y Salud Pública, Director Técnico del Hospital Clínic de Barcelona y Secretario del Comité Ético de Investigación Clínica,

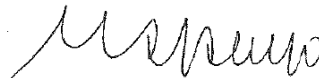
CERTIFICA:

Que el Comité Ético de Investigación Clínica, según consta en el acta de la reunión celebrada en el día de hoy, ha analizado el proyecto de investigación titulado:

*Enfermedad cardiovascular en la uremia: análisis de la prevalencia y relevancia de los factores de riesgo cardiovascular*

cuyo investigador principal es el Dr. **Cases, Aleix** entendiendo que dicho estudio se ajusta a las normas éticas esenciales y criterios deontológicos que rigen en este Centro, y, por tanto, ha decidido su aprobación.

Lo que firmo en Barcelona, a 25 de febrero de 2003



**CLÍNIC**  
**BARCELONA**  
Hospital Universitari  
**COMITÉ ÈTIC**  
**INVESTIGACIÓ CLÍNICA**

CIF. G-08431173

852

HOSPITAL CLÍNIC I PROVINCIAL DE BARCELONA  
Villarroel, 170 - 08036 Barcelona (España)  
Tel. 93 227 54 00 Fax 93 227 54 54

Ref: 1477

**ANEXO 2: Publicaciones que componen la tesis.**





## Prevalence of cardiovascular disease in uraemia and relevance of cardiovascular risk factors

S. Collado<sup>1</sup>, E. Coll<sup>2</sup>, R. Deulofeu<sup>3</sup>, L. Guerrero<sup>3</sup>, M. Pons<sup>4</sup>, J.M. Cruzado<sup>5</sup>, B. de la Torre<sup>6</sup>, M. Vera<sup>7</sup>, M. Azqueta<sup>8</sup>, C. Nicolau<sup>9</sup>, A. Cases<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Nephrology Department. Hospital del Mar. Barcelona. <sup>2</sup> Nephrology Department. Fundació Puigvert. Barcelona. <sup>3</sup> CDB. Hospital Clínic. Barcelona. <sup>4</sup> CETIRSA. Barcelona. <sup>5</sup> Institute of Haemodialysis. Barcelona. <sup>6</sup> CD Bonanova. Barcelona. <sup>7</sup> Nephrology Department. Hospital Clínic. Barcelona. <sup>8</sup> Cardiology Department. Hospital Clínic. Barcelona. <sup>9</sup> CDI. Hospital Clínic. Barcelona. Spain

Nefrologia 2010;30(3):342-8

doi: 10.3265/Nefrologia.pre2010.Apr.10410

### ABSTRACT

**Aim:** To evaluate the prevalence of cardiovascular disease (CVD) and its association with cardiovascular risk factors, as well as their control in end-stage renal disease (ESRD) patients under maintenance hemodialysis (HD). **Patients and methods:** A total of 265 patients with ESRD on maintenance HD from a University Hospital and 4 dialysis units were included in this multicenter and cross-sectional study that analyzed the prevalence of CVD and the possible association with classic and new cardiovascular risk factors. Usual biochemical and haemathological parameters were analyzed, as well as plasma levels of homocysteine, troponin-I, BNP, lipoprotein(a), C reactive protein, IL-6, fibrinogen, asymmetrical dimethylarginine (ADMA), advanced oxidation protein products (AOPP), malondialdehyde, adiponectin, osteoprotegerin, and fetuin. In a subset of patients an echocardiography and carotid artery Doppler echography were also performed. **Results:** The prevalence of CVD was 52.8%. Factors positively associated with prevalent CVD were age, BMI, left ventricular hypertrophy, hypertension, dyslipidaemia and diabetes mellitus, dialysis vintage, Charlson's comorbidity index, levels of fibrinogen, osteoprotegerin, BNP and CRP, as well as carotid intima-media thickness, left ventricular mass and pulse pressure. Factors negatively associated with prevalent CVD were: previous renal transplant, ejection fraction or levels of LDL-c and phosphorous. In the multivariate analysis dyslipidaemia, left ventricular hypertrophy, age and LDL-c (negatively) were associated with CVD. **Conclusions:** In HD patients the prevalence of CVD is high and is associated with the presence of cardiovascular risk factors and subclinical CVD.

**Key words:** End-stage renal disease. Cardiovascular disease. Cardiovascular risk factors.

### Prevalencia de enfermedad cardiovascular en la uremia y relevancia de los factores de riesgo cardiovascular

### RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar la prevalencia de ECV y su asociación con FRCV clásicos y nuevos, así como el control de los mismos en pacientes con IRCT en programa de HD. **Pacientes y métodos:** Se incluyeron 265 enfermos prevalentes con IRCT en HD de un hospital universitario y cuatro centros de diálisis. Estudio multicéntrico y transversal que analizó la prevalencia de ECV y su posible asociación con FRCV clásicos y nuevos. Se analizaron parámetros bioquímicos y hematológicos habituales, así como niveles de homocisteína, troponina-I, BNP, Lp(a), PCR, IL-6, fibrinógeno, ADMA, AOPP, malondialdehído, adiponectina, osteoprotegerina y fetuina. En un subgrupo de enfermos también se realizaron ecocardiografía y ecografía Doppler carotídea. **Resultados:** La prevalencia de ECV fue del 52,8%. Los factores asociados positivamente a ECV prevalente fueron la edad, el índice de masa corporal, los antecedentes de HVI, la HTA, la dislipemia y la diabetes mellitus, el tiempo en diálisis, el índice de comorbilidad de Charlson, los niveles elevados de fibrinógeno, la osteoprotegerina, el BNP y la PCR, así como el grosor del complejo íntima-media carotídeo, la masa ventricular izquierda o la presión de pulso. Se asociaron negativamente: los antecedentes de trasplante previo, la fracción de eyección cardíaca y los niveles de cLDL o fósforo. En el análisis multivariante, los factores asociados con ECV fueron la dislipemia, la presencia de HVI, la edad y los niveles de cLDL (negativamente). **Conclusiones:** En los pacientes con IRCT en HD, la prevalencia de ECV es elevada y se asocia con la presencia de FRCV clásicos y ECV subclínica.

**Palabras clave:** Insuficiencia renal crónica terminal. Enfermedad cardiovascular. Factores de riesgo cardiovascular

**Correspondence:** Silvia Collado Nieto  
Servicio de Nefrología.  
Hospital del Mar. Barcelona. Spain.  
scolladonieto@yahoo.es

### INTRODUCTION

Cardiovascular (CV) pathology represents the leading cause of death in patients on haemodialysis (HD) (about

half of all deaths)<sup>1-4</sup> and causes about 30% of hospitalisations.<sup>5</sup> The CV mortality rate in these patients is 10 to 20 times higher than the general population.<sup>1</sup>

The increased prevalence of CV disease (CVD) and of classic (Framingham) cardiovascular risk factors (CVRF) in uraemic patients, as well as of hypertension (HBP), diabetes, tobacco use, hyperlipidaemia, sedentary lifestyle, or left ventricular hypertrophy (LVH), do not fully explain the increased CV mortality in these patients.<sup>5,6</sup> In fact, several studies have shown that the Framingham score underestimates CV risk in renal patients.<sup>7,8</sup> On the other hand, the use of medications that have been shown to reduce CV risk in the general population, such as statins and renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) inhibitors, has not demonstrated efficacy in these patients<sup>9,10</sup> and these medications are furthermore underutilised in this population.

It has been postulated that new CVRF or uraemia specific factors may also be involved in the development of accelerated atherosclerosis and arteriosclerosis in these patients.<sup>11</sup> Furthermore, the possible role of dialysis<sup>12</sup> to increase CV risk in these patients has not been clarified. The prevalence of new or non-traditional CVRF (hyperhomocysteinaemia, lipoprotein [a] (Lp[a]), hyperfibrinogenaemia, inflammation, oxidative stress<sup>13,14</sup>) is also very high in these patients. Furthermore, the conditions associated with end-stage renal disease (ESRD) (bone-mineral disease, valvular calcification, hypervolaemia, anaemia, malnutrition, etc.) may also contribute to the increased CV morbidity and mortality in these patients.<sup>10,15-19</sup>

The aim of this study was to study the prevalence of CVD and associated CVRF in a sample of patients with ESRD on renal replacement therapy with HD.

## PATIENTS AND METHODS

### Design

We conducted a cross-sectional multicentre study, which included 265 adult patients with ESRD on HD for at least 6 months. They were clinically stable, without evidence of clinical heart failure at the time of inclusion (defined as dyspnoea plus two of the following conditions: increased jugular venous pressure, bibasilar rales, pulmonary venous hypertension, interstitial oedema requiring admission, extra ultrafiltration, or an ejection fraction < 35%), of both sexes, aged 18 and over, and agreed to participate in the study. Written informed consent was obtained from all patients and the study was approved by the Ethics Committee of Hospital Clínic.

## METHODS

Demographic characteristics were collected (age, sex, time on dialysis) as well as the presence of CVD of cardiac origin, defined by the existence of ischaemic coronary artery disease, vascular disease, history of episodes of heart failure or arrhythmia, the presence of CVD of non-cardiac origin: cerebral (cerebral vascular accident or transient ischaemic attack) or peripheral (peripheral vasculopathy of the lower extremities, amputation due to ischaemia, intestinal ischaemia, etc.), diabetes, history of hypertension, dyslipidaemia, tobacco use, and characteristics of HD (cellulose or synthetic membranes, type of vascular access, dialysis dose).

Blood pressure (BP) measurement was taken before each of the three HD sessions during the evaluation week, all after 10 minutes of rest in a supine decubitus position. Blood draws were taken before the second or third HD session of the week, after 20-30 minutes of rest in a supine decubitus position. Laboratory testing for clinical follow-up was performed for these patients (blood urea nitrogen [BUN], calcium, phosphate, albumin, PTHi, haemoglobin, ferritin, C reactive protein [PCR], Kt/V), and additional special testing included: lipoprotein(a), homocysteine, asymmetric dimethylarginine (ADMA), advanced oxidation protein products (AOPP), malondialdehyde (MDA), troponin-I, brain natriuretic peptide (BNP), osteoprotegerin, fetuin, and adiponectin. A subgroup of 120 unselected patients also underwent an echocardiogram, and 87 underwent a Doppler ultrasound of the supra-aortic trunks.

The echocardiogram measured the telediastolic and telesystolic sizes of the ventricles in order to calculate the ejection fraction and measured wall thickness in order to calculate the left ventricular mass, based on the Penn convention, and it was normalised for body surface area.

The Doppler ultrasound of the supra-aortic trunks evaluated the primitive carotid, the carotid bifurcation, and the origin of the internal carotid bilaterally. In addition, the prebifurcation carotid intima-media thickness was measured; four measurements were obtained and the mean was calculated. A normal value of  $\leq 0.9$ mm was used, based on the 2007 Consensus Hypertension Guidelines from the ESH/ESC.<sup>20</sup>

Homocysteine was determined by immunoassay in an Advia-Centaur autoanalyser (Siemens Spain, Barcelona), using reactants from the manufacturer. CRP was quantified by nephelometry (BNII Siemens Spain, Barcelona), and troponin-I by chemiluminescence immunoassay (TnI Ultra, Siemens Spain, Barcelona) in an Advia-Centaur autoanalyser (Siemens). BNP levels were also determined through chemiluminescence immunoassay (BNP, Siemens Spain, Barcelona) in an Advia-Centaur autoanalyser (Siemens).

## originals

Lipoprotein(a) was determined with immunoturbidimetry (Dia-Sorin, Barcelona, Spain), and the levels of ADMA by HPLC. Levels of adiponectin were determined by radioimmunoassay (Linco Research Inc., St. Charles, MO, USA) and levels of AOPP by a colorimetry technique.<sup>21</sup> Levels of osteoprotegerin were established through ELISA (Biomedica Medizinprodukte GmbH, Vienna, Austria) and levels of fetuin through an ELISA kit supplied by Epitope Diagnostics (Epitope Diagnostics, San Diego, California, USA).

### Statistical analysis

SPSS 15.0 was used for the statistical analysis. The data are expressed as mean  $\pm$  SD. The comparison between patients with and without CVD was analysed using a Student's t-test for unpaired data in continuous quantitative variables or the Chi square test for the qualitative variables.

If the quantitative variables did not show a normal distribution, they were analysed using the Mann-Whitney U test. A p-value < 0.05 was considered significant.

### RESULTS

In the sample of 265 patients, 68.3% were male, the mean age was  $60.7 \pm 16.17$  years and the mean time on HD was  $60.85 \pm 72.5$  months. The mean of Charlson comorbidity index was  $5.67 \pm 2.47$  points and 25.66% of patients had a history of a previous renal transplant.

The most common etiologies of renal failure were vascular and diabetic, with 17.7% of cases for each one, followed by glomerulonephritis in 17.4%, unknown cause in 16.2%, polycystic kidneys in 12.8%, chronic interstitial nephropathy in 9.4%, and other causes in 8.7% of cases.

The prevalence of CVD was 52.8%. 44.9% percent of patients had cardiac pathology and 25.3% had non-cardiac vascular disease (cerebrovascular disease or peripheral vasculopathy), as shown in Table 1. On analysis of the presence of classic CVRF, tobacco use (active and ex-smokers) was present in 41.5% of cases (16.6 and 24.9%, respectively). 26.8% of patients had a history of diabetes mellitus and 35.8% had a history of dyslipidaemia. The high prevalence of hypertension in 86.8% of subjects is notable. When the average weekly pre-dialysis blood pressure was analysed, 31.4% had a systolic pressure > 140mmHg and 3.8% had a diastolic pressure > 90mmHg. Pulse pressure was > 60mmHg in 42.3% of cases. 19.9% of patients received treatment with angiotensin converting enzyme inhibitors (ACE-I) or with angiotensin II receptor blockers (ARB) and the same percentage received beta-blocker treatment. In the subgroup of patients with coronary disease,

**Table 1.** Distribution of cardiovascular pathology in the population

Distribution of cardiovascular disease	Cases/frequency
Heart disease	119 (44.9%)
Left ventricular hypertrophy	63 (23.8%)
Coronary artery disease	52 (19.6%)
Valvular disease	20 (7.5%)
Heart failure	55 (20.8%)
Arrhythmia	49 (18.5%)
Non-cardiac vascular disease	67 (25.3%)
Total cardiovascular disease	140 (52.8%)

13.7% received ACE-I/ARB treatment while 35.3% received beta-blockers. In the global population, 26.8% received antiplatelet therapy and 6.9% received anticoagulant therapy. Of those patients with coronary disease, 41.4% received antiplatelet therapy and 10% received anticoagulants. Among diabetic patients, 38% received antiplatelet treatment and 7% received anticoagulants.

Among the classic risk factors (table 2), 12.9% had elevated cholesterol levels (> 200mg/dl), 29.5% had cLDL > 100mg/dl, 43.5% had cHDL < 40mg/dl, and 30.5% had TG > 150mg/dl. 24.1% of patients received statin therapy but among those with cLDL > 100mg/dl, only 33.8% received that treatment. Only 38.4% of patients with diabetes mellitus and cLDL > 100mg/dl received statins and 57.69% of those with a history of CVD and cLDL > 100mg/dl received them. The presence of high levels of new CVRF was also common in the patients, as seen in table 2. Markers of inflammation and malnutrition, such as CRP (> 0.8mg/dl), were elevated in 40.7% of patients, IL-6 (> 5pg/ml) in 82.3%, albumin (< 40g/l) in 39.1%, fibrinogen (> 4.5g/l) in 43%, lipoprotein(a) (> 30mg/dl) in 36%, troponin-I (> 0.1ng/ml) in 6.3%, and homocysteine (> 15mmol/l) in 89.4%. 23.2% had haemoglobin levels < 11g/l and 30.9% had a Ca x P product greater than 55mg<sup>2</sup>/dl<sup>2</sup>, with calcium and phosphate levels elevated at 34.6 and 65.6%, respectively, based on criteria from the KDOQI guidelines.

In assessing the prevalence of subclinical CVD, we observed that 74% of the patients with an echocardiogram had LVH and that 7.6% had an ejection fraction of < 40%. Of the patients with carotid Doppler ultrasounds, 25.3% had increased carotid intima-media thickness (> 0.9mm).

In the univariate analysis, the factors associated with CVD, as seen in tables 3 and 4, were age, body mass index, history of hypertension, dyslipidaemia, and diabetes mellitus, previous time on HD, Charlson's comorbidity index, elevated levels of fibrinogen and BNP, carotid intima-media thickness, left ventricular mass, and pulse

**Table 2.** Classic and non-traditional cardiovascular risk factors in the study population

Classic factors	Cases frequency Mean $\pm$ SD	% abnormal	Non-traditional factors	Mean $\pm$ SD	% abnormal
HBP	230 (86.8%)		CRP (> 0.8mg/dl)	1.25 $\pm$ 2.11	40.7%
Diabetes mellitus	71 (26.8%)		Albumin (< 40g/l)	40.12 $\pm$ 4.79	39.1%
Tobacco use	100 (41.5%)		Homocysteine (> 15 $\mu$ mol/l)	28.40 $\pm$ 15.4	89.4%
Dyslipidaemia	95 (35.8%)		Lp(a) (> 30mg/dl)	30.88 $\pm$ 33.07	36%
LVH	63 (23.8%)		IL-6 (> 5pg/ml)	40.5 $\pm$ 128.57	82.3%
Male sex	181 (68.3%)		Troponin-I (> 0.1ng/ml)	0.046 $\pm$ 0.11	6.3%
Total cholesterol (> 200mg/dl)	155.14 $\pm$ 38.31	12.9%	Haemoglobin (< 11g/l)	12.31 $\pm$ 1.92	23.2%
cLDL (> 100mg/dl)	84.63 $\pm$ 29.66	29.5%	Ca x P product (> 55)	48.92 $\pm$ 15.33	30.9%
cHDL (< 40mg/dl)	44.07 $\pm$ 13.73	43.5%	Phosphate (> 4.5mg/dl)	5.27 $\pm$ 1.59	65.6%
			Calcium (> 9.5mg/dl)	9.28 $\pm$ 0.92	34.6%
			Fibrinogen (> 4.5g/l)	4.41 $\pm$ 1.08	43%

HBP: hypertension; LVH: left ventricular hypertrophy; CRP: C reactive protein.

pressure. The following factors were negatively associated with the presence of CVD: history of previous renal transplant, cardiac ejection fraction, and low levels of cLDL and phosphate.

In the multivariate analysis, the factors associated with CVD were age, dyslipidaemia, LVH, and negatively the level of cLDL, as shown in Table 5. By ROC analysis, these factors predicted CVD prevalence with a value of 0.736 (95% CI: 0.675-0.797). (Figure 1).

**Table 3.** Comparison of patients with and without cardiovascular disease

Associated clinical factors	CVD (mean $\pm$ SD)	No CVD (mean $\pm$ SD)	P
Age (years)	65.82 $\pm$ 13.89	54.93 $\pm$ 16.64	< 0.001
Time undergoing HD (months)	50.42 $\pm$ 61.78	72.44 $\pm$ 81.65	0.015
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.77 $\pm$ 4.41	23.54 $\pm$ 4.2	0.023
SBP (mmHg)	132.59 $\pm$ 21.03	128.35 $\pm$ 22.78	0.136
DBP (mmHg)	70.46 $\pm$ 10.35	72.04 $\pm$ 13.30	0.310
MAP (mmHg)	91.17 $\pm$ 12.44	90.81 $\pm$ 15.35	0.843
PP (mmHg)	62.13 $\pm$ 16.99	56.30 $\pm$ 15.77	0.007
Sex (male/female)	103/37	78/47	0.064
Previous transplant (yes/no)	28/112	40/85	0.034
Tobacco use (yes/no/ex)	27/76/37	17/79/29	0.292
Diabetes mellitus (yes/no)	50/90	21/104	0.001
HBP (yes/no)	128/12	102/23	0.028
Dyslipidaemia (yes/no)	61/79	34/91	0.007
Charlson comorbidity index	6.84 $\pm$ 2.36	4.35 $\pm$ 1.85	< 0.001
Inter-HD weight gain (kg)	2.55 $\pm$ 0.91	2.75 $\pm$ 0.96	0.115
Dialysis dose (Kt/Veq)	1.37 $\pm$ 0.20	1.42 $\pm$ 0.25	0.057
Ventricular mass index (g)	271.76 $\pm$ 70.89	243.53 $\pm$ 64.56	0.006
LVH (yes/no)	44/96	19/106	0.002
Ejection fraction (%)	56.44 $\pm$ 11.56	61.05 $\pm$ 8.31	0.002
CIMT (mean)	0.882 $\pm$ 0.321	0.700 $\pm$ 0.202	0.002

CVD: cardiovascular disease; HD: haemodialysis; BMI: body mass index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; MAP: mean arterial pressure; PP: pulse pressure; HBP: hypertension; LVH: left ventricular hypertrophy; CIMT: Carotid intima-media thickness.

**Table 4.** Comparison of analytic parameters between patients with and without cardiovascular disease

Associated Analytic Factors	CVD (mean $\pm$ SD)	No CVD (media $\pm$ SD)	P
Fibrinogen (g/l)	4.56 $\pm$ 1.05	4.25 $\pm$ 1.09	<b>0.024</b>
CRP (mg/dl)	1.53 $\pm$ 2.70	0.96 $\pm$ 1.13	<b>0.027</b>
Albumin (g/l)	39.57 $\pm$ 4.77	40.73 $\pm$ 4.75	<b>0.053</b>
IL-6 (pg/ml) <sup>a</sup>	17 (8, 33)	17 (6, 26.75)	0.316
Ferritin (ng/ml)	312 (160, 520)	323 (149.5, 517.5)	0.746
Homocysteine ( $\mu$ mol/l)	28.08 $\pm$ 14.60	28.74 $\pm$ 16.28	0.736
Troponin I (ng/ml)	0.043 $\pm$ 0.047	0.049 $\pm$ 0.151	0.681
BNP (pg/ml) <sup>a</sup>	243.1 (114.7, 508.4)	153.24 (99.46, 332.73)	<b>0.015</b>
AOPP ( $\mu$ mol/l)	195.6 $\pm$ 92.2	186.5 $\pm$ 104.0	0.478
ADMA ( $\mu$ mol/l)	0.81 $\pm$ 0.36	0.8031 $\pm$ 0.33	0.767
Malondialdehyde (nmol/l)	52.25 $\pm$ 27.74	57.56 $\pm$ 48.86	0.297
Osteoprotegerin ( $\mu$ mol/l) <sup>a</sup>	9.43 (6.66, 13.34)	7.96 (5.15, 12.27)	0.032
Ferritin (ng/ml)	42.60 $\pm$ 39.60	43.73 $\pm$ 27.21	0.805
Adiponectin ( $\mu$ g/ml)	19.90 $\pm$ 3.41	21.21 $\pm$ 7.7	0.220
Total cholesterol (mg/dl)	151.28 $\pm$ 39.31	159.4 $\pm$ 36.86	<b>0.085</b>
cLDL (mg/dl)	80.17 $\pm$ 29.08	89.55 $\pm$ 29.63	<b>0.012</b>
Lipoprotein a (mg/dl)	33.14 $\pm$ 33.84	28.46 $\pm$ 32.20	0.279
Calcium (mg/dl)	9.35 $\pm$ 0.89	9.21 $\pm$ 0.95	0.250
Phosphate (mg/dl)	5.07 $\pm$ 1.60	5.49 $\pm$ 1.56	<b>0.035</b>
Haemoglobin (g/l)	12.40 $\pm$ 1.82	12.20 $\pm$ 2.02	0.395

<sup>a</sup> For variables with non-normal distributions, a non-parametric test was performed for independent variables (Mann-Whitney U test).

CVD: cardiovascular disease; CRP: C reactive protein; BNP: brain natriuretic peptide; AOPP: advanced oxidation protein products; ADMA: Asymmetric dimethylarginine.

## DISCUSSION

The results of this study, carried out in a population of patients with CKD on HD, emphasize the high prevalence of CVD, which is consistent with results from other similar series. This would explain, in part, the high incidence of fatal and non-fatal cardiovascular pathology in these patients. Furthermore, the prevalence of subclinical CVD (LVH or increased carotid intima-media thickness), as well as of classic and new CVRF is high in this unselected population of patients on HD.

The elevated cardiovascular risk in patients on HD is much higher to that of the general population, and even to other groups of patients recognised to have high cardiovascular risk (e.g., diabetics or hypertensives). This is in part

explained by the high prevalence of CVD, both clinical and subclinical. In the univariate analysis, the factors associated with the presence of CVD were age, the presence of subclinical CVD or classic CVRF, markers of inflammation-malnutrition, or markers of cardiac disease, such as BNP. In the multivariate analysis, only some classic CVRF and LVH maintained their predictive value.

The apparent discrepancy between the predictive value of dyslipidaemia and the lowest levels of cLDL may be explained in several ways. The clinical history of dyslipidaemia included hypercholesterolaemia, but also low levels of cLDL or hypertriglyceridaemia (the latter two being more common in kidney patients); on the other hand, patients with CVD were more often given statins and, lastly, low levels of cLDL may be associated with inflammation-

**Table 5.** Associated factors in the multivariate analysis

Associated factors	B	Exp (B)	95% CI	p
Dyslipidaemia	0.713	2.040	1.131-3.678	0.018
LVH	0.768	2.156	1.119-4.156	0.022
cLDL	-0.071	0.931	0.976-0.995	0.004
Age	0.200	1.222	1.022-1.060	< 0.001

malnutrition (another recognised CVRF in this population). These data reinforce the predictive role of classic CVRF for the prediction of CVD in patients on HD. An interesting finding in the univariate analysis was that patients with CVD had significantly higher levels of osteoprotegerin. In recent years there has been a growing interest in the possible role of abnormalities in mineral metabolism, in its markers (e.g., osteoprotegerin, fetuin, or FGF-23), or in the vascular calcifications on cardiovascular morbidity and mortality in patients on HD. Therefore, a relationship between elevated levels of osteoprotegerin and vascular calcification and mortality has been described in these patients.<sup>22</sup> Although the predictive role of OPG was lost in the multivariate analysis, our results add to the association between this marker and CVD in these patients.

Another aspect of our study that is important to draw attention is the poor CVRF control and scarce use of treatments with demonstrated CV protective effects in the non-uraemic population (RAAS inhibitors, statins, antiplatelet agents) in our population even among patients with diabetes or CVD, similar to what has been described in the literature.<sup>23</sup> This low CVRF control and a certain “therapeutic nihilism” that is detected in our study may contribute to elevated morbidity and mortality in patients on HD. This may be due, in part, to polypharmacy, which hinders therapeutic compliance and facilitates therapeutic inertia, in addition to the scant evidence of the beneficial effects of the aforementioned treatments in reducing the risk of events in patients on HD.<sup>9,10,24</sup>

To conclude, the prevalence of clinical and subclinical CVD is very high in our population of patients on HD. Furthermore, the prevalence of classic and new CVRF is also high. The factors predictive of clinical CVD in our population were age and the presence of subclinical CVD (LVH) and classic CVRF. Furthermore, controlling CVRF and using cardioprotective medications in this general population is not sufficient, according to recommendations from the various clinical practice guidelines for these patients. Efforts must be made for early and aggressive treatment (in the pre-dialysis stage) of the CVRF in these patients in order to try to reduce their high CV morbidity and mortality.

## REFERENCES

1. Levey AS, Betó JA, Coronado BE, Eknoyan G, Foley RN, Kasiske BL, et al. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: what do we know? What do we need to learn, Where do we go from here? *Am J Kidney Dis* 1998;32:853-906.
2. Rostand SG, Brunzell JD, Cannon RD, Victor RG. Cardiovascular complications in renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1991;2:1053-62.
3. Parfrey PS, Harnett JD. Long-term cardiac morbidity and mortality during dialysis therapy. *Adv Nephrol* 1994;23:311-31.

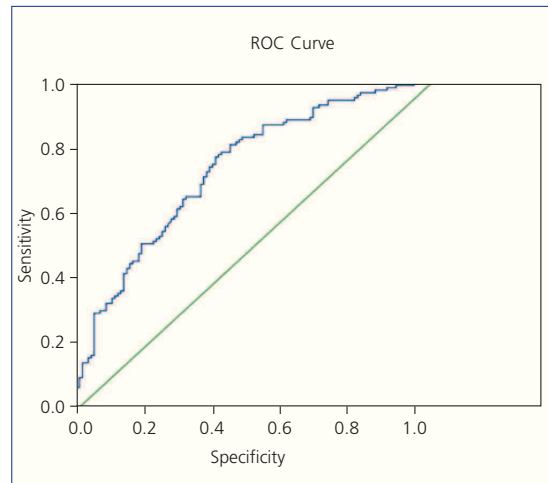


Figure 1. Analysis of ROC curves.

4. USRDS US Renal Data System 1999. Annual Data Report. The National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Bethesda, MD. [www.usrds.org/adr\\_1999.htm](http://www.usrds.org/adr_1999.htm)
5. Sarnak MJ, Levey AS. Epidemiology of cardiac disease in dialysis patients. *Semin Dial* 1999;12:69-76.
6. Zoccali C. Cardiovascular risk in uraemic patients-is it fully explained by classical risk factors? *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:454-7.
7. Weiner DE, Tighiouart H, Elsayed EF, Griffith JL, Salem DN, Levey AS, et al. The Framingham predictive instrument in chronic kidney disease. *J Am Coll Cardiol* 2007;50(3):217-24.
8. Shah DS, Polkinghorne KR, Pellicano R, Kerr PG. Are traditional risk factors valid for assessing cardiovascular risk in end-stage renal failure patients? *Nephrology* 2008;13:667-71.
9. Wanner C, Krane V, Marz W, Olschewski M, Mann JF, Ruf G, et al.; German Diabetes and Dialysis Study Investigators. Atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 2005;353:238-48.
10. Zannad F, Kessler M, Lehert P, Grünfeld JP, Thuilliez C, Leizorovicz A, et al. Prevention of cardiovascular events in end-stage renal disease: results of a randomized trial of foscipril and implications for future studies. *Kidney Int* 2006;70:1318-24.
11. Lindner A, Charra B, Sherrard DJ, Scribner BH. Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 1974;290:697-701.
12. Joki N, Hase M, Fukazawa M, Nakamura R, Ishikawa H, Tanaka Y, Inishi et al. Progression of coronary atherosclerosis is accelerated in hemodialyzed patients than chronic renal insufficiency patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:171A.
13. Stenvinkel P, Alvestrand A. Inflammation in end-stage renal disease: sources, consequences and therapy. *Semin Dialysis* 2002;15:329-37.
14. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Gausson V, Mothu N, et al. Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005;45:39-47.

15. Zoccali C. Cardiorenal risk as a new frontier of nephrology: research needs and areas for intervention. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(Suppl 11):50-4.
16. Becker BN, Himmelfarb J, Henrich WL, Hakim RM. Reassessing the cardiac risk profile in chronic hemodialysis patients: A hypothesis on the role of oxidant stress and other non-traditional cardiac risk factors. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:475-86.
17. London GM, Guerin AP, Marchais SJ, Pannier B, Safar M, Day M, et al. Cardiac and arterial interactions in end-stage renal disease. *Kidney Int* 1996;50:600-8.
18. Blacher J, Safar ME, Pannier B, Guerin AP, Marchais SJ, London GM. Prognostic significance of arterial stiffness measurements in end-stage renal disease patients. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002;11:629-34.
19. Rakhit DJ, Marwick TH, Armstrong KA, Johnson DW, Leano R, Isbel NM. Effect of aggressive risk factor modification on cardiac events and myocardial ischaemia in patients with chronic kidney disease. *Heart* 2006;92:1402-8.
20. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, et al. ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension. 2007 ESH-ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens* 2007;25:1751-62.
21. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996;49:1304-13.
22. Nishiura R, Fujimoto S, Sato Y, Yamada K, Hisanaga S, Hara S, et al. Elevated osteoprotegerin levels predict cardiovascular events in new hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2009;29:257-63.
23. Ezekowitz J, McAlister FA, Humphries KH, Norris CM, Tonelli M, Ghali WA, et al.; APPROACH Investigators. The association among renal insufficiency, pharmacotherapy, and outcomes in 6,427 patients with heart failure and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1587-92.
24. Fellström BC, Jardine AG, Schmieder RE, Holdaas H, Bannister K, Beutler J, et al AURORA Study Group. Rosuvastatin and cardiovascular events in patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 2009;360:1395-407.





RESEARCH ARTICLE

# Carotid Atherosclerotic Disease Predicts Cardiovascular Events in Hemodialysis Patients: A Prospective Study

Sílvia Collado<sup>1</sup>\*, Elisabeth Coll<sup>2</sup>, Carlos Nicolau<sup>3</sup>‡, Mercedes Pons<sup>4</sup>‡, Josep M Cruzado<sup>5</sup>‡, Julio Pascual<sup>1</sup>, Aleix Cases<sup>6</sup>

**1** Nephrology Department, Hospital del Mar, Barcelona, Spain, **2** Nephrology Department, Fundació Puigvert, Barcelona, Spain, **3** Radiology Department, Hospital Clínic, Barcelona, Spain, **4** CETIRSA Barcelona, Fresenius Medical Care, Barcelona, Spain, **5** Institut Hemodíalisi Barcelona, Diaverum, Barcelona, Spain, **6** Nephrology Department, Hospital Clínic and Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

\* These authors contributed equally to this work.

‡ These authors also contributed equally to this work.

\* [scolladoniato@yahoo.es](mailto:scolladoniato@yahoo.es)



CrossMark  
click for updates

## OPEN ACCESS

**Citation:** Collado S, Coll E, Nicolau C, Pons M, Cruzado JM, Pascual J, et al. (2015) Carotid Atherosclerotic Disease Predicts Cardiovascular Events in Hemodialysis Patients: A Prospective Study. *PLoS ONE* 10(6): e0127344. doi:10.1371/journal.pone.0127344

**Academic Editor:** Xiao-Feng Yang, Temple University School of Medicine, UNITED STATES

**Received:** December 16, 2014

**Accepted:** April 13, 2015

**Published:** June 1, 2015

**Copyright:** © 2015 Collado et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data (from the FIS Project 03/0791) are within the paper and its Supporting Information files (SPSS database).

**Funding:** This study was supported in part by the FISS project 03/0791 (a public grant from the Spanish Ministry of Health) [Fondo de Investigación Sanitaria Instituto Carlos III, Ministerio de Sanidad y Consumo. FIS project 03/0791. <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-investigacion/fd-financiacion/convocatorias-ayudas-accion-estrategica-salud.shtml>].

## Abstract

### Background

To evaluate the predictive value of carotid atherosclerotic disease (CAD) and intima-media thickness (IMT) on incident cardiovascular disease and mortality in hemodialysis patients.

### Methods

Multicenter, observational, prospective study including 110 patients, followed-up to 6 years. Carotid doppler ultrasonographic findings were classified in 4 degrees of severity: 1) IMT <0.9 mm, 2) IMT >0.9 mm, 3) carotid plaque with stenosis <50% and 4) plaque with stenosis >50%. The associations between IMT and CAD and cardiovascular events, total and cardiovascular mortality were assessed.

### Results

83% of the patients had atherosclerotic plaques (CAD degrees 3-4). During follow-up, 29.1% of patients experienced cardiovascular events, and 28.2% died, 38.7% of cardiovascular origin. The presence of plaques was associated with cardiovascular events ( $p = 0.03$ ) while calcified plaques were associated with both cardiovascular events ( $p = 0.01$ ), cardiovascular mortality ( $p = 0.03$ ) and non-significantly with overall mortality ( $p = 0.08$ ) in the survival analysis. Carotid IMT was not associated with outcomes. Cardiovascular events correlated with CAD severity (HR 2.27, 95% CI 1.13-4.54), age (HR 1.04, 1.01-1.06), previous cardiovascular disease (HR 1.75, 1.05-4.42), dyslipidemia (HR 2.25, 1.11-4.53), lipoprotein (a) (HR 1.01, 1.00-1.02), troponin I (HR 3.89, 1.07-14.18), fibrinogen levels (HR 1.38, 0.98-1.94) and antiplatelet therapy (HR 2.14, 1.04-4.4). In an age-adjusted multivariate model, cardiovascular events were independently associated with previous coronary artery disease (HR 3.29, 1.52-7.15) and lipoprotein (a) (HR 1.01, 1.00-1.02).

**Competing Interests:** "CETIRSA Barcelona" provided support in the form of salary for Dr Mercedes Pons, but did not have any additional role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or manuscript preparation. "DIAVERUM Barcelona" provided support in the form of salary for Dr. Josep Maria Cruzado, but did not have any additional role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or manuscript preparation. The specific roles of these authors are articulated in the 'author contributions' section, only with the hemodialysis patients' recruitment. Thus, this does not alter the authors' adherence to PLOS ONE policies on sharing data and materials.

## Conclusions

The presence of carotid plaques and, especially, calcified plaques, are predictors of new cardiovascular events and cardiovascular mortality in hemodialysis patients, while IMT was not. The prognostic value of calcified plaques should be confirmed in future studies.

## Introduction

Cardiovascular (CV) disease is the main cause of mortality in hemodialysis (HD) patients [1–4]. However, the high prevalence of CV disease and traditional CV risk factors, such as hypertension, diabetes, smoking, dyslipidemia, sedentary lifestyle, or left ventricular hypertrophy, do not fully explain this increased CV risk in uremic patients [5,6]. In fact, the Framingham Risk Score underestimates the CV risk in HD patients, thus suggesting that other factors are involved in the development and progression of the CV disease in these patients [5]. In recent years, several markers have been reported to have prognostic implications in dialysis patients [7]. Among them, an increased carotid intima-media thickness (IMT) has been associated with CV disease and risk of stroke, both in the general population and in HD patients [8,9]. This parameter is associated with traditional and emerging CV risk factors, as well as with the progression, stabilization, and regression of atherosclerosis with lipid-lowering and antihypertensive treatments in the general population [10–13].

On the other hand, the presence of carotid plaques is considered as target organ damage by the ESH-ESC Practice Guidelines for the Management of Hypertension, and it is an independent marker of increased risk and the likelihood of CV events or mortality in HD patients [9,14,15]. It is tempting to speculate that, while IMT may be a better marker of arteriosclerosis and arterial stiffness, which are highly prevalent in HD patients, carotid atherosclerosis (presence of plaques) is a marker of subclinical atherosclerosis and a better predictor of CV events than IMT in these patients.

Currently, the assessment of IMT and carotid plaques is not uniform, making it difficult to interpret and compare the results between studies [16]. In addition, there are only few long-term prospective studies evaluating the prognostic value of carotid ultrasound findings in the HD population [9,15,17,18].

The aim of this study was to assess the predictive value of carotid IMT, the presence of carotid atherosclerotic plaques and their characteristics, on the incidence of CV disease and overall and CV mortality in HD patients.

## Material and Methods

### Design

This was a multicenter, observational, cross-sectional and prospective study including 110 adult patients with end-stage renal disease on maintenance HD for at least 6 months from the Hospital Clinic and 4 satellite HD units. Patients had to be clinically stable and without evidence of clinical heart failure at the time of enrollment. Clinical heart failure was defined as dyspnea plus two of the following conditions: increased jugular venous pressure, bibasilar pulmonary rales, pulmonary venous hypertension or interstitial edema requiring hospitalization or ultrafiltration and/or a left ventricular ejection fraction <25%. Patients agreed to participate in the study and signed an informed written consent. The study was approved by the Ethics' Committee of the Hospital Clinic (Barcelona, Spain).

All patients underwent a carotid Doppler ultrasound study, evaluating the common carotid, bifurcation and the origin of the internal carotid artery, analyzing the presence of plaques, calcifications and degree of stenosis (1–4) [16], in addition to measuring the carotid IMT according to the Mannheim Consensus 2006. Carotid atherosclerotic disease (CAD) was classified in 4 degrees of severity (Grade 1: IMT <0.9 mm, grade 2: IMT > 0.9 mm, grade 3: presence of carotid plaques with stenosis <50% and grade 4: presence of carotid plaques with stenosis >50%).

At baseline, anthropometric, demographic, clinical and analytical data were collected at baseline: age, sex, time on HD, previous kidney transplants, and etiology of renal disease; history of CV risk factors (hypertension, diabetes, hypercholesterolemia, smoking); characteristics of the HD, and concomitant treatments (antihypertensive, lipid-lowering and antiplatelet/anti-coagulant agents, vitamin D analogs, erythropoiesis stimulating agents and doses of calcium and intravenous iron). The Charlson comorbidity index was also calculated. Patients were followed up for a maximum of 6 years, and events including: CV disease of cardiac origin (defined as coronary artery disease events, congestive heart failure or cardiac arrhythmias), cerebrovascular events (stroke or transient ischemic attack) and peripheral arterial events (peripheral artery disease, mesenteric ischemia, etc.), as well as total and CV mortality were collected, until death, loss to follow-up or kidney transplantation. The associations of CAD and IMT with CV events, CV and overall mortality were prospectively assessed.

## Methods

Blood pressure was measured before each HD session during one week. Blood samples were obtained before the second dialysis session of the week after 20–30 minutes of rest in a supine position. At baseline, the following biochemical and hematological parameters were also measured: calcium, phosphorus, CaxP product, iPTH, total cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, hemoglobin, fibrinogen, ferritin, C reactive protein (CRP), blood urea nitrogen (BUN) and Kt/V. Additional special tests included: lipoprotein (a), homocysteine, troponin-I and brain natriuretic peptide (BNP).

Carotid Doppler ultrasound was performed with the model color Doppler ultrasound equipment and software to measure IMT. We used a high resolution linear transducer with 7.5 MHz of frequency and 0.1 mm of resolution in real time image and 3.75 MHz for Doppler. Subjects were placed in a supine position with the head rotated 45°, contralateral to the examined carotid. Three segments were examined: the common carotid artery at 1 cm proximal to the carotid bulb, the carotid bifurcation (1–2 cm) and the origin of the internal carotid (1 cm distal to the bifurcation) bilaterally. Carotid IMT was measured at 1 cm prebifurcation, explored in a longitudinal section on the far wall, obtaining 4 measurements at regular intervals. We calculated the average of 8 measurements, right and left, considering as a normal value an IMT  $\leq$  0.9 mm, according to the criteria of the European Guidelines on Hypertension of the ESC-ESH of 2007 [14]. We defined the presence of plaque as a focal structure that invaded the arterial lumen of at least 0.5 mm or >50% of the surrounding IMT or demonstrated a thickening >1.5 mm measured from the media-adventitia interface to the intima-lumen interface [16]. For plaque evaluation, longitudinal and transverse section in B mode were performed and then, analyzed in each vessel by color Doppler and describing the location, number and structural ultrasonographic features, including calcification.

## Statistical analysis

Data were analyzed using the software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, version 20.0, SPSS Inc). Comparison of continuous variables was performed by using the Student's t test for unpaired data and the Chi-square test for qualitative variables. If continuous variables

did not show a normal distribution, data were analyzed using the Mann-Whitney’s U test. Survival analysis was carried out by using the Kaplan-Meier test and multivariate Cox regression analysis. A P-value <0.05 was considered significant.

## Results

### Demographics and baseline assessment

The demographic parameters of the 110 patients included are summarized in [Table 1](#). Sixty nine percent were male, mean age was  $58.9 \pm 15.3$  years and median time on HD 37 [14.75, 85.5] months. The mean Charlson comorbidity index was  $5.26 \pm 2.18$  points, and 27.3% of the patients had had a previous renal transplant. The most common causes of end-stage renal disease were vascular (19.1%) and glomerular (19.1%), followed by unknown etiology (16.4%) and diabetic nephropathy (15.5%). The prevalence of CV disease at baseline was 52.7%: 46.4% of patients had a history of cardiac disease and 17.3% had non-cardiac vascular disease

**Table 1. Descriptive analysis of the hemodialysis population and carotid ultrasound findings.**

	(Mean ± SD)(Cases/%)
<b>Patients (n)</b>	110
<b>Age (years)</b>	$58.9 \pm 15.3$
<b>Sex (male/female)</b>	76 (69.1%)/34 (30.9%)
<b>Charlson Comorbidity Index</b>	$5.26 \pm 2.18$
<b>Body mass index (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	$24.33 \pm 4.39$
<b>Time on HD (months)</b>	37 [14.75, 85.5]
<b>Dialysis dose (eKt/V)</b>	$1.35 \pm 0.22$
<b>Previous kidney transplant</b>	30 (27.3%)
<b>Previous heart disease</b>	51 (46.4%)
<b>Previous cerebrovascular or peripheral artery disease</b>	19 (17.3%)
<b>Mean blood pressure (mmHg)</b>	$90.72 \pm 13.18$
<b>Tobacco use (yes/no/former)</b>	23/63/24 (20.9%/57.3%/21.8%)
<b>Diabetes mellitus (yes/no)</b>	24 (21.8%)/86 (78.2%)
<b>Hypertension (yes/no)</b>	94 (85.5%)/16 (14.5%)
<b>Dyslipidemia (yes/no)</b>	43 (39.1%)/67 (60.9%)
<b>Left ventricular hypertrophy (yes/no)</b>	34 (30.9%)/76 (69.1%)
<b>IMT mean (mm)</b>	$0.78 \pm 0.28$ mm
<b>IMT &gt; 0.9 mm</b>	37 (40.2%)
<b>Presence of Plaques</b>	93 (83.6%)
<b>Calcified plaques</b>	80 (72.7%)
<b>Presence of Stenosis</b>	43 (39.1%)
<b>&lt; 50%</b>	32 (29.1%)
<b>50–70%</b>	8 (7.3%)
<b>&gt; 70%</b>	2 (1.8%)
<b>Occlusion</b>	1 (0.9%)
<b>Stage classification according to IMT and plaques</b>	
<b>Grade 1 (IMT &lt;0.9 mm, no plaques)</b>	17 (15.5%)
<b>Grade 2 (IMT &gt;0,9 mm, no plaques)</b>	1 (0.9%)
<b>Grade 3 (Plaque with stenosis &lt;50%)</b>	81 (73.6%)
<b>Grade 4 (Plaque with stenosis &gt;50%)</b>	11 (10%)

HD: Hemodialysis. IMT: Intima media thickness.

doi:10.1371/journal.pone.0127344.t001

**Table 2. Association between abnormal intima-media thickness (IMT) and plaques with clinical and laboratory parameters.**

	IMT >0.9 mm (n = 37)	IMT <0.9 mm (n = 55)	P-Value (IMT>0,9 vs <0,9)	Plaques (n = 92)	No plaques (n = 18)	P-Value (plaques vs no plaques)
Sex (M/F)	31/6	32/23	<b>0.01</b>	64/28	12/6	0.78
Age (years)	66.3 ± 12.7	52.7 ± 14.1	<b>&lt;0.001</b>	61.7 ± 14.3	44.7 ± 12.3	<b>&lt;0.001</b>
Time on HD (months)	38 [15, 86]	57 [20,144]	0.33	37 [17,84]	39 [11,174]	0.87
Charlson comorbidity index	6.16 ± 2.15	4.4 ± 1.89	<b>&lt;0.001</b>	5.5 ± 2.17	4.06 ± 1.86	<b>0.01</b>
Previous kidney transplant (yes/no)	6/31	21/34	<b>0.03</b>	24/68	6/12	0.56
Tobacco (yes/no)	21/16	16/39	<b>0.01</b>	42/50	5/13	0.19
Hypertension (yes/no)	33/4	46/9	0.55	84/8	10/8	<b>0.001</b>
Calcium (mg/dl)	9.31 ± 0.85	9.05 ± 1.0	0.19	9.28 ± 0.94	8.8 ± 0.77	0.07
Phosphate (mg/dl)	5.09 ± 1.28	6.04 ± 1.76	<b>0.006</b>	5.71 ± 1.72	5.76 ± 1.82	0.9
Calcium Phosphorus product	47.2 ± 11.9	54.4 ± 15.7	<b>0.01</b>	52.7 ± 15.7	51.3 ± 17.8	0.73
Pulse pressure (mmHg)	63.8 ± 18	54.6 ± 17.1	<b>0.02</b>	59.9 ± 16.7	50.0 ± 14.4	<b>0.03</b>
Arrhythmia (yes/no)	13/24	5/50	<b>0.003</b>	22/70	0/18	<b>0.02</b>
Prevalent cardiovascular disease (yes/no)	13/24	35/20	<b>0.01</b>	41/51	12/6	0.12
Cardiovascular events (yes/ no)	12/25	12/43	0.33	31/61	1/17	<b>0.02</b>
Intima media thickness (mm)				0.81 ± 0.28	0.58 ± 0.14	<b>0.04</b>
Left ventricular mass (g)	252.5 ± 57.8	273.1 ± 56.4	0.12	273.5 ± 64.9	228.7 ± 49.1	<b>0.01</b>
CRP (mg/dl)	1.05 ± 1.31	1.08 ± 0.95	0.9	1.17 ± 1.2	0.56 ± 0.59	<b>0.003</b>
Fibrinogen (g/l)	4.42 ± 0.97	4.65 ± 0.81	0.25	4.73 ± 0.88	3.8 ± 0.78	<b>&lt;0.001</b>

HD: Hemodialysis. CRP: C reactive protein

doi:10.1371/journal.pone.0127344.t002

(cerebrovascular disease or peripheral artery disease). The prevalence of traditional CV risk factors is included in [Table 1](#).

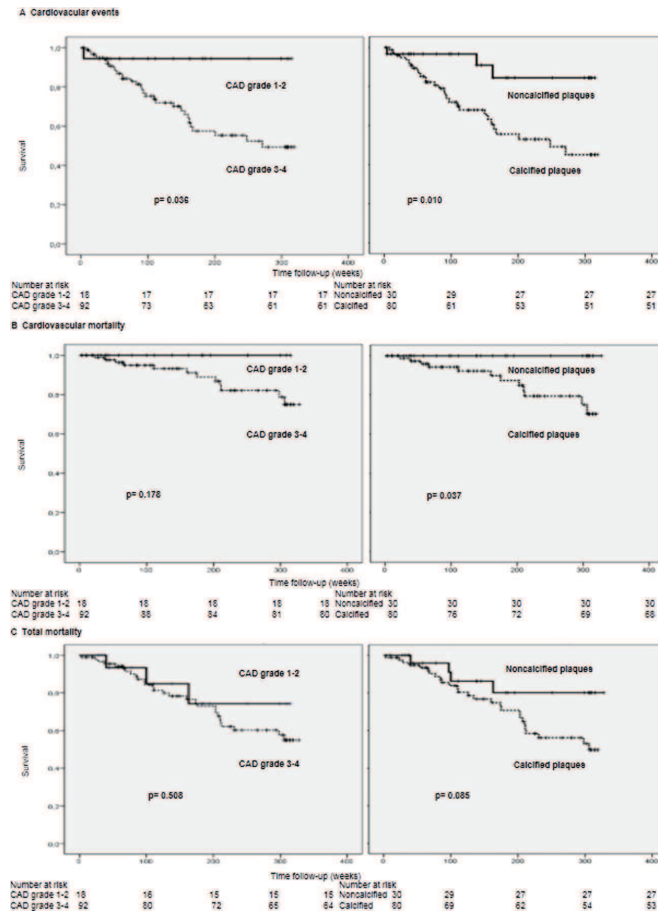
Mean IMT was 0.78 ± 0.28 mm (n = 92). In 40.2% of the cases, IMT was abnormal. The presence of carotid plaques was very common (83.6% of patients), showing some degree of stenosis in 43 of them (39.1%). Furthermore, most patients had their plaques calcified (72%). Thus, most of our patients were allocated to the more severe degrees of our CAD classification (degrees 3–4) ([Table 1](#) and [S1 Fig](#)).

In the univariate analysis, pathological carotid IMT was positively associated with age, male sex, previous CV disease, smoking, Charlson comorbidity index and pulse pressure. And negatively with history of a previous transplant, serum phosphate levels and calcium-phosphorus product ([Table 2](#)).

The presence of atherosclerotic plaques showed a positive correlation with age, hypertension, history of arrhythmia, IMT, Charlson comorbidity index, pulse pressure, left ventricular mass index, CRP and fibrinogen levels. We did not find differences with daily calcium dose or calcium/phosphorous product between patients with calcified plaques and non-calcified plaques.

### Prospective observational study

During a mean follow-up of 3.17 ± 2.07 years, 42 (38.2%) patients received a kidney transplant and 11 patients (10%) were lost to follow-up. Thirty-two patients (29.1%) suffered new cardiac (69%) or vascular events (31%), the most frequent type being coronary artery disease-related events, such as acute myocardial infarction (22%); arrhythmia (19%), heart failure (16%) and



**Fig 1. Actuarial survival in patients according to carotid atherosclerotic disease grades (grade 1–2 versus grade 3–4) and calcified versus non-calcified plaques.** A) Survival analysis of patients free of cardiovascular events. B) Cardiovascular mortality-free patients. C) Overall mortality free patients.

doi:10.1371/journal.pone.0127344.g001

peripheral vascular disease (16%). Total mortality was 28.2%, being of CV origin in 38.7% of cases. Among the CV causes of death the most frequent were also myocardial infarction (13%), sudden death (10%) and vascular pathology (9%). Among the non-CV causes of mortality, the most frequent were infectious diseases (26%), followed by bleeding (16%), and cancer (10%) (S1 Table). Patients with previous cardiovascular disease had more new cardiovascular events (36.2%, 21/58) and a higher total mortality (32.75%, 19/58) during the follow-up compared with patients without prevalent cardiovascular disease at baseline (21.15%, 11/52 and 23% 12/52, respectively).

In the Kaplan Meier survival analysis, the most severe degrees of carotid atherosclerotic disease (degrees 3 and 4) were associated with new CV events ( $p = 0.03$ ) (Fig 1). Overall and CV

mortality were also higher in the group with severe CAD, but without reaching statistical significance.

The presence of calcified plaques was associated with new CV events ( $p = 0.01$ ), CV mortality ( $p = 0.03$ ) and non-significantly with overall mortality in the survival analysis ( $p = 0.08$ ) (Fig 1).

Carotid IMT did not correlate with new CV events, overall or CV mortality in our analysis.

### Cox regression analysis and multivariate analysis

In the univariate Cox regression analysis, new cardiovascular events showed a positive correlation with CAD severity (HR 2.27, 95% CI 1.13–4.54,  $p = 0.02$ ), age (HR 1.04, 95% CI 1.01–1.06,  $p = 0.004$ ), previous CV disease (HR 1.75, 95% CI 1.05–4.42,  $p = 0.03$ ) and, especially, coronary artery disease (HR 4.14, 95% CI 2.05–8.37,  $p < 0.001$ ), as well as, dyslipidemia (HR 2.25, 95% CI 1.11–4.53,  $p = 0.02$ ), lipoprotein (a) (HR 1.01, 95% CI 1.00–1.02,  $p = 0.02$ ), troponin I (HR 3.89, 95% CI 1.07–14.18,  $p = 0.03$ ), antiplatelet therapy (HR 2.14, 95% CI 1.04–4.4,  $p = 0.03$ ) and fibrinogen levels (HR 1.38, 95% CI 0.98–1.94,  $p = 0.05$ ) (Table 3). And negatively with diastolic blood pressure (HR 0.97, 95% CI 0.95–1.00,  $p = 0.05$ ). All these significant values were included in a stepwise multivariate Cox model. In the final multivariate model, new CV events were independently associated with age (HR: 1.04, 95% CI 1.01–1.06,  $p = 0.007$ ), history of coronary artery disease (HR: 3.29, 95% CI 1.52–7.15, ( $p = 0.003$ ) and lipoprotein (a) (HR: 1.01, 95% CI 1.00–1.02,  $p = 0.02$ ) (Table 3).

### Discussion

The main results of our study are the high prevalence of carotid atherosclerosis and the predominance of calcified plaques in hemodialysis patients. The presence of carotid plaques, rather than IMT, predicted new cardiovascular events during the follow-up. Furthermore, the presence of calcified plaques predicted both new cardiovascular events, as well as CV mortality, thus suggesting the additional predictive value of plaque calcification in hemodialysis patients.

The presence of carotid plaques has been reported to be present in more than 60% of hemodialysis patients in several studies [9,19–21]. An increased plaque burden and a higher prevalence of plaque calcification has been reported in this population vs the general population [21,22]. In hemodialysis patients, authors have found association with different types of carotid atherosclerosis and CV risk: such as the sum of the thickness of all plaques found [21], with the sum of bilateral location of all plaques [22], while others propose scores based on the number or calcification of plaques [19].

Ultrasonographic and necropsic studies have shown a much higher prevalence of calcified plaques in ESRD patients than in age-matched controls, in whom soft plaques are more frequent [20,23]. Although it has been suggested that calcified plaques are more stable; this concept has been recently challenged in ESRD by some studies that have shown that the atherosclerotic plaques of CKD patients are more complex than those of individuals with normal renal function. Coronary plaques in patients with CKD had a larger lipid core with a higher content of calcium, cholesterol crystals and plaque disruption, as well as intraplaque hemorrhage and new intimal vessels, compared with non-CKD patients [24,25], suggesting that atherosclerotic plaques in CKD patients are more vulnerable, despite the higher presence of calcium.

ESRD is associated with an increased IMT, as well as arteriosclerosis, vascular calcification, and subsequent arterial stiffness [9,26–28]. Although carotid IMT has been traditionally considered a marker of subclinical atherosclerosis in the general population [29] and in dialysis patients [30], recent studies indicate that the addition of this parameter to traditional cardiovascular risk factor prediction models does not significantly improve their performance in the general



**Table 3. Univariate and Multivariate Cox regression analyses for cardiovascular events in hemodialysis patients.**

Variable	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	HR (CI 95%)	P-Value	HR (CI 95%)	P-Value
Age (years)	1.04 (1.01–1.06)	<b>0.004</b>	1.04 (1.01–1.06)	<b>0.007</b>
CAD (yes/no)	2.27 (1.13–4.54)	<b>0.02</b>		
Previous cardiovascular disease (yes/no)	1.75 (1.05–4.42)	<b>0.03</b>		
Previous coronary heart disease (yes/no)	4.14 (2.05–8.37)	<b>&lt;0.001</b>	3.29 (1.52–7.15)	<b>0.003</b>
Dyslipidemia (yes/no)	2.25 (1.11–4.53)	<b>0.02</b>		
Diabetes Mellitus (yes/no)	0.91 (0.39–2.12)	0.84		
Hypertension (yes/no)	2.11 (0.64–6.95)	0.22		
Tobacco (yes/no)	1.19 (0.59–2.38)	0.62		
SBP (mmHg)	0.99 (0.98–1.01)	0.54		
DBP (mmHg)	0.97 (0.95–1.00)	<b>0.05</b>		
PP (mmHg)	1.00 (0.98–1.02)	0.62		
Total cholesterol (mg/dl)	0.99 (0.98–1.01)	0.54		
LDL-c (mg/dl)	1.00 (0.98–1.01)	0.87		
Lipoprotein (a) (mg/dl)	1.01 (1.00–1.02)	<b>0.02</b>	1.01 (1.00–1.02)	<b>0.02</b>
CRP (mg/dl)	1.21 (0.95–1.54)	0.11		
Troponin I (ng/ml)	3.89 (1.07–14.18)	<b>0.03</b>		
Fibrinogen (g/l)	1.38 (0.98–1.94)	<b>0.05</b>		
Antiplatelet therapy (yes/no)	2.14 (1.04–4.40)	<b>0.03</b>		
ACE inhibitors / ARB treatment (yes/no)	0.15 (0.02–1.11)	0.06		

CAD: carotid atherosclerosis disease, SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, PP: pulse pressure, CRP: C reactive protein, ACE: angiotensin converting enzyme, ARB: Angiotensin receptor blockers

doi:10.1371/journal.pone.0127344.t003

population [10]. Carotid IMT has been found to be associated with the presence of prevalent CV disease, traditional cardiovascular risk factors (age, male gender, smoking, diabetes, dyslipidemia, hypertension), as well as malnutrition-inflammation status and different biomarkers in hemodialysis patients [9,26,28]. In our study, IMT was associated with age, male sex, prevalent CV disease, smoking, but not with other cardiovascular risk factors or markers of malnutrition-inflammation. Carotid IMT was also associated with pulse pressure, which can be considered a surrogate of arterial stiffness; but did not predict new cardiovascular events or mortality in our patients. Although some studies have shown a relationship between IMT and mortality in hemodialysis [9,31], this relationship may be indirect, since IMT was associated with prevalent cardiovascular disease and the presence of plaques. Thus, in our hands, IMT seems to be a marker of arteriosclerosis, rather than atherosclerosis and CV risk in these patients.

The association of carotid atherosclerosis with cardiovascular events and/or mortality has been previously reported in dialysis patients [19,32]. Benedetto et al [15] further found that the rate of formation of new plaques was a strong, independent predictor of incident cardiovascular events in ESRD, while changes in IMT did not predict cardiovascular outcomes. Several studies in dialysis patients [9,19] and in the general population [10,33] have shown that the presence of plaques is a better prognostic marker than IMT. Our results are in agreement with these previous studies, further supporting that the presence of carotid atherosclerosis is a better predictor of future CV events than IMT.

Furthermore, in our study the presence of calcified plaques was also associated with both fatal and non-fatal cardiovascular events. Our results show the prognostic value of calcified plaques as a cardiovascular risk marker, similarly to previous studies [19,32], and its association

with cardiovascular morbidity and mortality in dialysis patients. However, the additional predictive value of plaque composition on the cardiovascular risk in this population deserves further research.

Carotid plaque calcification has been associated to secondary hyperparathyroidism [34], hypoalbuminaemia and the chronic inflammatory state, although other studies failed to find these relationships, neither with age nor with time on dialysis [20]. In our study, in agreement with Savage et al [20] we failed to find a relationship between the presence of calcified plaques with markers of bone mineral metabolism, such as levels of phosphorus, calcium or iPTH; prescribed daily dose of calcium or vitamin D administration, although this issue remains controversial [34].

Lipid abnormalities and serum lipoprotein (a) levels are associated with IMT, the presence and number plaques, suggesting a role for lipoprotein (a) as an independent risk factor for atherosclerosis in this population [35,17]. We found no relationship between lipid abnormalities or Lp (a) and IMT, in contrast to other studies (22), Lp (a) levels were associated with the severity of CAD in the univariate analysis, and with the incidence of cardiovascular events in the multivariate analysis, in agreement with previous studies [36]. Our results also found an association between CAD severity and serum troponin-I levels, suggesting its association with sub-clinical myocardial injury.

We recognize the limitations of the present study. The definition of high-risk CAD was based on published data linking severity and plaque characteristics. Although we had an adequate long-term monitoring with minimal losses, the number of patients studied was limited, as well as the incidence of some types of CV events, especially stroke. In addition, we did not conduct additional carotid US examinations during the follow-up or considered time-averaged levels of clinical and analytical parameters, thus our analyses relied on baseline measurements, limiting the validity of our results, considering the high variability of some serum parameters and the evolution of carotid atherosclerosis. The association between carotid atherosclerosis and calcified plaques with the incidence of cardiovascular events was lost in the multivariate analysis, which may be due to the low sample size and number of events. Thus, further studies with higher sample sizes and more events should confirm our findings. The evolution of patients that received a kidney transplant after the transplant was unknown since we discontinued the follow-up.

## Conclusions

In summary, we found that the echographic severity of CAD, and, especially, the presence of calcified plaques, are predictors of CV events, while IMT was not, in prevalent hemodialysis patients. These results challenge the general belief that calcified plaques are more stable, at least in this population. Larger prospective studies are needed to assess the relevance of CAD and, specifically, calcified CAD, as CV outcome predictors in ESRD patients. Carotid ultrasound is a simple and non-invasive tool that can help to evaluate the atherosclerotic burden in uremic patients and, perhaps, in combination with other imaging or biochemical markers may improve the CV risk prediction in this population. This is especially relevant in our hemodialysis patients in whom the Framingham risk score underestimates their actual cardiovascular risk [5].

## Supporting Information

**S1 Fig. Examples of CAD classification (A-D).** A) IMT <0.9 mm. B) IMT >0.9 mm. C) Carotid plaque with stenosis <50%. D) Plaque with stenosis >50%. (ZIP)

**S1 Table. Cardiovascular events and mortality during follow-up.**  
(DOC)**Acknowledgments**

We thank all investigators, doctors and nurses of the participating HD units, Fresenius Medical Care and Diaverum, for their invaluable collaboration and Laia Sans for the images processing.

The interpretation and reporting of the data presented here are the responsibility of the authors.

**Author Contributions**

Conceived and designed the experiments: AC EC SC. Performed the experiments: SC EC. Analyzed the data: SC JP AC. Contributed reagents/materials/analysis tools: AC CN MP JMC. Wrote the paper: SC JP AC.

**References**

1. Zoccali C. Cardiovascular risk in uraemic patients- is it fully explained by classical risk factors?. *Nephrol Dial Transplant*. 2000; 15: 454–457. PMID: [10727537](#)
2. Stenvinkel P, Bárány P. Dialysis in 2011. Can cardiovascular risk in dialysis patients be decreased?. *Nat Rev Nephrol*. 2011; 8: 72–74. doi: [10.1038/nmeph.2011.212](#) PMID: [22158474](#)
3. Rakhit DJ, Marwick TH, Armstrong KA, Johnson DW, Leano R, Isbel NM. Effect of aggressive risk factor modification on cardiac events and myocardial ischaemia in patients with chronic kidney disease. *Heart*. 2006; 92: 1402–1408. PMID: [16606867](#)
4. Shah DS, Polkinghorne KR, Pellicano R, Kerr PG. Are traditional risk factors valid for assessing cardiovascular risk in end-stage renal failure patients?. *Nephrology*. 2008; 13: 667–671. doi: [10.1111/j.1440-1797.2008.00982.x](#) PMID: [18761627](#)
5. Cheung AK, Sarnak MJ, Yan G, Dwyer JT, Heyka RJ, Rocco MV, et al. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2000; 58: 353–62. PMID: [10886582](#)
6. Ortiz A, Massy ZA, Fliser D, Lindholm B, Wiecek A, Martínez-Castelao A, et al. Clinical usefulness of novel prognostic biomarkers in patients on hemodialysis. *Nat Rev Nephrol*. 2011; 8: 141–150. doi: [10.1038/nrneph.2011.170](#) PMID: [22045239](#)
7. Park SH, Stenvinkel P, Lindholm B. Cardiovascular biomarkers in chronic kidney disease. *J Ren Nutr*. 2012; 22: 120–127. doi: [10.1053/j.jrn.2011.10.021](#) PMID: [22200428](#)
8. Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, Sharrett AR, Shahar E, Nieto FJ, et al. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Am J Epidemiol*. 2000; 151: 478–487. PMID: [10707916](#)
9. Sánchez-Alvarez JE, Delgado-Mallén P, González-Rinne A, Hernández-Marrero D, Lorenzo-Sellares V. Carotid ultrasound: prevention of heart disease and mortality on haemodialysis. *Nefrologia*. 2010; 30: 427–434. doi: [10.3265/Nefrologia.pre2010.Mar.10277](#) PMID: [20651884](#)
10. Van den Oord SC, Sijbrands EJ, Ten Kate GL, van Klaveren D, van Domburg RT, van der Steen AF, et al. Carotid intima-media thickness for cardiovascular risk assessment: Systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2013; 228: 1–11. doi: [10.1016/j.atherosclerosis.2013.01.025](#) PMID: [23395523](#)
11. Sharma K, Blaha MJ, Blumenthal RS, Musunuru K. Clinical and research applications of carotid intima-media thickness. *Am J Cardiol*. 2009; 103: 1316–1320. doi: [10.1016/j.amjcard.2009.01.020](#) PMID: [19406278](#)
12. Peters SA, den Ruijter HM, Bots ML. Attenuation of rate of change in carotid intima-media thickness by lipid-modifying drugs: impact on clinical outcomes. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2011; 11: 253–263. doi: [10.2165/11591960-000000000-00000](#) PMID: [21657803](#)
13. Wang JG, Staessen JA, Li Y, Van Bortel LM, Nawrot T, Fagard R, et al. Carotid intima-media thickness and antihypertensive treatment: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Stroke*. 2006; 37: 1933–1940. PMID: [16763185](#)
14. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, et al. 2007 ESH-ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens*. 2007; 25: 1751–1762. PMID: [17762635](#)

15. Benedetto FA, Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C. Rate of atherosclerotic plaque formation predicts cardiovascular events in ESRD. *J Am Soc Nephrol*. 2008; 19: 757–763. doi: [10.1681/ASN.2007070813](https://doi.org/10.1681/ASN.2007070813) PMID: [18184855](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18184855/)
16. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. *Cerebrovasc Dis*. 2012; 34(4): 290–6. doi: [10.1159/000343145](https://doi.org/10.1159/000343145) PMID: [23128470](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23128470/)
17. Nakashima A, Yorioka N, Asakimori Y, Ito T, Masaki T, Shigemoto K, et al. Different risk factors for the maximum and the mean carotid intima-media thickness in hemodialysis patients. *Intern Med*. 2003; 42: 1095–1099. PMID: [14686748](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14686748/)
18. Junyent M, Martínez M, Borrás M, Betriu A, Coll B, Craver L, et al. Usefulness of imaging techniques and novel biomarkers in the prediction of cardiovascular risk in patients with chronic kidney disease in Spain: the NEFRONA project. *Nefrologia*. 2010; 30: 119–126. doi: [10.3265/Nefrologia.pre2010.Jan.10216](https://doi.org/10.3265/Nefrologia.pre2010.Jan.10216) PMID: [20098474](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20098474/)
19. Schwaiger JP, Lamina C, Neyer U, König P, Kathrein H, Sturm W, et al. Carotid plaques and their predictive value for cardiovascular disease and all-cause mortality in hemodialysis patients considering renal transplantation: a decade follow-up. *Am J Kidney Dis*. 2006; 47: 888–897. PMID: [16632029](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16632029/)
20. Savage T, Clarke AL, Giles M, Tomson CRV, Raine AEG. Calcified plaque is common in the carotid and femoral arteries of dialysis patients without clinical vascular disease. *Nephrol Dial Transplant*. 1998; 13: 2004–2012. PMID: [9719155](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9719155/)
21. Leskinen Y, Lehtimäki T, Loimaala A, Lautamatti V, Kallio T, Huhtala H, et al. Carotid atherosclerosis in chronic renal failure—the central role of increased plaque burden. *Atherosclerosis*. 2003; 171: 295–302. PMID: [14644400](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14644400/)
22. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre F, Diczfalusy U, Wang T, Berglund L, et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int*. 1999; 55: 1899–1911. PMID: [10231453](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10231453/)
23. Schwarz U, Buzello M, Ritz E, Stein G, Raabe G, Wiest G, et al. Morphology of coronary atherosclerotic lesions in patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 2000; 15: 218–223. PMID: [10648668](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10648668/)
24. Kato K, Yonetsu T, Jia H, Abtahian F, Vergallo R, Hu S, et al. Nonculprit coronary plaque characteristics of chronic kidney disease. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2013; 6: 448–456. doi: [10.1161/CIRCIMAGING.112.000165](https://doi.org/10.1161/CIRCIMAGING.112.000165) PMID: [23536265](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23536265/)
25. Nakano T, Ninomiya T, Sumiyoshi S, Onimaru M, Fujii H, Itabe H, et al. Chronic kidney disease is associated with neovascularization and intraplaque hemorrhage in coronary atherosclerosis in elders: results from the Hisayama Study. *Kidney Int*. 2013; 84: 373–380. doi: [10.1038/ki.2013.111](https://doi.org/10.1038/ki.2013.111) PMID: [23594677](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23594677/)
26. Ossareh S, Alaei A, Saeedi D. Carotid intima-media thickness in maintenance hemodialysis patients: role of cardiovascular risk factor. *Iran J Kidney Dis*. 2011; 5: 169–174. PMID: [21525576](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21525576/)
27. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation*. 1999; 99: 2434–2439. PMID: [10318666](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10318666/)
28. Falaknazi K, Tajbakhsh R, Sheikholeslami FH, Taziki O, Bagheri N, Fassihi F, et al. Evaluation of association between intima-media thickness of the carotid artery and risk factors for cardiovascular disease in patients on maintenance hemodialysis. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2012; 23: 31–36. PMID: [22237215](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22237215/)
29. Nambi V, Chambless L, Folsom AR, He M, Hu Y, Mosley T, et al. Carotid intima-media thickness and presence or absence of plaque improves prediction of coronary heart disease risk: the ARIC (Atherosclerosis Risk In Communities) study. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 55: 1600–1607. doi: [10.1016/j.jacc.2009.11.075](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.11.075) PMID: [20378078](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20378078/)
30. Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Zoccali C. Prognostic value of ultrasonographic measurement of carotid intima media thickness in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2001; 12: 2458–2464. PMID: [11675423](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11675423/)
31. Kato A, Takita T, Maruyama Y, Kumagai H, Hishida A. Impact of carotid atherosclerosis on long-term mortality in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2003; 64: 1472–1479. PMID: [12969168](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12969168/)
32. Drozd M, Kra niak A, Podolec P, Chmiel G, Kowalczyk-Michalek M, Pasowicz M, et al. Cardiovascular calcification and five-years mortality in patients on maintenance hemodialysis. *Przegl Lek*. 2011; 68: 1162–1165. PMID: [22519273](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22519273/)
33. Cao JJ, Arnold AM, Manolio TA, Polak JF, Psaty BM, Hirsch CH, et al. Association of carotid artery intima-media thickness, plaques, and C-reactive protein with future cardiovascular disease and all-cause mortality: the Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 2007; 116: 32–38. PMID: [17576871](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17576871/)

34. Nichols P, Owen JP, Ellis HA, Farnon JR, Kelly PJ, Ward MK. Parathyroidectomy in chronic renal failure: a nine-year follow-up study. *QJ Med.* 1990; 77: 1175–1193. PMID: [2274659](#)
35. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987–1993. *Am J Epidemiol.* 1997; 146: 483–494. PMID: [9290509](#)
36. Aggarwal HK, Jain D, Lathar M, Yadav RK, Sawhney A. Lipoprotein-A and carotid intima media thickness as cardiovascular risk factors in patients of chronic kidney disease. *Ren Fail.* 2010; 32: 647–652. doi: [10.3109/0886022X.2010.486097](#) PMID: [20540630](#)

RESEARCH ARTICLE

Open Access



# Serum osteoprotegerin in prevalent hemodialysis patients: associations with mortality, atherosclerosis and cardiac function

Sílvia Collado<sup>1\*</sup>, Elisabeth Coll<sup>2†</sup>, Carlos Nicolau<sup>3</sup>, Manel Azqueta<sup>4</sup>, Mercedes Pons<sup>5</sup>, Josep M Cruzado<sup>6</sup>, Bernat de la Torre<sup>7</sup>, Ramón Deulofeu<sup>8</sup>, Sergi Mojal<sup>9</sup>, Julio Pascual<sup>1,10</sup> and Aleix Cases<sup>11†</sup>

## Abstract

**Background:** To assess whether serum osteoprotegerin (OPG) and/or fetuin-A predict mortality and cardiovascular (CV) morbidity and mortality in hemodialysis patients.

**Methods:** Multicenter, observational, prospective study that included 220 hemodialysis patients followed up for up to 6 years. Serum OPG and fetuin-A levels were measured at baseline and their possible association with clinical characteristics, CV risk biomarkers, carotid ultrasonographic findings, as well as their association with overall and CV mortality and CV events were assessed.

**Results:** During a mean follow-up of  $3.22 \pm 1.91$  years, there were 74 deaths (33.6%) and 86 new cardiovascular events. In the Kaplan-Meier survival analysis, the highest tertile of OPG levels was associated with higher overall mortality ( $p = 0.005$ ), as well as a higher, although non-significant, incidence of CV events and CV mortality. In contrast, fetuin-A levels did not predict any of these events. OPG levels were directly associated with age, the Charlson comorbidity index (CCI), prevalent cardiovascular disease, carotid intima-media thickness, adiponectin, troponin-I and brain natriuretic peptide (BNP). OPG showed a negative correlation with left ventricular ejection fraction (LVEF) and phosphate levels. In the multivariate Cox proportional hazard analysis, all-cause mortality was associated with the highest tertile of OPG (HR:1.957,  $p = 0.018$ ), age (HR:1.031,  $p = 0.036$ ), smoking history (HR:2.122,  $p = 0.005$ ), the CCI (HR:1.254,  $p = 0.004$ ), troponin-I (HR:3.894,  $p = 0.042$ ), IL-18 (HR:1.061,  $p < 0.001$ ) and albumin levels (HR:0.886,  $p < 0.001$ ). In the bootstrapping Cox regression analysis, the best cut-off value of OPG associated with mortality was 17.69 pmol/L (95%CI: 5.1–18.02).

**Conclusions:** OPG, but not fetuin-A levels, are independently associated with overall mortality, as well as clinical and subclinical atherosclerosis and cardiac function, in prevalent hemodialysis patients.

**Keywords:** Cardiovascular disease, Cardiac dysfunction, Fetuin-a, Hemodialysis, Mortality, Osteoprotegerin

\* Correspondence: scolladonieto@yahoo.es

†Equal contributors

<sup>1</sup>Nephrology Department Hospital del Mar, Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques, C/ Paseo Marítim, 25-29, 08003 Barcelona, Spain  
Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2017 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

## Background

Overall mortality remains exceedingly high in hemodialysis patients, mainly due to cardiovascular (CV) disease [1]. The higher prevalence of classical CV risk factors do not fully explain the excess CV risk in this population, and the Framingham risk score poorly predicts CV events in end-stage renal disease (ESRD) [2]. In recent years, the possible contributory role of new and uraemia-related CV risk factors has been thoroughly investigated in this population. ESRD results in the accumulation of uremic toxins, volume overload, electrolyte abnormalities, metabolic acidosis, inflammation, anaemia, bone-mineral disorders (BMD), oxidative and carbamyl stress, and neurohumoral or metabolic abnormalities that can contribute to the excess mortality in these patients [3]. The role of chronic kidney disease (CKD)-associated BMD and vascular calcification in this increased mortality risk in ESRD is also a matter of intensive research. Vascular calcification is a common finding in ESRD, appears earlier and progresses faster than in the general population, and it is associated with a higher mortality risk [4]. Several CKD-BMD biomarkers, such as fetuin-A, osteoprotegerin (OPG), osteopontin, fibroblast growth factor-23 (FGF-23), receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand (RANKL), klotho or bone morphogenetic protein 7 (BMP-7) have been associated with vascular calcification [5, 6].

OPG is a soluble cytokine of the tumour necrosis factor (TNF) receptor superfamily expressed in osteoblasts, but also in endothelial cells (EC), vascular smooth muscle cells (VSMC), or in the heart; and it is modulated by inflammatory cytokines. It acts as a decoy receptor for RANKL, thus inhibiting osteoclast differentiation and activity; and also binds TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL), preventing TRAIL-induced apoptosis [7]. Although OPG protects against vascular calcification, patients with ESRD show increased serum OPG levels and in different studies, it has been directly associated with vascular calcification [8], arterial stiffness [9, 10] and increased mortality risk in this population [11].

Fetuin-A is a circulating glycoprotein secreted by the hepatocytes, which acts as a potent systemic inhibitor of calcification and a negative acute phase reactant. It prevents calcium and phosphate precipitation in serum, and protects from arterial media calcification by inhibiting VSMC apoptosis and preventing basic calcium particle nucleation in the extracellular matrix. In hemodialysis patients, its plasma levels are lower than in healthy controls [12]. Low fetuin-A levels have been associated with severe and extensive vascular calcification, arterial stiffness [9], as well as with increased all-cause and cardiovascular mortality in this population in some studies [11, 12], but not all [13].

In this study we have evaluated the possible relationship of serum OPG and fetuin-A levels with overall

mortality risk and cardiovascular morbidity and mortality in a prevalent population of hemodialysis patients, as well as their association with atherosclerosis and/or vascular calcification, as well as with cardiac structure and function.

## Methods

### Design

This was a multicenter, observational, prospective study that included 220 patients with ESRD on maintenance hemodialysis for at least 6 months from a University Hospital and 4 satellite dialysis units. Patients had to be clinically stable and without evidence of clinical heart failure at the time of enrolment. No other specific exclusion criteria were applied. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the local Ethics Committee. Patients agreed to participate in the study and signed an informed written consent.

All patients were receiving conventional hemodialysis, 3.5 to 4.5 h, three times weekly, with dialyzers of cellulose diacetate or polysulphone membranes, and a bicarbonate dialysate. Low molecular weight heparin was used as standard anticoagulation. Dialysis prescription was guided to achieve a target Kt/V  $\geq$  1.3.

In a subgroup of 101 (45.9%) unselected patients, we performed a carotid Doppler ultrasound study, while in 156 (70.9%) unselected patients an echocardiographic study was performed.

Demographic, anthropometric, clinical and biochemical data were collected at baseline, including: age, sex, time on hemodialysis, previous kidney transplants and aetiology of renal disease; history of cardiovascular risk factors (hypertension, diabetes, hypercholesterolemia and smoking); patients' comorbidities, characteristics of the hemodialysis sessions, and concomitant treatments (antihypertensive, lipid-lowering, antiplatelet/anticoagulant agents, vitamin D analogues, erythropoiesis-stimulating agents and doses of calcium salts, such as acetate or carbonate, as daily dose of calcium in g/day; and intravenous iron).

Attending physicians periodically evaluated the participating patients in their dialysis units for up to 6 years. Death and cause, kidney transplantation or transfers to another dialysis unit were recorded. Clinical events were also registered, including cardiovascular events of cardiac origin (defined as coronary heart disease events, congestive heart failure or cardiac arrhythmias), cerebrovascular events (stroke or transient ischemic attack) and peripheral ischemic events (peripheral artery disease events, mesenteric ischemia, etc.). Patients were followed until death, loss to follow-up or kidney transplantation. All clinical events recorded were evaluated and reviewed by SC, EC and AC before being assigned.

## Methods

Blood pressure was measured before each hemodialysis session during one week and the mean of all three sessions was considered. Blood samples were obtained before the second dialysis session of the week after 20–30 min of rest in the supine position. Routine biochemical and haematological parameters were measured at baseline in the laboratory facilities of our institution using pertinent autoanalyzers: Blood urea nitrogen (BUN), creatinine, calcium, phosphate, total cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides, lipoprotein (a) haemoglobin, fibrinogen, ferritin, or C reactive protein (CRP). LDL cholesterol was calculated by the Friedwald's formula. Homocysteine was determined by immunoassay in an Advia-Centaur autoanalyzer (Siemens Spain, Barcelona), using reagents from the manufacturer. Troponin-I, brain natriuretic peptide (BNP) and iPTH were measured by electrochemiluminescence assay in an Advia Centaur analyzer (Siemens, Tarrytown, USA) using Siemens reagents. Additional special tests included: OPG, measured through an ELISA kit (Biomedica Medizinprodukte GmbH, Vienna, Austria), fetuin-A, by an ELISA kit supplied by Epitope Diagnostics (Epitope Diagnostics, San Diego, California, USA), asymmetric dimethylarginine (ADMA) by HPLC, advanced oxidation protein products (AOPP), by a photometric Chloramine T method, malondialdehyde (MDA) by HPLC measurement of thiobarbituric acid reaction products, interleukin 6 (IL-6) and IL-10 by enzyme immunoassay from Diasource (Louvain-la-Neuve, Belgium), IL-18 by MBL (Nagoya, Japan) and adiponectin by radioimmunoassay (Millipore Corp. Billerica, MA, USA).

Carotid Doppler ultrasound was performed with a colour Doppler ultrasound equipment and software to measure IMT and evaluation of plaques. Carotid IMT was measured at 1 cm prebifurcation, explored in a longitudinal section on the far wall, obtaining 4 measurements at regular intervals. A value of an IMT  $\leq$  0.9 mm was considered as normal, according to the criteria of the European Guidelines for the management of Hypertension of the ESC-ESH of 2013 [14]. The presence of plaque was defined as a focal structure that invaded the arterial lumen of at least 0.5 mm or  $>$ 50% of the surrounding IMT or demonstrated a thickening  $>$ 1.5 mm measured from the media-adventitia interface to the intima-lumen interface [15]. Carotid atherosclerotic disease (CAD) was classified in 4 degrees of severity (Grade 1: IMT  $<$ 0.9 mm, grade 2: IMT  $>$  0.9 mm, grade 3: presence of carotid plaques with stenosis  $<$ 50% and grade 4: presence of carotid plaques with stenosis  $>$ 50%). Grades 3 and 4 were considered severe degrees.

The echocardiographic studies were performed with a commercially available system (VIVID 7, General Electric; Milwaukee, WI and Sonos 5500 Philips, Andover, MA,

USA). Measurements included left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular wall mass indexed (LVMI) to body surface area; LV was calculated from M-mode recording, according to the recommendations of the American Society of Echocardiography [16].

## Statistical analysis

Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation, median and interquartile range, or as hazard ratio (HR) with its corresponding 95% confidence interval (95%CI), as appropriate. The Kolmogorov-Smirnov test was applied to continuous variables to check for distribution normality. The Student's t-test for independent samples and the Mann-Whitney U test were used for comparative statistics, where appropriate. The chi square test was used for qualitative variables. The Spearman rank correlation coefficient, was used when at least one variable was not assumed to be normally distributed. Survival analysis was carried out by using the Kaplan-Meier test and the multivariate Cox regression analysis. Intervals and formal test for the proportional hazards assumption of the OPG risk prediction model was performed by bootstrapping (95%CI). Significance was set at  $p < 0.05$ . Data were analysed by using the SPSS software (Statistical Package for Social Sciences, version 22.0, SPSS Inc).

## Results

### Demographics and baseline assessment

We included 220 patients followed-up between 2004 and 2010; 70 % were male, with a mean age of  $61.1 \pm 6.1$  years, and median time on hemodialysis of 31 months [interquartile range: 9–77.7]. The mean Charlson comorbidity index was  $5.76 \pm 2.46$  points, and 23.2% of the patients had a previous kidney transplant. Their demographic parameters and the prevalence of classical CV risk factors are summarized in Table 1. The most common causes of ESRD were vascular and glomerular (20% and 17.3% respectively), followed by diabetic nephropathy (16.8%) and unknown aetiology (16.4%). The prevalence of CV disease at baseline was 54.5%: 47.7% of patients had a history of cardiac disease and 24.1% had a history of vascular disease (cerebrovascular disease or peripheral artery disease).

The median serum level of OPG was 8.78 pmol/L [interquartile range: 6.07–12.95] and of fetuin-A 36.88 ng/ml [interquartile range: 26.51–51.46]. The associations of OPG and fetuin with qualitative variables (Mann-Whitney U test) and with quantitative variables (Spearman's rank correlation coefficient) are described in Table 2A and B, respectively. OPG levels were associated with age, prevalent arrhythmia, the Charlson comorbidity index, levels of troponin-I, BNP or adiponectin, beta-blocker treatment, phosphate, Ca x P product, or



**Table 1** Descriptive analysis of the hemodialysis population

Patients (n)	220
Age (years)	61.1 ± 6.1
Sex (male/female)	154 (70%) / 66 (30%)
Charlson Comorbidity Index	5.76 ± 2.46
Body mass index (BMI) (Kg/m <sup>2</sup> )	24.33 ± 4.39
Time on HD (months) (median)	31 [9, 77.7]
Previous kidney transplant	51 (23.2%)
Smoking (yes/no/former)	35/130/55 (15.9%/59.1%/25%)
Diabetes mellitus (yes/no)	56 (25.5%)/164 (74.5%)
Hypertension (yes/no)	194 (88.2%)/26(11.8%)
Dyslipidaemia (yes/no)	84 (38.2%)/136 (61.8%)
IMT, mean (mm)	0.789 ± 0.282
IMT > 0.9 mm	35 (15.9%)
Presence of Plaques	85 (84.2%)
Calcified Plaques	69 (68.4%)
Presence of Stenosis	40 (72.3%)
LVH (%)	54 (24.5%)
LVMI (g/m <sup>2</sup> )	96.27 ± 26.07
LV ejection fraction (%)	58.34 ± 10.73

Data are shown as mean ± SD or cases (percentage) unless otherwise specified

creatinine levels. No association was observed between OPG levels and fetuin-A or concomitant treatments for BMD (vitamin-D analogues or dose of calcium salts). Fetuin-A levels were associated with age, diabetes mellitus, and a previous kidney transplant, the Charlson comorbidity index, levels of IL-6, homocysteine, ADMA, or malondialdehyde and the daily dose of calcium salts. No correlation was found with calcium, phosphorus, iPTH or other concomitant treatments, such as vitamin D analogues (Table 2).

The presence of carotid atherosclerotic disease, defined by a pathological IMT and/or presence of carotid plaques with stenosis, or calcified atherosclerotic plaques was associated with higher OPG levels, but not with fetuin-A levels (Table 2). With respect to cardiac parameters, fetuin-A was negatively associated with LVMI, while OPG levels were negatively associated with LVEF.

#### Prospective study

During a mean follow-up of 3.2 ± 1.91 years, 74 deaths (33.6%) were recorded. The causes were of cardiovascular origin in 35 cases and non-CV in 39 cases. New cardiovascular events were diagnosed in 86 cases (65.1% cardiac and 34.9% vascular). Kidney transplants occurred in 68 (30.9%) patients and 13 (5.9%) patients were lost to follow-up. Among the cardiovascular causes of death, the most frequent were sudden death (37.1%), myocardial infarction (22.9%), and stroke (11.4%) (Additional file 1:

Table S1). Among the non-cardiovascular causes of mortality, the most frequent were infectious diseases (46.2%), followed by cancer (15.4%) and bleeding (12.8%).

In the Kaplan-Meier survival analysis, the highest OPG tertile (>11.44 pmol/L) was associated with a higher all-cause mortality ( $p = 0.005$ ) compared to the first (<7.03 pmol/L) or second tertiles (7.03–11.44 pmol/L), as well as when comparing the third tertile vs the two other tertiles. Higher, although non-significant, incidence of cardiovascular events and cardiovascular mortality were also observed among patients in the third OPG tertile (Fig. 1). Fetuin-A levels distributed in tertiles, were not associated with any of these events.

#### Cox regression analysis

In the univariate Cox regression analysis all-cause mortality, showed a positive relationship with age, left ventricular hypertrophy (LVH), prevalent cardiovascular disease, new CV events, the Charlson comorbidity index, smoking, and the highest tertile of serum OPG, troponin-I, BNP and CRP. A negative correlation was observed with a history of a previous kidney transplant, LVEF, diastolic blood pressure (BP), mean BP, serum albumin and creatinine. No correlation was found with calcium, phosphate, iPTH, fetuin-A levels neither its tertiles, nor with concomitant medications, such as daily dose of calcium salts or vitamin D analogues (Table 3).

#### Multivariate analysis

In the multivariate Cox proportional hazards ratio analysis all-cause mortality, was significantly associated with the highest tertile of OPG, age, smoking history, the Charlson comorbidity index, troponin-I, IL-18 and albumin levels (Table 3).

In the multivariate linear regression analysis serum OPG levels were independently associated with age, BNP levels, adiponectin levels and statin treatment (Table 4), while fetuin-A was only associated with malondialdehyde levels.

Regression models with OPG and Fetuin-A levels considered as continuous variables confirmed the robustness of the association.

The best OPG cut-off value with bootstrap validation in the Cox Proportional Hazards Ratio Model to predict overall mortality in our hemodialysis population was 17.69 pmol/L (95% CI: 5.1–18.02).

#### Discussion

Serum OPG levels in the highest tertile were independently associated with overall mortality in prevalent hemodialysis patients. In contrast, serum levels of fetuin-A were not, thus suggesting that OPG may be a better prognostic biomarker in this population. Our results provide additional evidence on previous studies

**Table 2** Associations of osteoprotegerin and fetuin-A in the univariate analysis

A) Mann-Whitney U-test				
Variable	Osteoprotegerin		Fetuin-A	
	Median (interquartile range)	P-Value	Median (interquartile range)	P-Value
Previous Transplant				
Yes	9.77 (5.14–14.27)	0.944	44.1 (30.18–58.51)	<b>0.022</b>
No	8.58 (6.21–12.69)		35.24 (25.55–49.83)	
Diabetes Mellitus				
Yes	9.29 (7.06–11.76)	0.575	31.12 (20.8–43.94)	<b>0.008</b>
No	8.63 (5.72–13.01)		37.46 (28.04–54.02)	
Left Ventricular Hypertrophy				
Yes	10.02 (7.6–12.88)	0.068	34.92 (26.13–51.19)	0.639
No	8.23 (5.65–12.99)		37.02 (26.93–51.97)	
Arrhythmia				
Yes	12.1 (6.89–15.1)	<b>0.009</b>	35.17 (26.79–55.41)	0.916
No	8.26 (5.91–11.85)		37.02 (26.50–50.89)	
Statin treatment				
Yes	7.93 (6.1–10.62)	0.086	35.17 (24.21–54.02)	0.631
No	9.67 (6.05–13.43)		37.02 (26.87–50.75)	
ACEI/ ARB treatment				
Yes	7.84 (5.03–11.30)	0.059	39.99 (33.68–57.52)	0.078
No	9.08 (6.38–13.04)		35.17 (26.11–50.89)	
Beta-blockers treatment				
Yes	7.27 (4.99–11.49)	<b>0.038</b>	37.03 (27.35–54.98)	0.920
No	9.08 (6.39–13.04)		36.58 (26.50–50.92)	
Carotid Plaques				
Yes	8.5 (6.1–12.69)	<b>0.002</b>	31.24 (23.48–44.91)	0.728
No	5.98 (3.41–7.77)		35.34 (22.37–51.71)	
Calcified Plaques				
Yes	8.22 (6.23–12.66)	<b>0.038</b>	30.14 (23.49–44.34)	0.378
No	6.94 (4.97–10.64)		37.04 (21.54–51.46)	
Severe Degrees of CAD				
Yes	8.5 (6.1–12.69)	<b>0.002</b>	31.24 (23.48–44.91)	0.728
No	5.98 (3.41–7.77)		35.34 (22.37–51.71)	
B) Spearman rank correlation test				
Variable	Osteoprotegerin		Fetuin-A	
	Rho Spearman	P-Value	Rho Spearman	P-Value
Age (years)	0.383	<b>&lt; 0.001</b>	–0.161	<b>0.018</b>
LV mass (gr)	0.126	0.117	–0.19	<b>0.020</b>
LV ejection Fraction (%)	–0.206	<b>0.01</b>	–0.056	0.491
Charlson Comorbidity Index	0.38	<b>&lt; 0.001</b>	–0.14	<b>0.040</b>
Calcium (mg/dl)	0.115	0.088	–0.015	0.828
Phosphate (mg/dl)	–0.245	<b>&lt; 0.001</b>	0.011	0.870
iPTH (pg/ml)	–0.118	0.083	–0.083	0.228
Ca-P product	–0.2	<b>0.003</b>	0.012	0.861
Dose of calcium salts (gr/day)	–0.016	0.816	0.207	<b>0.003</b>

**Table 2** Associations of osteoprotegerin and fetuin-A in the univariate analysis (*Continued*)

Creatinine (mg/dl)	-0.224	<b>0.001</b>	0.096	0.161
BUN (mg/dl)	-0.156	<b>0.039</b>	0.017	0.824
Troponin I (ng/ml)	0.207	<b>0.003</b>	-0.071	0.312
BNP (pg/ml)	0.305	<b>&lt; 0.001</b>	-0.091	0.182
Systolic Blood Pressure (mmHg)	-0.008	0.907	-0.017	0.805
Diastolic Blood Pressure (mmHg)	-0.081	0.243	-0.028	0.690
Mean Blood Pressure (mmHg)	-0.049	0.479	-0.025	0.727
Adiponectin ( $\mu$ g/ml)	0.237	<b>&lt; 0.001</b>	-0.04	0.558
IL-6 (pg/ml)	0.075	0.291	-0.16	<b>0.027</b>
CRP (mg/dl)	0.062	0.362	-0.013	0.846
Malondialdehyde (mMol/L)	0.086	0.205	0.179	<b>0.009</b>
Homocysteine ( $\mu$ mol/L)	-0.021	0.757	-0.137	<b>0.047</b>
ADMA ( $\mu$ mol/L)	-0.034	0.625	0.143	<b>0.040</b>
Carotid Intima-media thickness (mm)	0.234	<b>0.034</b>	-0.071	0.529

Significant results ( $p < 0.05$ ) are in bold

[17–19] and a recent metaanalysis [20] that reported an increased mortality risk associated with higher OPG levels. Furthermore, results from previous studies indicate that OPG levels could be predictive of fatal [18, 19] and non-fatal cardiovascular events in hemodialysis patients [21, 22]. Although elevated OPG levels have been associated with vascular calcification [8], and its progression [23], as well as with arterial stiffness [18, 19, 21] in ESRD patients, its predictive value on mortality is independent of the presence of arterial stiffness [10] or vascular calcification [24], thus suggesting that it may be involved in other pathways/mechanisms associated with increased mortality in this population, as discussed below.

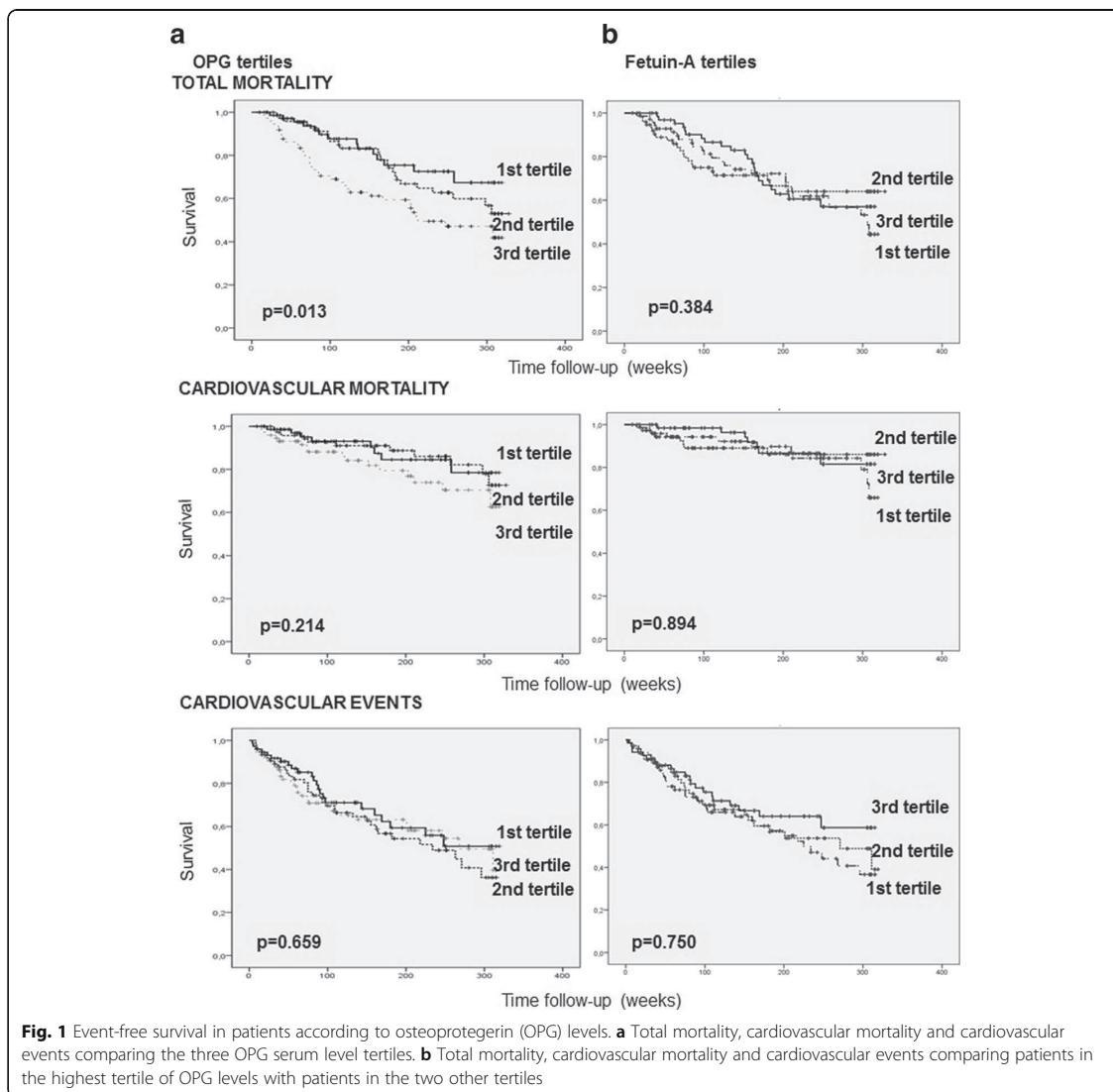
OPG is expressed *in vivo* by EC and VSMC where it modulates apoptosis and inflammation. It is likely that OPG could play a role in the development of atherosclerosis by inhibiting TRAIL-induced apoptosis of vascular cells. In addition, circulating OPG may directly interact with heparan sulphates in the endothelium, favouring leukocyte adhesion [25]. In fact, the OPG/RANKL/RANK axis has been implied in several inflammatory responses and has also been associated with atherogenesis and endothelial dysfunction in non-CKD populations [25, 26]. In addition; OPG has been related to changes in vessel matrix composition, development of diabetic macrovascular disease, advanced atherosclerosis or plaque destabilization [27, 28]. However, it is not clear whether OPG is causally related to atherosclerosis or is a marker of the atherosclerotic burden, with high OPG levels being a compensatory response to subclinical cardiovascular disease, its progression; or of the transition of VSMC to an osteoblastic phenotype [11].

In this sense, we found that OPG levels were directly associated with carotid intima-media thickness, severe

degrees of carotid atherosclerosis and calcified carotid plaques, as has been reported in the general population, and in agreement with a previous study [19], but not another [9]. However, despite that higher OPG levels have also been associated with an increased cardiovascular risk in the general population [29], therapeutic drugs targeting the RANK-RANKL-OPG axis have not been associated with an effect on cardiovascular events in randomized controlled trials in the general population.

We found intriguing the relationship of OPG with troponin-I (a marker of cardiac damage), BNP (a marker of biomechanical stress) and its inverse relationship with LVEF. Furthermore, BNP remained as an independent predictor of OPG levels in the multivariate analysis, in agreement with a previous study [19]. OPG mRNA is widely distributed in several organs, including the heart [30]. There is evidence of its intra-cardiac production and release into the coronary circulation, and it has been hypothesized that it may be involved in the development of LVH [31, 32]. Circulating OPG levels also reflect the severity of cardiovascular disorders, such as coronary artery disease, cardiac hypertrophy, and heart failure in the general population [33].

Two recent studies have shown an association of OPG with global longitudinal strain, a marker of subclinical LV dysfunction in diabetic hypertensive patients [34] and diabetic patients with heart failure [35]. Global longitudinal strain is a well validated and reproducible technique for the measurement of ventricular longitudinal deformation with predictive value regarding all-cause mortality, as well as a composite of cardiac death, malignant arrhythmia, hospitalization due to heart failure, urgent valve surgery or heart transplantation, and acute coronary ischemia [36]. Thus, we show for the first time an association between OPG levels and cardiac



dysfunction in ESRD. It is tempting to speculate that the relationship between OPG and mortality in hemodialysis patients may be related, at least in part, to its putative association with the uremic cardiomyopathy, as has been proposed for the diabetic cardiomyopathy [34, 35].

OPG was not associated with diabetes or hypertension in our study. Although it has also been associated with markers of inflammation-malnutrition, we failed to find a relationship of OPG with CRP or with albumin, but the negative correlation observed with serum creatinine, BUN or phosphate levels might be attributed to its possible association with malnutrition. Actually, the relationship of this biomarker with CRP and/or albumin is

not uniform in the literature [9]. OPG levels were not associated with CKD-BMD biomarkers in the multivariate analysis, in agreement with previous studies [22].

Fetuin-A is a known systemic inhibitor of vascular calcification. Low serum fetuin-A levels have been associated with all-cause and cardiovascular mortality in ESRD patients [11, 12, 37, 38], as well as with vascular calcification and arterial stiffness; although these associations have not been confirmed by others, both before, and after adjustment for several cardiovascular risk factors, or vascular calcification [24]. In our study, we failed to find an association between fetuin-A levels and all-cause, cardiovascular mortality or new cardiovascular events, or with carotid

**Table 3** Univariate and Multivariate Cox proportional hazard analysis of overall mortality

Variable	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	HR (CI 95%)	P-Value	HR (CI 95%)	P-Value
Age (years)	1.052 (1.032–1.072)	<b>&lt;0.001</b>	1.031 (1.002–1.06)	<b>0.036</b>
Charlson Comorbidity Index	1.305 (1.194–1.427)	<b>&lt;0.001</b>	1.254 (1.075–1.462)	<b>0.004</b>
Previous cardiovascular disease (yes/no)	2.185 (1.30–3.65)	<b>0.003</b>	-	
Incident cardiovascular disease (yes/no)	2.654 (1.646–4.279)	<b>&lt;0.001</b>	-	
Left Ventricular Hypertrophy (yes/no)	1.764 (1.093–2.845)	<b>0.002</b>	-	
Previous Kidney Transplant (yes/no)	0.374 (0.186–0.751)	<b>0.006</b>	-	
Interdialytic weight gain (kg)	0.764 (0.579–1.007)	0.056	-	
Dyslipidaemia (yes/no)	1.255 (0.793–1.985)	0.332	-	
Diabetes Mellitus (yes/no)	1.401 (0.861–2.28)	0.174	-	
Hypertension (yes/no)	1.32 (0.606–2.878)	0.485	-	
Smoking (yes/no)	2.185 (1.376–3.47)	<b>0.001</b>	2.122 (1.251–3.599)	<b>0.005</b>
Systolic Blood Pressure (mmHg)	0.993 (0.983–1.004)	0.191	-	
Diastolic Blood Pressure (mmHg)	0.975 (0.957–0.994)	<b>0.010</b>	-	
Mean Blood Pressure (mmHg)	0.983 (0.968–0.999)	<b>0.032</b>	-	
Statin treatment (yes/no)	1.516 (0.929–2.473)	0.096	-	
Osteoprotegerin (highesttertile)	1.9 (1.203–2.999)	<b>0.006</b>	1.957 (1.123–3.411)	<b>0.018</b>
Calcium (mg/dl)	1.136 (0.9–1.434)	0.284	-	
Phosphate (mg/dl)	0.868 (0.745–1.013)	0.072	-	
iPTH (pg/ml)	0.999 (0.998–1.000)	0.114	-	
Fetuin-A (ng/ml)	0.994 (0.984–1.004)	0.230	-	
Albumin (g/l)	0.884 (0.844–0.925)	<b>&lt;0.001</b>	0.886 (0.837–0.937)	<b>&lt; 0.001</b>
C-reactive protein (mg/dl)	1.17 (1.09–1.252)	<b>&lt;0.001</b>	-	
Adiponectin (µg/ml)	1.003 (0.973–1.033)	0.867	-	
IL-18 (pg/ml)	1.0 (1.00–1.001)	<b>0.011</b>	1.061 (1.036–1.087)	<b>&lt;0.001</b>
Troponin I (ng/ml)	12.626 (3.795–42.01)	<b>&lt;0.001</b>	3.894 (1.048–14.462)	<b>0.042</b>
BNP (pg/ml)	1.0 (1.0–1.001)	<b>0.001</b>	-	
LV ejection fraction (%)	0.966 (0.945–0.987)	<b>0.002</b>	-	

Significant results ( $p < 0.05$ ) are in bold**Table 4** Osteoprotegerin and Fetuin-A associations in the multiple linear regression analysis

Variable	$\beta$ (CI 95%)	P-Value
<b>Multiple regression analysis OPG</b>		
Age (years)	0.113 (0.074–0.152)	<b>&lt;0.001</b>
BNP (100 pg/ml)	0.202 (0.103–0.301)	<b>&lt;0.001</b>
Adiponectin (µg/ml)	0.126 (0.042–0.210)	<b>0.003</b>
Statin Treatment (yes)	-1.977 (-3.386- -0.568)	<b>0.006</b>
<b>Multiple regression analysis Fetuin-A</b>		
Age (years)	-0.074 (-0.649–256)	0.392
Dose of calcium salts (gr/day)	0.063 (-0.003–0.007)	0.461
Malondialdehyde (mmol/L)	0.322 (0.211–0.699)	<b>&lt;0.001</b>
IL-6 (pg/ml)	-0.154 (-0.118–0.007)	0.079

Adjusted R<sup>2</sup> of model: 0.255Significant results ( $p < 0.05$ ) are in bold

atherosclerosis, in agreement with previous studies [9]. Fetuin-A is a negative acute phase reactant, whose levels may be influenced by the presence of inflammation, as well as, insulin resistance, glucose intolerance, fatty liver disease, metabolic syndrome and an atherogenic lipid profile. In our study, we observed its association with diabetes mellitus, daily dose of calcium salts, left ventricular mass (but not with markers of cardiac dysfunction), and some biomarkers of inflammation or oxidative stress, such as IL-6, MDA or ADMA.

Apart from OPG levels, in our multivariate analysis overall mortality was also associated with age, the degree of comorbidity, and smoking, as expected; as well as with the levels of troponin-I (as a marker of cardiac damage) and IL-18 and albumin (as markers of inflammation-malnutrition) showing the complex pathogenesis of the disease in this population.

The limitations of the present study need to be addressed, including the relatively limited sample size and number of events. Thus, a larger patient cohort would be necessary to confirm our findings and to validate OPG as a biomarker of mortality in this population. Our analysis is limited to data obtained at baseline. The lack of repeated measurements of both OPG and fetuin-A levels during the follow-up, limited our ability to determine a causal relationship between OPG and mortality [39]. Furthermore, other markers of bone turnover were not measured (such as FGF23, sclerostin and Klotho). Another limitation is that we did not perform a carotid Doppler ultrasound and an echocardiographic study to the whole group, but to a subgroup of unselected patients. However, there are no reasons, to suspect significant bias in interpreting the results. Another limitation of the study was that we included patients with prevalent cardiovascular disease, which already have a higher cardiovascular risk. It would be interesting to repeat this study including patients without cardiovascular disease at baseline. Another potential limitation is the technical issues with the assay for the determination of OPG or fetuin-A (e.g. potential fragmentation) which are unexplored at present. In CKD, serum fetuin-A is mainly present as a fetuin-mineral complex (composed of fetuin-A, fibrinogen, fibronectin-I and calcium), and the fraction of total fetuin-A as a complex, rather than free fetuin-A increases progressively as the estimated glomerular filtration rate decreases [40].

## Conclusion

In conclusion, the present study shows that high levels of OPG, but not fetuin-A, are associated with increased mortality in prevalent hemodialysis patients. Higher levels of OPG are associated with both markers of sub-clinical atherosclerosis and cardiac function, but not with CKD-BMD biomarkers. Understanding the possible relationship between OPG and uremic cardiomyopathy deserves further studies.

## Additional file

**Additional file 1: Table S1.** Cardiovascular events and mortality during follow-up. (DOCX 14 kb)

## Abbreviations

ACEI: Angiotensin-converting enzyme inhibitors; ADMA: Asymmetric dimethylarginine; AOPP: Advanced oxidation protein products; ARB: angiotensin receptor blocker; BMD: Bone mineral disorders; BMI: Body mass index; BMP-7: Bone morphogenetic protein 7; BNP: Brain natriuretic peptide; BP: Blood pressure; BUN: blood urea nitrogen; Ca: Total calcium; CAD: Coronary artery disease; CKD: Chronic kidney disease; CRP: C-reactive protein; CV: Cardiovascular; EC: Endothelial cells; ESRD: End-stage renal disease; FGF-23: Fibroblast growth factor-23; HR: Hazard ratio; IL: Interleukin; IMT: Intima-media thickness; iPTH: Intact parathormone; LVEF: Left ventricular ejection fraction; LVH: Left ventricular hypertrophy; LVM: Left ventricular mass; LVMI: Left ventricular mass index; MDA: Malondialdehyde; OPG: Osteoprotegerin; Pi: Phosphate; RANKL: Receptor Activator of Nuclear

Factor- $\kappa$ B ligand; TNF: Tumour necrosis factor; TRAIL: TNF-related apoptosis-inducing ligand; VSMC: Vascular smooth muscle cells

## Acknowledgments

We thank all investigators, doctors and nurses of the participating Hemodialysis Units, Fresenius Medical Care and Diaverum, for their invaluable collaboration.

## Funding

This study was supported in part by the *Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social* (FISS project 03/0791). The interpretation and reporting of the data presented here are the responsibility of the authors.

## Availability of data and materials

The datasets analyzed during the current study are not publicly available due to the privacy of patients. The data are available from the corresponding author on reasonable request at scolladoniato@yahoo.es.

## Authors' contributions

All authors have contributed to this manuscript and approved this version for submission. SC, EC and AC contributed in the design of the study, recruitment of patients, data collection, processing and analysis of results and wrote the first draft of the manuscript. CN performed Carotid Doppler ultrasound, measuring and evaluating IMT and atherosclerotic plaques. MA performed echocardiograms, collected cardiologic data and participated in its discussion. MP, JMC and BT contributed to the recruitment of patients in their dialysis centers and in their follow-up. RD contributed in the processing and analysis of additional special tests; including osteoprotegerin and fetuin-A. SM gave his advice in the statistical analysis. JP contributed in the processing and analysis of results and manuscript drafting. All coauthors participated in subsequent revisions of the manuscript.

## Ethics approval and consent to participate

The study protocol has been approved by the Institutional Ethics Committee of the Hospital Clinic de Barcelona, Spain, on February 25, 2003. Accordingly, all the patients included were asked to sign an informed consent form for participating in this study.

## Consent for publication

Not applicable.

## Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

## Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

## Author details

<sup>1</sup>Nephrology Department Hospital del Mar, Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques, C/ Paseo Marítimo, 25-29, 08003 Barcelona, Spain. <sup>2</sup>Nephrology Department, Fundació Puigvert, Barcelona, Spain. <sup>3</sup>CDI, Hospital Clínic, Barcelona, Spain. <sup>4</sup>Cardiology Department, Hospital Clínic, Barcelona, Spain. <sup>5</sup>CETIRSA Barcelona, Fresenius Medical Care, Barcelona, Spain. <sup>6</sup>Institut Hemodialisí Barcelona, Diaverum, Barcelona, Spain. <sup>7</sup>CD Palau, Diaverum, Barcelona, Spain. <sup>8</sup>CDB, Hospital Clínic, Barcelona, Spain. <sup>9</sup>Department of Statistics, Institut Mar D'Investigacions Mèdiques, Barcelona, Spain. <sup>10</sup>Universitat Autònoma Barcelona and Universitat Pompeu Fabra. Nephropathies Research Group Coordinator, Institute Mar for Medical Research, Barcelona, Spain. <sup>11</sup>Nephrology Department, Hospital Clínic, Universitat de Barcelona, IDIBAPS, Barcelona, Spain.

Received: 16 May 2017 Accepted: 23 August 2017

Published online: 07 September 2017

## References

- United States Renal Data System. USRDS 2011 Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2011.

2. Shah DS, Polkinghorne KR, Pellicano R, Kerr PG. Are traditional risk factors valid for assessing cardiovascular risk in end-stage renal failure patients? *Nephrology*. 2008;13(8):667–71.
3. Park SH, Stenvinkel P, Lindholm B. Cardiovascular biomarkers in chronic kidney disease. *J Ren Nutr*. 2012;22:120–7.
4. Mizobuchi M, Towler D, Slatopolsky E. Vascular calcification: the killer of patients with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20:1453–64.
5. Liabeuf S, Okazaki H, Desjardins L, Fliser D, Goldsmith D, Covic A, Wiecek A, Ortiz A, Martinez-Castelao A, Lindholm B, Suleymanlar G, Mallamaci F, Zoccali C, London G, Massy ZA. Vascular calcification in chronic kidney disease: are biomarkers useful for probing the pathobiology and the health risks of this process in the clinical scenario? *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(7):1275–84.
6. Moe SM, Chen NX. Mechanisms of vascular calcification in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19:213–6.
7. Schoppert M, Preissner KT, Hofbauer LC. RANK ligand and osteoprotegerin: paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(4):549–53.
8. Nitta K, Akiba T, Uchida K, Kawashima A, Kawashima A, Yumura W, Kabaya T, Nihei H. The progression of vascular calcification and serum osteoprotegerin levels in patients on long-term hemodialysis. *Am J Kidney Dis*. 2003;42(2):303–9.
9. Pateinakis P, Papagianni A, Douma S, Efstratiadis G, Memmos D. Associations of fetuin-a and osteoprotegerin with arterial stiffness and early atherosclerosis in chronic hemodialysis patients. *BMC Nephrol*. 2013;14:122.
10. Speer G, Fekete BC, El Hadj OT, Szabó T, Egresits J, Fodor E, Kiss I, Logan AG, Nemcsik J, Szabó A, Németh ZK, Szathmári M, Tislér A. Serum osteoprotegerin level, carotid-femoral pulse wave velocity and cardiovascular survival in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(10):3256–62.
11. Scialla JJ, Kao WH, Crainceanu C, Sozio SM, Oberai PC, Shafi T, Coresh J, Powe NR, Plantinga LC, Jaar BG, Parekh RS. Biomarkers of vascular calcification and mortality in patients with ESRD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9(4):745–55.
12. Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnken AH, Böhm R, Metzger T, Wanner C, Jahnke-Dechent W, Floege J. Association of low fetuin-a (AHSJ) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Lancet*. 2003;361(9360):827–33.
13. Ix JH, Shlipak MG, Sarnak MJ, Beck GJ, Greene T, Wang X, Kusek JW, Collins AJ, Levey AS, Menon V. Fetuin-a is not associated with mortality in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2007;72(11):1394–9.
14. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Böhm M, Christiaens T, Cifkova R, De Backer G, Dominiczak A, et al. 2013 ESH/ESC guidelines for the Management of Arterial Hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2013;34(28):2159–219.
15. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amareno P, Bornstein N, Csiba L, Desvarieux M, Ebrahim S, Hernandez Hernandez R, Jaff M, Kownator S, Nagvi T, Prati P, Rundek T, Sitzer M, Schminke U, Tardif JC, Taylor A, Vicaut E, Woo KS. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004–2006–2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European stroke conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. *Cerebrovasc Dis*. 2012;34(4):290–6.
16. Schiller NB, Shah PM, Crawford M, DeMaria A, Devereux R, Feigenbaum H, Gutgesell H, Reichek N, Sahn D, Schnittger I, et al. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on standards, subcommittee on Quantitation of two-dimensional echocardiograms. *J Am Society of Echocardiogr*. 1989;2:358–67.
17. Morena M, Terrier N, Jausset I, Leray-Moragues H, Chalabi L, Rivory JP, Maurice F, Delcourt C, Cristol JP, Canaud B, Dupuy AM. Plasma osteoprotegerin is associated with mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(1):262–70.
18. Nakashima A, Carrero JJ, Qureshi AR, Hirai T, Takasugi N, Ueno T, Taniguchi Y, Lindholm B, Yorioka N. Plasma osteoprotegerin, arterial stiffness, and mortality in normoalbuminemic Japanese hemodialysis patients. *Osteoporos Int*. 2011;22:1695–701.
19. Kuźniewski M, Fedak D, Dumnicka P, Stępień E, Kuźnierz-Cabala B, Cwynar M, Sulowicz W. Osteoprotegerin and osteoprotegerin/TRAIL ratio are associated with cardiovascular dysfunction and mortality among patients with renal failure. *Adv Med Sci*. 2016;61(2):269–75.
20. Pichler G, Haller MC, Kainz A, Wolf M, Redon J, Oberbauer R. Prognostic value of bone- and vascular-derived molecular biomarkers in hemodialysis and renal transplant patients: a systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2016; 10.1093/ndt/gfw387.
21. Lee JE, Kim HJ, Moon SJ, Nam JS, Kim JK, Kim SK, Yun GY, Ha SK, Park HC. Serum osteoprotegerin is associated with vascular stiffness and the onset of new cardiovascular events in hemodialysis patients. *Korean J Intern Med*. 2013;28:668–77.
22. Nishiura R, Fujimoto S, Sato Y, Yamada K, Hisanaga S, Hara S, Nakao H, Kitamura K. Elevated osteoprotegerin levels predict cardiovascular events in new hemodialysis patients. *Am J Nephrol*. 2009;29(3):257–63.
23. Ozkok A, Caliskan Y, Sakaci T, Erten G, Karahan G, Ozel A, Unsal A, Yildiz A. Osteoprotegerin/RANKL axis and progression of coronary artery calcification in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(6):965–73.
24. Sigrist MK, Levin A, Er L, McIntyre CW. Elevated osteoprotegerin is associated with all-cause mortality in CKD stage 4 and 5 patients in addition to vascular calcification. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(10):3157–62.
25. Shin JY, Shin YG, Chung CH. Elevated serum osteoprotegerin levels are associated with vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2006;29(7):1664–6.
26. Jono S, Ikari Y, Shioi A, Mori K, Miki T, Hara K, Nishizawa Y. Serum osteoprotegerin levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Circulation*. 2002;106(10):1192–4.
27. Montañez-Barragán A, Gómez-Barrera I, Sanchez-Niño MD, Uceros AC, González-Espinoza L, Ortiz A. Osteoprotegerin and kidney disease. *J Nephrol*. 2014;27:607–17.
28. Kiechl S, Werner P, Knoflach M, Furtner M, Willeit J, Schett G. The osteoprotegerin/RANK/RANKL system: a bone key to vascular disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2006;4:801–11.
29. Lieb W, Gona P, Larson MG, Massaro JM, Lipinska I, Keaney JF Jr, Rong J, Corey D, Hoffmann U, Fox CS, Vasan RS, Benjamin EJ, O'Donnell CJ, Kathiresan S. Biomarkers of the osteoprotegerin pathway: clinical correlates, subclinical disease, incident cardiovascular disease, and mortality. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(9):1849–54.
30. Montagnana M, Lippi G, Danese E, Guidi GC. The role of osteoprotegerin in cardiovascular disease. *Ann Med*. 2013;45:254–64.
31. Koyama S, Tsuruda T, Ideguchi T, Kawagoe J, Onitsuka H, Ishikawa T, Date H, Hatakeyama K, Asada Y, Kato J, Kitamura K. Osteoprotegerin is secreted into the coronary circulation: a possible association with the renin-angiotensin system and cardiac hypertrophy. *Horm Metab Res*. 2014;46(8):581–6.
32. Avignon A, Sultan A, Plot C, Mariano-Goulart D, Thuan Dit Dieudonné JF, Cristol JP, Dupuy AM. Osteoprotegerin: a novel independent marker for silent myocardial ischemia in asymptomatic diabetic patients. *Diabetes Care*. 2007;30(11):2934–9.
33. Omland T, Ueland T, Jansson AM, Persson A, Karlsson T, Smith C, Herlitz J, Aukrust P, Hartford M, Caidahl K. Circulating osteoprotegerin levels and long-term prognosis in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51(6):627–33.
34. Kalaycıoğlu E, Gökdeniz T, Aykan AÇ, Hatem E, Gürsoy MO, Ören A, Yaman H, Karadeniz AG, Çelik Ş. Osteoprotegerin is associated with subclinical left ventricular systolic dysfunction in diabetic hypertensive patients: a speckle tracking study. *Can J Cardiol*. 2014;30(12):1529–34.
35. Kruzliak P, Berezin A, Kremzer A, Samura T, Benacka R, Mozos I, Egom E, Rodrigo L. Global longitudinal strain and strain rate in type two diabetes patients with chronic heart failure: relevance to Osteoprotegerin. *Folia Med (Plovdiv)*. 2016;58(3):164–73.
36. Kalam K, Otahal P, Marwick TH. Prognostic implications of global LV dysfunction: a systematic review and meta-analysis of global longitudinal strain and ejection fraction. *Heart*. 2014;100:1673–80.
37. Honda H, Qureshi AR, Heimbürger O, Barany P, Wang K, Pecoits-Filho R, Stenvinkel P, Lindholm B. Serum albumin, C-reactive protein, interleukin 6, and fetuin a as predictors of malnutrition, cardiovascular disease, and mortality in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis*. 2006;47(1):139–48.
38. Hermans MM, Brandenburg V, Ketteler M, Kooman JP, van der Sande FM, Boeschoten EW, Leunissen KM, Krediet RT, Dekker FW. Netherlands cooperative study on the adequacy of dialysis (NECOSAD): association of serum fetuin-a levels with mortality in dialysis patients. *Kidney Int*. 2007;72(2):202–7.
39. Ciaccio M, Bivona G, Di Sciacca R, Iatrino R, Di Natale E, Li Vecchi M, Bellia C. Changes in serum fetuin-a and inflammatory markers levels in end-stage renal disease (ESRD): effect of a single session haemodialysis. *Clin Chem Lab Med*. 2008;46(2):212–4.
40. Hamano T, Matsui I, Mikami S, Tomida K, Fujii N, Imai E, Rakugi H, Isaka Y. Fetuin-mineral complex reflects extraosseous calcification stress in CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(11):1998–2007.