

Há relação entre ingestão alimentar de triptofano e níveis plasmáticos de indoxil sulfato em pacientes renais crônicos em hemodiálise?

Is there a relationship between tryptophan dietary intake and plasma levels of indoxyl sulfate in chronic kidney disease patients on hemodialysis?

Autores

Jessyca Sousa de Brito¹
 Natália Alvarenga Borges¹
 Carla Juliana Ribeiro
 Dolenga²
 José Carlos Carraro-
 Eduardo¹
 Lia Sumie Nakao²
 Denise Mafra¹

¹ Universidade Federal
 Fluminense.

² Universidade Federal do
 Paraná.

Data de submissão: 16/03/2016.
 Data de aprovação: 13/06/2016.

Correspondência para:

Jessyca Sousa de Brito.
 Universidade Federal
 Fluminense.
 Rua República Dominicana,
 Quadra 49, Lote 11, Itaipu,
 Niterói, Rio de Janeiro, Brasil.
 CEP: 24342-780
 E-mail: jessyca__sousa@
 hotmail.com
 Coordenação de Aperfeiçoamento
 de Pessoal de Nível Superior
 (CAPES), Conselho Nacional de
 Pesquisa (CNPq) e Fundação de
 Amparo à Pesquisa do Estado do
 Rio de Janeiro (FAPERJ).

DOI: 10.5935/0101-2800.20160064

RESUMO

Introdução: A microbiota intestinal está envolvida na geração de toxinas urêmicas presentes nos pacientes com doença renal crônica (DRC) em hemodiálise (HD) como indoxil sulfato (IS), formado a partir da fermentação do aminoácido triptofano. **Objetivo:** Avaliar a ingestão de triptofano alimentar pelos pacientes renais crônicos em HD e sua possível relação com os níveis plasmáticos de IS. **Métodos:** Participaram do estudo 46 pacientes com DRC em programa regular de HD (56,5% homens; 52,7 ± 10,3 anos; 63 (32,2-118,2) meses em HD; IMC 25,6 ± 4,9kg/m²). A ingestão de triptofano foi avaliada por meio do recordatório alimentar de 24 (R-24h) realizado em três diferentes dias. Exames bioquímicos de rotina, bem como a avaliação antropométrica foram avaliados. Os níveis plasmáticos de IS foram determinados por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) com detecção fluorescente e as concentrações plasmáticas de interleucina-6 (IL-6) pelo método imunoenzimático (ELISA, *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). **Resultados:** A ingestão média de triptofano estava dentro do recomendado, já os níveis plasmáticos de IS (35,0 ± 11,9mg/L) estavam elevados, porém de acordo com os valores da EUTox para indivíduos urêmicos. Não houve correlação entre a ingestão de triptofano e os níveis plasmáticos de IS. Contudo, houve correlação positiva entre ingestão de proteína e triptofano e variáveis que avaliam massa magra e, além disso, os níveis IS foram positivamente associados com os de IL-6 ($r = 0,6; p = 0,01$). **Conclusão:** O presente estudo sugere que a ingestão alimentar de triptofano pode não ser um fator determinante dos níveis de IS. No entanto, sugere que o intestino pode ter importante papel na inflamação sistêmica presente nos pacientes com DRC.

Palavras-chave: diálise renal; falência renal crônica; triptofano.

ABSTRACT

Introduction: Gut microbiota is involved in generation of uremic toxins in chronic kidney disease (CKD) patients on hemodialysis (HD), like indoxyl sulfate (IS) that is originated from tryptophan amino acid fermentation. **Objective:** To evaluate the tryptophan intake by chronic renal failure patients on HD and its possible relationship with IS plasma levels. **Methods:** Participated of the study 46 patients with CKD on HD regular program (56.5% men; 52.7 ± 10.3 years; 63 (32.2-118.2) months on HD; BMI 25.6 ± 4.9 kg/m²). The tryptophan intake was evaluated by a 24-hours dietary recall (R-24h) performed on 3 different days. Routine biochemical tests and anthropometric measurements were evaluated. IS plasma levels were determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with fluorescent detection and the interleukin-6 (IL-6) plasma levels by immunoenzymatic method (ELISA, *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). **Results:** The average of tryptophan intake was according to recommendation, but IS plasma levels (35.0 ± 11.9 mg/L) were elevated, however according to the EUTox values for uremic individuals. There was no correlation between the tryptophan intake and IS plasma levels. However, there was positive correlation between protein intake and tryptophan and variables used to evaluate lean body mass, and moreover, IS levels were positively associated with IL-6 ($r = 0.6; p = 0.01$). **Conclusion:** The present study suggests that tryptophan dietary intake may not be a determinant factor to IS levels. However, it suggests that gut microbiota may play an important role in systemic inflammation in patients with CKD.

Keywords: kidney failure, chronic; renal dialysis; tryptophan.

INTRODUÇÃO

Pacientes em hemodiálise (HD) apresentam vários fatores de risco para doença cardiovascular (DCV) e, de fato, a mortalidade cardiovascular é elevada nessa população.^{1,2} Adicionalmente aos fatores de risco tradicionais (obesidade, hipertensão, diabetes, dislipidemia, etc.) e às situações típicas da doença renal (hipervolemia, anemia, alterações no metabolismo cálcio-fósforo, etc.), esses pacientes também apresentam alta prevalência dos chamados fatores emergentes: hiperhomocisteinemia, elevados níveis de lipoproteína (a), estresse oxidativo e inflamação.^{1,3}

A partir da década de 90, pesquisas começaram a revelar o surgimento de um novo fator de risco que poderia estar relacionado à inflamação e aterosclerose: o desequilíbrio da microbiota intestinal.⁴⁻⁸

As bactérias intestinais possuem diversos papéis metabólicos e são capazes de promover a conversão de componentes dietéticos, levando à formação de grande variedade de substâncias que podem ter efeitos benéficos ou maléficos à saúde humana.⁹ Assim, o desequilíbrio da composição da microbiota intestinal (disbiose) pode promover maior geração de toxinas urêmicas.

Alterações na microbiota intestinal estão presentes em pacientes com DRC, caracterizadas, por exemplo, pela expansão de espécies bacterianas que levam à produção aumentada de gases tóxicos, toxinas urêmicas, aminas, amônia e maior concentração de substâncias denominadas padrões moleculares associados a patógenos, como os lipopolissacarídeos (LPS).

Além disso, a disbiose compromete a função da barreira intestinal, tornando-a mais permeável a elementos tóxicos.^{10,11} O aumento da permeabilidade da barreira intestinal pode permitir maior influxo de ureia proveniente da circulação sanguínea para o lúmen intestinal, favorecendo o crescimento de determinadas bactérias em detrimento de outras.¹²

Pacientes com DRC são frequentemente aconselhados a seguir dietas com baixo teor de fibras vegetais fermentáveis, devido ao fato desses alimentos serem também fontes de potássio. Esta mudança na oferta de substratos considerados prebióticos poderia contribuir para a disbiose na DRC.¹³

Adicionalmente, tais pacientes estão constantemente expostos a diversos fatores como desnutrição, edemas, estresse emocional (patológico, psicológico

ou farmacológico), constipação intestinal e uremia, comprometendo ainda mais a integridade dessa barreira. Esse conjunto de fatores torna tais pacientes susceptíveis a maior absorção de substâncias promotoras de estresse oxidativo e inflamação sistêmica, caracterizada por elevados níveis de citocinas inflamatórias como interleucinas (IL) e fator de necrose tumoral α (TNF- α).¹⁴

Várias toxinas urêmicas podem ser produzidas pela microbiota intestinal, a partir da fermentação de alguns nutrientes que alcançam o intestino. Por exemplo, a síntese de indoxil sulfato (IS) é iniciada por enterobactérias a partir da conversão do aminoácido triptofano a indol, o qual é absorvido no trato gastrointestinal, e no fígado, por hidroxilação e sulfatação, forma IS. Sabe-se que pacientes com DRC possuem níveis séricos de IS elevados e a progressão da doença parece estar diretamente relacionada com este aumento.¹⁵

Na fase dialítica, os níveis dessas toxinas são maiores, uma vez que o procedimento dialítico não é eficiente para removê-las.¹⁶ O IS parece promover a progressão da DRC devido aos seus efeitos pró-fibróticos em glomérulos renais,^{17,18} induzir a disfunção endotelial e proliferação de células do músculo liso vascular,¹⁹ promover agravamento do processo aterosclerótico²⁰ e parece também estar associado à doença óssea na DRC.^{19,21}

O triptofano é um componente alimentar comumente presente na dieta e a quantidade ingerida deste aminoácido pode estar relacionada à determinação dos níveis plasmáticos de IS a partir de sua metabolização pelas bactérias intestinais.

Portanto, considerando que esta toxina urêmica está relacionada ao risco de DCV em pacientes renais crônicos, nos quais a principal causa de mortalidade é a doença cardiovascular, o presente estudo teve como principal objetivo avaliar a ingestão de triptofano em pacientes com DRC em HD e sua relação com os níveis plasmáticos de IS. Adicionalmente, foram investigadas possíveis correlações entre as variáveis de ingestão alimentar, antropometria e do marcador inflamatório interleucina-6 (IL-6).

MATERIAIS E MÉTODOS

CASUÍSTICA

Foi realizado um estudo transversal envolvendo 46 pacientes com DRC em programa regular de HD de ambos os sexos atendidos na Clínica Renal

Vida (Rio de Janeiro, Brasil). Todos os participantes foram previamente informados sobre a utilização do material biológico para realização do trabalho, participaram como voluntários e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Para participar do estudo, os pacientes deveriam apresentar idade entre 18 e 74 anos e possuir fístula arteriovenosa (FAV) como acesso vascular.

A média de duração das sessões de HD foi de aproximadamente 3 a 4,5 horas três vezes por semana, com fluxo de sangue superior a 250 mL/min, fluxo de dialisado 500 mL/min e tampão de bicarbonato. Não foram incluídos pacientes com doenças autoimunes, infecciosas, neoplásicas e AIDS; gestantes, pacientes em uso de drogas catabolizantes, suplementos pré, pró ou simbióticos e antibióticos nos últimos 3 meses antes do início deste estudo. Dados demográficos, clínicos e bioquímicos de rotina foram obtidos pela análise do prontuário, por entrevista ou coleta de material biológico (sangue).

PROCEDIMENTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina/Hospital Universitário Antônio Pedro, recebendo o número 083/11.

ANÁLISE DA INGESTÃO ALIMENTAR

A ingestão energética diária de macronutrientes e triptofano foi estimada a partir do recordatório alimentar de 24 horas (R-24h) de três dias diferentes, sendo um dia de diálise, um dia sem diálise e outro de final de semana. A média da ingestão foi calculada com o uso de *software* de avaliação dietética NutWin®-UNIFESP. A ingestão diária de energia, proteínas e triptofano foi normalizada para o peso dos pacientes. A composição de nutrientes dos alimentos não inclusos neste *software* foi obtida a partir da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.²²

AValiação DO ESTADO NUTRICIONAL

O estado nutricional foi avaliado por meio dos seguintes parâmetros antropométricos: peso corporal, estatura, circunferência do braço, circunferência da cintura e dobras cutâneas. Todas as aferições foram realizadas após a sessão de HD e foi utilizado o adipômetro do tipo Lange Skinfold Caliper (Cambridge Scientific Industries Inc.). O índice de massa corporal (IMC)

foi obtido pela razão entre o peso e o quadrado da estatura, e sua classificação seguiu o proposto pela Organização Mundial de Saúde (OMS).^{23,24}

Para melhor avaliar a reserva de tecido muscular, devido à correção da área óssea, foi calculada a área muscular do braço corrigida (AMBc) e, para avaliação da reserva adiposa, foi calculado o percentual de gordura corporal (%GC). Para estimativa deste, considerou-se o somatório de quatro pregas cutâneas: bicipital, tricípital, subescapular e suprailíaca, sendo seu resultado empregado na equação de Durnin e Womersely para o cálculo da Densidade Corporal (DC).²⁵

A partir dos valores de DC, a porcentagem de gordura corporal total foi determinada utilizando a fórmula de Siri.²⁶ Os valores de referência para classificação do %GC foram os pontos de corte propostos por Lohman.²⁷ Para analisar o perfil de distribuição de gordura corporal, foi aferida a circunferência da cintura (CC) e a classificação foi realizada segundo os pontos de corte sugeridos pela OMS.²⁸

COLETA DE SANGUE

Amostras de sangue foram obtidas no período da manhã, estando os pacientes em jejum de 12 horas. O sangue foi coletado em tubos Vacutainer® contendo EDTA como anticoagulante (1 mg/mL). Em seguida, o sangue foi centrifugado a 2500 rpm por 10 minutos, a 4°C, para a obtenção do plasma. O plasma foi acondicionado em tubos eppendorfs de polipropileno de 1,5 mL, e conservado a -80°C para posteriores análises.

DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE IL-6 E INDOXIL SULFATO

Os níveis plasmáticos da citocina inflamatória IL-6 foram determinados pelo teste imunoenzimático *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) utilizando-se o kit Boster Immunoleader (Boster Biological Technology Co. Ltda.).

Para determinar as concentrações totais (fração livre e fração ligada a proteínas) plasmáticas do IS, as amostras foram processadas como descrito previamente.²⁹ Brevemente, elas foram diluídas com água e aquecidas a 95°C durante 30 minutos. Depois foram resfriadas (10 min em gelo) e ultrafiltradas (Amicon Ultra 30 kDa - Millipore, Billerica, MA). O ultrafiltrado (10uL) foi analisado.

Os níveis plasmáticos da toxina IS foram determinados por cromatografia líquida de alto desempenho (*High-performance liquid chromatography* - HPLC), Shimadzu Prominence, composto por uma bomba (LC-20AD Shimadzu), controlada pelo programa LC Solution e um detector de fluorescência (RF-20A Shimadzu), além do injetor manual (7125 Rheodyne).

A separação cromatográfica foi realizada por uma coluna C8 (Phenomenex, Luna 5 μ m, 100A, 150x4,6mm), eluída por 50 mM de formiato de amônio pH 3,0 e um gradiente de metanol, variando de 35 a 70%, em um fluxo de 0,7 ml/min, à temperatura ambiente. IS foi detectada por detector de fluorescência ($\lambda_{exc} = 280$ nm e $\lambda_{emi} = 383$ nm). Curvas de calibração foram construídas para cada conjunto de amostras processadas. Os calibradores eram preparados em matriz plasma de doadores saudáveis e processadas como as amostras.

A validação desta quantificação foi realizada com os seguintes parâmetros: precisão, exatidão, curva de calibração, efeito residual, efeito matriz, seletividade e estabilidade, segundo diretrizes da resolução Anvisa RDC 27/2012. A retenção relativa do IS foi avaliada pela razão M/N, em que M é a média das concentrações encontradas nos pacientes e N a concentração normal utilizando o valor de referência para indivíduos saudáveis (EUToX) (0,6mg/L).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para testar a distribuição das variáveis, sendo os resultados expressos como média \pm DP (desvio-padrão), mediana (distância interquartilica) ou percentual, conforme adequado. O coeficiente de correlação de Pearson ou Spearman foi considerado para avaliar a correlação entre as variáveis. Os testes foram fixados com valores de confiança em 95% ($p < 0,05$), sendo considerados significativos. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SPSS (19.0).

RESULTADOS

As características gerais e parâmetros antropométricos dos pacientes se encontram na Tabela 1. Foram incluídos no estudo 46 pacientes, 26 homens (56,5%), com tempo de tratamento dialítico médio de 63 (32,2-118,2) meses. O principal fator etiológico que levou à DRC foi a nefroesclerose hipertensiva (68,9%).

TABELA 1 CARACTERÍSTICAS GERAIS E ANTROPOMÉTRICAS DOS PACIENTES RENAIIS CRÔNICOS EM HD

Parâmetros	Pacientes (n = 46)
Idade (anos)	52,8 \pm 10,3
Tempo em HD (meses)	63 (32,2 - 118,2)
IMC (kg/m ²)	25,6 \pm 4,9
AMBc (cm ²)	42,2 \pm 11,2
MLG (Kg)	48,8 \pm 11,4
%GC	29,4 \pm 7,9
CC (cm)	93,0 \pm 13,6

HD: Hemodiálise; IMC: Índice de massa corporal; AMBc: Área muscular do braço corrigida; %GC: Percentual de gordura corporal; CC: Circunferência da cintura; MLG: Massa livre de gordura.

Os valores médios de macronutrientes e triptofano ingeridos encontram-se na Tabela 2. Todos os pacientes avaliados apresentaram ingestão energética inferior à recomendação diária para manutenção de peso (30 kcal/kg a 35 kcal/kg). Nenhum paciente alcançou a recomendação proteica para indivíduos em HD (1,2 a 1,4 g/kg/dia). A ingestão média de triptofano, por sua vez, foi de 8,5 mg/kg/dia, similar às recomendações da *Dietary Reference Intakes* (DRI) de 8 mg/Kg/dia.

TABELA 2 INGESTÃO DE ENERGIA, MACRONUTRIENTES E TRIPTOFANO

Parâmetros	Pacientes (n = 46)
Energia (kcal/dia)	1.194,6 \pm 456,5
Energia (Kcal/Kg/dia)	16,5 \pm 6,6
Proteína (g/dia)	62,7 \pm 23,5
Proteína (g/Kg/dia)	0,9 \pm 0,3
PNA (g/Kg/dia)	1,07 \pm 0,3
Lipídio (g/dia)	30,0 \pm 13,0
Carboidrato (g/dia)	165,2 \pm 66,8
Fibras totais (g/dia)	13,5 \pm 6,1
Triptofano (mg/Kg/dia)	8,5 \pm 4,1

Os níveis plasmáticos de parâmetros bioquímicos de rotina, IL-6 e IS estão apresentados na Tabela 3. A média dos níveis plasmáticos de IS está de acordo com o esperado para indivíduos urêmicos, descritos no banco de dados europeu referente a solutos urêmicos (EUToX). A retenção relativa do IS nos pacientes deste estudo foi de 58,4 vezes o normal.

A avaliação antropométrica revelou que, de acordo com o IMC, a maioria dos pacientes (57,1%) apresentou eutrofia (18,5 - 24,9 kg/m²), 28,6% dos pacientes encontravam-se dentro da faixa de

TABELA 3 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DOS PACIENTES EM HD

Parâmetros	Pacientes (n = 46)
Ureia Pré-HD (mg/dL)	148,8 ± 65,9
Creatinina (mg/dL)	10,4 ± 3,3
Albumina (g/dL)	4,2 ± 0,3
Hematócrito (%)	34,9 ± 3,6
Hemoglobina (g/dL)	11,5 ± 1,3
IL-6 (pg/ml)	38,2 (21,3 - 57,1)
IS (mg/L)	35 ± 11,9

HD: Hemodiálise; IL-6: Interleucina-6; IS: Indoxil Sulfato.

sobrepeso (25 - 29,9 kg/m²) e 14,3% estavam obesos (≥ 30 kg/m²). Nenhum paciente estava desnutrido (< 18,5 kg/m²) de acordo com este índice.

Apesar da maioria dos pacientes ter apresentado eutrofia segundo o IMC, a avaliação do %GC mostrou que 35,5% dos pacientes apresentaram obesidade e 22,6% estavam acima da média esperada. A avaliação da CC revelou que 51,6% dos pacientes encontravam-se dentro da faixa de normalidade, no entanto, 22,6% apresentaram CC elevada e 25,8% muito elevada. Na análise da reserva de tecido muscular pela AMBc, 78,8% dos pacientes encontravam-se com valores normais, 15,2% apresentaram desnutrição moderada e 6,1% apresentaram desnutrição grave de acordo com essa variável.

Não foi encontrada correlação entre os níveis de IS e ingestão de triptofano. No entanto, observou-se que os níveis desta toxina urêmica correlacionaram-se positivamente com os níveis plasmáticos de IL-6 ($r = 0,6$; $p = 0,011$). Houve também associação positiva entre ingestão de proteína e índices que avaliam a massa magra destes indivíduos, como a AMBc ($r = 0,521$; $p = 0,008$) e a MLG ($r = 0,492$; $p = 0,017$). O mesmo ocorreu em relação à ingestão de triptofano e tais variáveis (triptofano x AMBc: $r = 0,558$; $p = 0,004$; triptofano x MLG: $r = 0,470$; $p = 0,008$).

DISCUSSÃO

Uma vez que o triptofano é metabolizado pelas bactérias intestinais como substrato para a síntese da toxina urêmica, indoxil sulfato, o presente estudo teve como objetivo verificar se a ingestão deste aminoácido pelos pacientes renais crônicos em HD apresenta relação com os níveis plasmáticos totais desta toxina urêmica. Os resultados observados não revelaram tal correlação. No entanto, observou-se que os níveis de IS apresentaram associação positiva com o marcador

de inflamação IL-6 e que a ingestão de proteína e triptofano correlacionaram-se positivamente com variáveis que avaliam massa magra.

Apesar do baixo consumo alimentar relatado pelos pacientes, a ingestão média de triptofano estava dentro dos valores recomendados pela *Dietary Reference Intakes* (DRI). Ressalta-se que a ingestão alimentar foi avaliada pelo R-24h, que apesar de ser um método rápido, de baixo custo e fácil aplicação, apresenta limitações como a dependência da memória e colaboração do entrevistado e a falta de precisão e acurácia das informações sobre a quantidade ingerida.

Contudo, na ausência de biomarcadores simples e acessíveis para determinar a ingestão alimentar, os métodos de avaliação obtidos por autorrelato são amplamente utilizados para acessar a ingestão energética em estudos clínicos e epidemiológicos. Deste modo, o R-24h foi aplicado em três diferentes momentos com o objetivo de se obter maior precisão.

A análise da ingestão de triptofano revelou valores dentro do recomendado, mesmo os pacientes tendo apresentado baixa ingestão proteica. Isso ocorreu, pois as principais fontes alimentares deste macronutriente eram as proteínas de alto valor biológico (como carnes e laticínios), sendo estas as principais fontes de triptofano.

Inquestionavelmente, a ingestão de triptofano está envolvida na geração intestinal de IS, uma vez que é substrato para sua formação, todavia, este estudo demonstrou que a ingestão não determinou os níveis circulantes de IS, o que reforça a hipótese do papel predominante das bactérias intestinais na geração deste e de outros solutos tóxicos. Indivíduos com DRC, além da dieta, apresentam diversas condições associadas à doença que seriam capazes de interferir nessas variáveis.¹⁴

Os valores correspondentes à ingestão de proteína e triptofano da dieta correlacionaram-se positivamente com variáveis que avaliaram a massa magra destes indivíduos, demonstrando a importância da ingestão proteica, mais especificamente da proteína de alto valor biológico, na manutenção do estado nutricional destes indivíduos que estão expostos a diversos fatores catabólicos.³⁰

A correlação observada entre os níveis plasmáticos de IS e IL-6 sugere que o trato gastrointestinal, ao gerar metabólitos tóxicos como IS, pode contribuir para a inflamação crônica frequentemente encontrada em pacientes com DRC.³¹

Deste modo, os resultados deste estudo sugerem que o manejo nutricional a ser adotado para esses pacientes a fim de modular os níveis plasmáticos de IS não deve ser pautado na redução da oferta de fontes alimentares de triptofano, uma vez que esta conduta parece não ser eficaz na determinação dos níveis plasmáticos desta toxina e tal intervenção poderia ainda representar um risco para o estado nutricional destes indivíduos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Clínica Renal Vida por autorizar a participação dos pacientes nesta pesquisa; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- Bayés B, Pastor MC, Bonal J, Foraster A, Romero R. Oxidative stress, inflammation and cardiovascular mortality in haemodialysis-role of seniority and intravenous ferrotherapy: analysis at 4 years of follow-up. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:984-90. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfi294>
- Baurmeister U, Vienken J, Ward RA. Should dialysis modalities be designed to remove specific uremic toxins? *Semin Dial* 2009;22:454-7.
- Stenvinkel P. Inflammation as a target for improving health in chronic kidney disease. *F1000 Med Rep* 2010;2:88. DOI: <http://dx.doi.org/10.3410/M2-88>
- Bammens B, Evenepoel P, Verbeke K, Vanrenterghem Y. Impairment of small intestinal protein assimilation in patients with end-stage renal disease: extending the malnutrition-inflammation-atherosclerosis concept. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1536-43. PMID: 15585765
- Bammens B, Evenepoel P, Keuleers H, Verbeke K, Vanrenterghem Y. Free serum concentrations of the protein-bound retention solute p-cresol predict mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2006;69:1081-7. PMID: 16421516 DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5000115>
- Schepers E, Meert N, Glorieux G, Goeman J, Van der Eycken J, Vanholder R. P-cresylsulphate, the main *in vivo* metabolite of p-cresol, activates leucocyte free radical production. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:592-6. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfl584>
- Meijers BK, Bammens B, De Moor B, Verbeke K, Vanrenterghem Y, Evenepoel P. Free p-cresol is associated with cardiovascular disease in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2008;73:1174-80. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2008.31>
- Musso G, Gambino R, Cassader M. Interactions between gut microbiota and host metabolism predisposing to obesity and diabetes. *Annu Rev Med* 2011;62:361-80. DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-med-012510-175505>
- Blaut M, Clavel T. Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease. *J Nutr* 2007;137:751S-5S.
- Vaziri ND. CKD impairs barrier function and alters microbial flora of the intestine: a major link to inflammation and uremic toxicity. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2012;21:587-92. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/MNH.0b013e328358c8d5>
- Wong J, Piceno YM, DeSantis TZ, Pahl M, Andersen GL, Vaziri ND. Expansion of urease- and uricase-containing, indole- and p-cresol-forming and contraction of short-chain fatty acid-producing intestinal bacteria in ESRD. *Am J Nephrol* 2014;39:230-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000360010>
- Hauser AB, Stinghen AE, Gonçalves SM, Bucharles S, Pecoits-Filho R. Gut feeling on endotoxemia: causes and consequences in chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2011;118:c165-72. DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000321438>
- Lau WL, Kalantar-Zadeh K, Vaziri ND. The Gut as a Source of Inflammation in Chronic Kidney Disease. *Nephron* 2015;130:92-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000381990>
- Mafra D, Fouque D. Gut microbiota and inflammation in chronic kidney disease patients. *Clin Kidney J* 2015;8:332-4. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ckj/sfv026>
- Schulman G. A nexus of progression of chronic kidney disease: charcoal, tryptophan and profibrotic cytokines. *Blood Purif* 2006;24:143-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000089451>
- Deltombe O, Van Biesen W, Glorieux G, Massy Z, Dhondt A, Elout S. Exploring Protein Binding of Uremic Toxins in Patients with Different Stages of Chronic Kidney Disease and during Hemodialysis. *Toxins (Basel)* 2015;7:3933-46. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/toxins7103933>
- Motojima M, Hosokawa A, Yamato H, Muraki T, Yoshioka T. Uremic toxins of organic anions up-regulate PAI-1 expression by induction of NF-kappaB and free radical in proximal tubular cells. *Kidney Int* 2003;63:1671-80. PMID: 12675842 DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00906.x>
- Dou L, Bertrand E, Cerini C, Faure V, Sampol J, Vanholder R, et al. The uremic solutes p-cresol and indoxyl sulfate inhibit endothelial proliferation and wound repair. *Kidney Int* 2004;65:442-51. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1523-1755.2004.00399.x>
- Adijiang A, Goto S, Uramoto S, Nishijima F, Niwa T. Indoxyl sulphate promotes aortic calcification with expression of osteoblast-specific proteins in hypertensive rats. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:1892-901. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfm861>
- Taki K, Takayama F, Niwa T. Beneficial effects of Bifidobacteria in a gastroresistant seamless capsule on hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2005;15:77-80. DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/j.jrn.2004.09.028>
- Nii-Kono T, Iwasaki Y, Uchida M, Fujieda A, Hosokawa A, Motojima M, et al. Indoxyl sulfate induces skeletal resistance to parathyroid hormone in cultured osteoblastic cells. *Kidney Int* 2007;71:738-43. PMID: 17264878 DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5002097>
- TACO. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. 4a ed. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2011. 161 p.
- Organização Mundial da Saúde, 1995. In: Cuppari L. Guias de medicina ambulatorial e hospitalar da Unifesp/EPM - Nutrição clínica no adulto. São Paulo: Manole; 2005. p. 92.
- Organização Mundial da Saúde, 1997. In: Cuppari L. Guias de medicina ambulatorial e hospitalar da Unifesp/EPM - Nutrição clínica no adulto. São Paulo: Manole; 2005. p. 92.
- Kamimura MA, Baxmann A, Sampaio LR, Cuppari L. Avaliação nutricional. In: Cuppari L. Guias de medicina ambulatorial e hospitalar da Unifesp/EPM - Nutrição clínica no adulto. São Paulo: Manole; 2005. p. 89-127.
- Siri WE. Body composition from fluid space and density. In: Brozek J, Hanschel A, eds. Techniques for measuring body composition. Washington: National Academy of Sciences-National Research Council; 1961. p. 223-4.
- Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual: Abridged edition. Champaign: Human Kinetics Books; 1991. 90 p.

28. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series 894. Geneva: World Health Organization; 2000. 252 p.
29. Meert N, Schepers E, Glorieux G, Van Landschoot M, Goeman JL, Waterloos MA, et al. Novel method for simultaneous determination of p-cresylsulphate and p-cresylglucuronide: clinical data and pathophysiological implications. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:2388-96. DOI:<http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfr672>
30. Burrowes JD, Larive B, Cockram DB, Dwyer J, Kusek JW, McLeroy S, et al.; Hemodialysis (HEMO) Study Group. Effects of dietary intake, appetite, and eating habits on dialysis and non-dialysis treatment days in hemodialysis patients: cross sectional results from the HEMO study. *J Ren Nutr* 2003;13:191-8. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1051-2276\(03\)00069-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1051-2276(03)00069-4)
31. Filiopoulos V, Vlassopoulos D. Inflammatory Syndrome in Chronic Kidney Disease: Pathogenesis and Influence on Outcomes. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2009;8:369-82. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/1871528110908050369>