

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NEFROLOGÍA

PROYECTO NEFRONA

**Observatorio Nacional de
Aterosclerosis en Nefrología**

**Estudio observacional, prospectivo y multicéntrico para
establecer un modelo de valoración de la enfermedad
aterosclerótica y su valor predictivo de eventos
cardiovasculares en pacientes con enfermedad renal
crónica en España**

Patrocinado por Abbott Laboratories, S.A.



1. TÍTULO

PROYECTO **NEFRONA**

OBSERVATORIO NACIONAL DE ATEROSCLEROSIS EN NEFROLOGÍA

Estudio observacional, prospectivo y multicéntrico para establecer un modelo de valoración de la enfermedad aterosclerótica y su valor predictivo de eventos cardiovasculares en pacientes con enfermedad renal crónica en España.

Fecha inicio reclutamiento: octubre-noviembre 2009

Fecha final reclutamiento: junio 2011

Duración prevista: 5 años

Fase del Estudio: Epidemiológico, Observacional, Prospectivo

Promotor del Estudio: Sociedad Española de Nefrología (S.E.N)

Investigadora Principal del Estudio: Dra. Elvira Fernández
Servicio de Nefrología
Hospital Universitario Arnau de Vilanova
Lleida
España
Email: efernandez@arnau.scs.es

Coordinadora del Estudio: Dra. Àngels Betriu
Hospital Universitario Arnau de Vilanova
Institut de Recerca Biomèdica, IRB
Lleida
España
Tel: +34 608411742
Email: abetriubars@gmail.com

2. RESUMEN DEL PROYECTO

PROYECTO **NEFRONA**: OBSERVATORIO NACIONAL DE ATEROSCLEROSIS EN **NEFROLOGÍA**

MODELO DE VALORACIÓN DE LA ENFERMEDAD ATEROSCLERÓTICA Y SU VALOR PREDICTIVO DE EVENTOS CARDIOVASCULARES EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA (ERC) EN ESPAÑA.

Justificación: La enfermedad cardiovascular (ECV) es la primera causa de mortalidad en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC). La valoración del riesgo cardiovascular derivado de los factores de riesgo tradicionales es poco sensible en la población con ERC, debido en gran parte al fenómeno de “reverse epidemiology” y a la existencia de factores específicos de la ERC como la alteración del metabolismo calcio-fósforo. Asimismo, existe una gran variabilidad en el impacto de los factores de riesgo dependiendo del estadio de la ERC.

Objetivos: Los objetivos principales del presente estudio son: 1. Estudiar la carga aterosclerótica de los pacientes con ERC mediante la práctica de la ecografía carotídea y medición del índice tobillo-brazo (ITB) y en comparación con un grupo control y 2. Evaluar la utilidad de las técnicas de imagen (ecografía arterial y ecocardiograma) y biomarcadores emergentes en la predicción del riesgo cardiovascular en una cohorte de pacientes con ERC. Como objetivos secundarios, nos planteamos: 1. El estudio de la historia natural de la enfermedad aterosclerótica de la ERC mediante la utilización de las técnicas de imagen. 2. La creación de una ecuación de riesgo específica para la población con ERC que incluya los parámetros de imagen y biomarcadores analizados en el presente estudio y en comparación con la información proporcionada por los factores de riesgo tradicionales. 3. La promoción de la investigación en patología vascular mediante la creación de un banco de datos de imagen y muestras biológicas representativo de la población española en todos los estadios de ERC.

Diseño: Estudio observacional, prospectivo y multicéntrico.

Ámbito: Consultas ambulatorias de nefrología y centros de diálisis distribuidos a lo largo del territorio español.

Sujetos de estudio: 2661 pacientes con ERC distribuidos de manera proporcional a su riesgo CV potencial entre todos los estadios y 843 sujetos sin enfermedad renal (grupo control).

Metodología y mediciones: Los equipos itinerantes realizarán una ecografía carotídea para determinar el grosor de la íntima-media (GIM) y la presencia de placas de ateroma, junto con la determinación del ITB para la clasificación de la enfermedad ateromatosa (EA). Para el estudio de la calcificación vascular se utilizará un score basado en el número de lugares que presentan calcificación en la ecografía de las arterias carotídeas, femorales y braquiales, y se recogerá información de la localización del calcio en la pared arterial (íntima, media o ambas). Se realizará un ecocardiograma para determinar la existencia o no de hipertrofia del ventrículo izquierdo (HVI) y la presencia o no de calcificaciones valvulares. Asimismo, se recogerán muestras de sangre que serán enviadas al

biobanco de la Red de Investigación Renal (REDinRen) donde se procesarán mediante un procedimiento estándar y se almacenarán para su posterior distribución a los grupos que determinarán biomarcadores. De las muestras de sangre se extraerá plasma, suero, DNA y RNA de monocitos circulantes. Al grupo control se le realizará una ecografía carotídea, la medición del ITB y se recogerá una muestra de sangre para la determinación de biomarcadores.

Resultados esperados: Este proyecto nos permitirá conocer la historia natural de la ERC y sus factores de riesgo a través de todos sus estadios. Asimismo, nos permitirá estimar el valor pronóstico de un nuevo modelo de prevención de la ECV basado en la utilización de marcadores de imagen y/o marcadores emergentes, más allá de los factores de riesgo tradicionales.

3. EQUIPO INVESTIGADOR

Investigador Principal:

- Dra. Elvira Fernández (Hospital Universitario Arnau de Vilanova, Lleida).

Centros participantes (no definitivo, varía a lo largo del estudio conforme a la inclusión de pacientes. El listado de participantes actualizado se puede encontrar en la web del nefrona: www.nefrona.es):

- **Centro de Investigación Médica Aplicada**, Pamplona, Navarra.
- **Clínica Girona**, Girona, Cataluña.
- **Clínica Santa Isabel**, Sevilla, Andalucía.
- **Complejo Hospitalario Universitario A Coruña**, A Coruña, Galicia.
- **Complejo Hospitalario de Ourense**, Ourense, Galicia.
- **Diaverum, Baix Llobregat**, Cataluña.
- **Fundació Puigvert**, Barcelona, Cataluña.
- **Fundación Jiménez Díaz**, Madrid.
- **Hospital Basurto**, Bilbao, País Vasco.
- **Hospital Clínic**, Barcelona, Cataluña.
- **Hospital Comarcal Ernest Lluch**, Calatayud, Aragón.
- **Hospital da Costa**, Burela, Lugo, Galicia.
- **Hospital de Figueres**, Figueres, Cataluña.
- **Hospital de la Defensa**, Zaragoza, Aragón.
- **Hospital de León**, León, Castilla y León.
- **Hospital de Navarra**, Navarra.
- **Hospital de Santiago**, Vitoria, País Vasco.
- **Hospital de Segovia**, Segovia, Castilla y León.
- **Hospital de Terrassa**, Terrassa, Cataluña.
- **Hospital del Mar**, Barcelona, Cataluña.
- **Hospital Doctor Peset**, Valencia, Comunitat Valenciana.
- **Hospital El Bierzo-Ponferrada-León**, León, Castilla y León.
- **Hospital Figueres**, Girona, Cataluña.
- **Hospital Francisc de Borja**, Gandia, Comunitat Valenciana.
- **Hospital Galdakao**, Bilbao, País Vasco.
- **Hospital General d'Igualada**, Igualada, Cataluña.
- **Hospital General de Ciudad Real**, Ciudad Real, Castilla-La Mancha.
- **Hospital General de Jérez**, Jérez, Andalucía.

- **Hospital General de Vic**, Vic, Cataluña.
- **Hospital General Manresa**, Manresa, Cataluña.
- **Hospital General Universitario Valencia**, Valencia, Comunitat Valenciana.
- **Hospital Infanta Sofía**, Madrid.
- **Hospital Insular Las Palmas**, Las Palmas de Gran Canarias, Islas Canarias.
- **Hospital Josep Trueta**, Girona, Cataluña.
- **Hospital La Paz**, Madrid.
- **Hospital Marqués de Valdecilla**, Santander, Cantabria.
- **Hospital Moisès Broggi**, Sant Joan Despí, Cataluña.
- **Hospital Nuestra Señora de la Candelaria**, Tenerife, Islas Canarias.
- **Hospital Parc Taulí**, Sabadell, Cataluña.
- **Hospital Ramón y Cajal**, Madrid.
- **Hospital Reina Sofía**, Murcia.
- **Hospital Reina Sofía**, Tudela.
- **Hospital Rio Carrión**, Palencia, Castilla y León.
- **Hospital San Jorge**, Huesca, Aragón.
- **Hospital San Juan de Dios**, Zaragoza, Aragón.
- **Hospital San Pedro**, Logroño, la Rioja.
- **Hospital Santa Bárbara**, Soria, Castilla y León.
- **Hospital Torrecárdenas**, Almería, Andalucía.
- **Hospital Tortosa**, Tortosa, Cataluña.
- **Hospital Universitari Arnau de Vilanova**, Lleida, Cataluña.
- **Hospital Universitari Bellvitge**, Barcelona, Cataluña.
- **Hospital Universitari Son Espases**, Palma de Mallorca, Illes Balears.
- **Hospital Universitario de Canarias**, Tenerife, Islas Canarias.
- **Hospital Universitario de la Princesa**, Madrid.
- **Hospital Universitario Guadalajara**, Guadalajara, Castilla-La Mancha.
- **Hospital Universitario Príncipe de Asturias**, Madrid.
- **Hospital Universitario Puerto Real**, Cádiz Andalucía.
- **Hospital Universitario San Cecilio**, Granada, Andalucía.
- **Hospital Vall d'Hebron**, Barcelona, Cataluña.
- **Hospital Virgen de la Salud de Toledo**, Toledo, Castilla-La Mancha.
- **Hospital Virgen de la Victoria**, Málaga, Andalucía.
- **Hospital Virgen del Rocío**, Sevilla, Andalucía.
- **Hospital Virgen del Consuelo**, Valencia, Comunitat Valenciana.
- **Hospital Virgen Macarena**, Sevilla, Andalucía.
- **Hospital Lucus Augusti**, Lugo, Galicia.
- **Institut Català Urologia i Nefrologia**, Barcelona, Cataluña.
- **Sistemes Renals**, Lleida, Cataluña.
- **USP Marbella**, Marbella, Andalucía.

4. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIONES

La enfermedad cardiovascular (ECV) es la primera causa de muerte en la enfermedad renal crónica (ERC), y su incidencia es mucho más elevada que en la población general, desde los primeros estadios de la insuficiencia renal (1). Esto ha llevado a considerar a los pacientes con ERC como de alto riesgo, equiparándolos a los pacientes diabéticos o con enfermedad coronaria.

En la práctica clínica habitual se utilizan diferentes algoritmos diagnósticos para la predicción del riesgo cardiovascular global. De los diferentes sistemas empleados, la ecuación derivada del estudio de Framingham sigue siendo la más utilizada en la predicción del riesgo cardiovascular, por ser el estudio poblacional de más años de seguimiento y que más información ha proporcionado sobre los factores de riesgo cardiovascular y su papel predictivo de episodios coronarios (2). Sin embargo, diferentes estudios encuentran que entre el 30% y el 70% de los episodios clínicos de ECV ocurren en personas clasificadas retrospectivamente como de bajo riesgo (3,4). Asimismo, la aplicabilidad de estas ecuaciones a poblaciones con riesgos cardiovasculares diferentes ha sido ampliamente cuestionada (5-7). En concreto, en la ERC, los modelos de prevención extrapolados de la población general no son aplicables debido al fenómeno de "reverse epidemiology" en estos pacientes, y al impacto de factores específicos derivados de la uremia y de su tratamiento (8).

La ecografía carotídea como técnica diagnóstica que visualiza directamente la aterosclerosis podría ser una herramienta útil en la detección de individuos clasificados a priori como de bajo riesgo, pero susceptibles de padecer un evento coronario en los próximos años (9,10). La ecografía carotídea evalúa el resultado final de la exposición de las arterias a la carga total de factores de riesgo y proporciona una definición más precisa del riesgo, más allá de los factores tradicionales, que permite priorizar la intensidad de la intervención dirigida a reducirlo (10). En relación a la idoneidad de la ecografía carotídea para mejorar la predicción del riesgo, es importante destacar que varios estudios prospectivos en individuos de más de 45 años de edad han demostrado de forma concluyente que el grosor íntima-media (GIM) carotídeo es un factor de riesgo independiente de la incidencia de ECV (11). En estos estudios (11) un GIM aumentado y/o la detección de placas incrementaron el riesgo relativo de complicaciones clínicas de la aterosclerosis hasta 5 veces más allá del valor predictivo de los factores de riesgo tradicionales. En la ERC, trabajos recientes (12,13) indican que la aterosclerosis subclínica es un evento precoz en la que están asociados tanto factores de riesgo clásicos como no clásicos (a destacar el metabolismo fosfocálcico). Sin embargo, hasta ahora, no disponemos de grandes estudios prospectivos que hayan evaluado la utilidad del GIM carotídeo en la predicción de la ECV en esta población.

Asimismo, mediante ecografía podemos estudiar la presencia y localización del calcio en las arterias. En la ERC, la localización del calcio en la pared arterial tiene interés para diferenciar si se trata de un proceso relacionado con la ateromatosis (calcificación de la íntima) o bien si se atribuye preferentemente a factores relacionados con el metabolismo mineral (calcificación de la media). En este sentido, determinadas hormonas mediadoras del metabolismo mineral se han asociado con una mayor incidencia de complicaciones vasculares en la población con ERC (14,15). En particular,

niveles altos circulantes del factor de crecimiento fibroblástico (FGF) 23 se han relacionado con una mayor progresión de la enfermedad renal (15). Por otro lado, se ha demostrado en nuestro laboratorio que los niveles séricos del ligando receptor del activador del factor nuclear kappa-B (RANKL) y osteoprotegerina (OPG) están relacionados con la calcificación vascular (16). Sin embargo, es necesaria la replicación de estos resultados en grandes estudios epidemiológicos.

Por lo tanto, la necesidad de plantear un estudio epidemiológico sobre patología arterial en pacientes con ERC se justifica tanto por su elevada tasa de morbi-mortalidad cardiovascular como por la falta de grandes estudios epidemiológicos que hayan identificado factores de riesgo específicos. Asimismo, la población con ERC es heterogénea, y probablemente el impacto de los factores de riesgo sea diferente dependiendo del estadio de la ERC. Basándose en estas evidencias, nos planteamos valorar la utilidad de herramientas diagnósticas no invasivas (ecografía arterial, índice tobillo-brazo (ITB) y ecocardiograma), junto con la determinación de biomarcadores emergentes, en la predicción de la ECV en pacientes con ERC.

5. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Nuestra hipótesis es que establecer la prevención de la ECV basándose en el diagnóstico precoz mediante la observación de la pared arterial (ecografía carotídea), la presencia y localización del calcio en la pared arterial (ecografía carotídea-femoral-braquial) y estructuras valvulares (ecocardiograma), junto con la determinación del ITB y biomarcadores, nos permitirá:

1. Conocer la historia natural de la patología arterial y los factores de riesgo específicos en cada estadio de la ERC.
2. Valorar el impacto de todos los parámetros de imagen en la morbi-mortalidad CV de estos pacientes, y establecer criterios homogéneos de medida y cuantificación.
3. Validar un método homogéneo de valoración de la enfermedad aterosclerótica que facilitará su utilización generalizada y la extrapolación de los resultados a otros estudios.
4. Identificar la localización del calcio en la pared arterial mediante ecografía permitirá profundizar en la fisiopatología de la calcificación arterial y los factores inductores de la misma.
5. Identificar biomarcadores específicos que pueden completar la información obtenida con las técnicas de imagen.
6. El análisis conjunto de todos estos parámetros permitirá construir un modelo matemático de predicción del riesgo cardiovascular, diferente para cada estadio de ERC.
7. Constituir un banco de imágenes (con la misma metodología y exploradores), de forma seriada en el tiempo y coincidente con la toma de muestras biológicas que podrá ser utilizado de manera reglada por diferentes grupos de investigación.

6. OBJETIVOS DEL PROYECTO

Los **objetivos principales** del presente estudio son: 1. Estudiar la carga aterosclerótica de los pacientes con ERC mediante la práctica de la ecografía carotídea y medición del índice tobillo-brazo (ITB) y en comparación con un grupo control y 2. Evaluar la utilidad de las técnicas de imagen (ecografía arterial y ecocardiograma) y biomarcadores emergentes en la predicción del riesgo cardiovascular en una cohorte de pacientes con ERC.

Como **objetivos secundarios** nos planteamos:

1. El estudio de la historia natural de la enfermedad aterosclerótica de la ERC mediante la práctica de la ecografía arterial y ecocardiograma. Asimismo, y de los factores que influyen en la progresión de la ERC.
2. La creación de una ecuación de riesgo específica para la población con ERC que incluya los parámetros de imagen y biomarcadores analizados en el presente estudio y en comparación con la información proporcionada por los factores de riesgo tradicionales.
3. La promoción de la investigación en patología vascular mediante la creación de un banco de datos de imagen y muestras biológicas representativo de la población española en todos los estadios de ERC, incluidos pacientes en diálisis.

7. PLAN DE INVESTIGACIÓN

7.1. DISEÑO DEL ESTUDIO: DESCRIPCIÓN Y PLAN

Estudio observacional, prospectivo (seguimiento a 4 años) y multicéntrico. Se reclutarán pacientes con ERC en los diferentes estadios, incluidos pacientes en diálisis, procedentes de diferentes consultas ambulatorias de nefrología y centros de diálisis del territorio español. Asimismo, se incluirán sujetos sin ERC (grupo control), estratificando por grupos de edad y sexo según la distribución de los pacientes con ERC, procedentes de centros de atención primaria de diferentes ciudades españolas, de los que sólo se recogerá información de la visita basal.

La selección de los pacientes renales se realizará mediante muestreo consecutivo de pacientes que llegan a las consultas ambulatorias de nefrología y que representan el conjunto asistencial de la red pública española con capacidad para atender a estos pacientes. Los sujetos sin ERC (grupo control) se seleccionarán de atención primaria por muestreo estratificado proporcional a la distribución por grupo de edad y sexo de los pacientes con ERC.

Debido a que no se descarta la posibilidad de una elevada incidencia de eventos cardiovasculares y de pérdidas de seguimiento durante el periodo propuesto en el proyecto (principalmente en pacientes en diálisis y en estadios más avanzados de enfermedad renal), a los 12 meses de la inclusión se seleccionará aleatoriamente un subgrupo de pacientes con ERC de entre los incluidos que cumplan 12 meses en el estudio, para realizarles un nuevo estudio de imagen con el objetivo de obtener una estimación de la evolución de la enfermedad arterial a 12 meses. Este subgrupo de pacientes seguirá posteriormente el mismo protocolo que el resto de enfermos con ERC.

Tras finalizar el periodo de inclusión de todos los pacientes y de los controles, se realizará un corte transversal para evaluar diferencias entre los dos grupos en fase basal.

Cada 6 meses se hará seguimiento telefónico de los pacientes con ERC incluidos en el estudio sobre: eventos cardiovasculares, modificaciones de tratamiento y pérdidas de seguimiento, con especial interés en la mortalidad de causa cardiovascular.

Se creará un Comité de Valoración de Eventos Cardiovasculares para asegurar que los eventos y las muertes están relacionadas con patología cardiovascular. Este comité estará formado por un cardiólogo, un nefrólogo con amplia experiencia clínica y un neurólogo

Los pacientes con ERC que a lo largo del estudio presenten un evento cardiovascular serán seguidos telefónicamente para estudio de nuevos eventos y de mortalidad, incidiendo específicamente en si la mortalidad es de causa cardiovascular.

Para el objetivo 3 se creará un Comité Científico responsable de valorar los proyectos y de regular el uso de las muestras del biobanco. Este Comité estará formado por el investigador principal, un miembro de la SEN, un biólogo, un nefrólogo y un evaluador externo experto en cada tema de los correspondientes proyectos.

7.2. SELECCIÓN DE LA POBLACIÓN DEL ESTUDIO

7.2.1. Criterios de inclusión de pacientes con ERC.

- Pacientes con ERC (filtrado glomerular (FG) estimado por MDRD abreviado): Estadio 3 (59-30 ml/min/1,73 m²) ó Estadio 4 (29-15 ml/min/1,73 m²) ó Estadio 5 (<15 ml/min/1,73 m²), incluyendo pacientes en diálisis
- Edad ≥ 18 años y < 75 años
- Ausencia de enfermedad cardiovascular previa (angina de pecho, infarto agudo de miocardio, accidente isquémico transitorio, infarto cerebral isquémico y/o hemorrágico, aneurisma de aorta abdominal y aterosclerosis de extremidades con claudicación intermitente).

7.2.2. Criterios de exclusión de pacientes con ERC.

- Enfermedad intercurrente que presuponga ausencia de seguimiento o expectativa de supervivencia menor a 1 año, a juicio del investigador
- Pacientes con infecciones activas y/o hospitalizados en el último mes
- Cirugía previa de las arterias carótidas
- Trasplante de cualquier tipo o con antecedentes de trasplante.
- Infección VIH.
- Embarazo.

LOS PACIENTES CON ERC QUE A LO LARGO DEL SEGUIMIENTO CAMBIEN DE ESTADIO O BIEN INICIEN DIALISIS SEGUIRÁN EN EL ESTUDIO.

LOS PACIENTES TRASPLANTADOS SERÁN EXCLUÍDOS DE SEGUIMIENTO.

TAMBIEN SE CONSIDERARÁ CRITERIO DE EXCLUSIÓN DE SEGUIMIENTO EL EMBARAZO.**7.2.3. Criterios de inclusión de sujetos sin ERC (grupo control).**

- Edad \geq 18 años y $<$ 75 años
- Función renal normal (FG $>$ 90ml/min/1,73 m² sin daño renal)
- Ausencia de enfermedad cardiovascular previa (angina de pecho, infarto agudo de miocardio, accidente isquémico transitorio, infarto cerebral isquémico y/o hemorrágico, aneurisma de aorta abdominal y aterosclerosis de extremidades con claudicación intermitente).

7.2.4. Criterios de exclusión de sujetos sin ERC (grupo control).

- Sujetos con infecciones activas y/o hospitalizados en el último mes
- Cirugía previa de las arterias carótidas

7.3. RECOGIDA DE DATOS

En todos los pacientes con ERC se recogerán las siguientes variables:

7.3.1. Demográficas:

- Edad y fecha de nacimiento
- Sexo
- Raza

7.3.2. Específicas de la enfermedad renal:

- Causa de la insuficiencia renal: glomerular, vascular, nefropatía diabética, metabólica, tubulointersticial, por fármacos o tóxicos, poliquistosis, displasia o hipoplasia renal, nefropatía hereditaria, enfermedad sistémica, mieloma múltiple y amiloidosis, otras y no filiadas
- Cálculo del filtrado glomerular según MDRD abreviado
- Estadio actual de enfermedad renal
- Paciente en diálisis (si/no)
- Si paciente en diálisis:
 - Tipo diálisis (hemodiálisis (HD)/diálisis peritoneal (DP))
 - Fecha de inicio de diálisis para cálculo de tiempo en diálisis (meses)
- Si paciente en HD:
 - Frecuencia: 3 días/semana, 4 días/semana, diaria, 5 ó más días/semana. Duración: horas/semana
 - Tipo: convencional, alto flujo o hemodiafiltración
 - Baño de calcio: 2,5 mEq/l, 3 mEq/l, 3,5 mEq/l, otras
 - Utilización agua ultrapura: (si/no)
 - Tipo de acceso vascular: catéter, fístula, prótesis
 - Kt/V (última determinación)
- Si paciente en DP:
 - Tipo DP: automática o manual
 - Tipo DP automática: 24 h o día seco
 - Tipo transporte: bajo / medio-bajo / medio-alto / alto
 - Utilización Icodextrina (si/no)

- Utilización soluciones bajas en productos degradación glucosa (PDG) (si/no)
- V total líquido infundido (ml)
- V total líquido drenado (ml)
- Volumen (V) de diuresis (ml)
- Ultrafiltración total (ml)
- Función renal residual (ml/min)
- Kt/V total
- Kt/V peritoneal
- Kt/V renal
- Baño de calcio: 2,5 mEq/l, 3,5 mEq/l, otras
- Antecedentes peritonitis (en el último año) (si/no)
- Número de peritonitis

7.3.3. Comorbilidad:

- Hábito tabáquico (no fumador, ex-fumador (> 1 mes evolución), fumador 1-10 cig/día, fumador 11-20 cig/día, fumador >20 cig/día, fumador ocasional)
- Alcohol (gr/día)
- Antecedentes de hipertensión arterial (si/no)
- Antecedentes de dislipemia (si/no)
- Antecedentes de fibrilación auricular (si/no)
- Antecedentes de insuficiencia cardíaca (si/no)
- Antecedentes de paratiroidectomía (si/no)
- Antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular prematura (antes de los 55 en varones y antes de los 65 en mujeres) (si/no)

7.3.4. Exploración física:

- Peso (Kg)
- Talla (m)
- Índice de masa corporal (IMC) en Kg/m²
- Cintura (cm)
- Presión arterial sistólica (mmHg)*
- Presión arterial diastólica (mmHg)*
- Presión de pulso
- Medición del índice tobillo-brazo (ITB)

***Media de 2 determinaciones con un intervalo de 2-3 minutos, con el sujeto en sedestación, mediante monitor automático OMRON®.**

7.3.5. Determinaciones Analíticas:

- Perfil lipídico (mg/dl): colesterol total, LDL, HDL y triglicéridos
- Apo B, apo A1
- Glucosa (mg/dl), Hb glicada (%)
- Insulina (U/l)
- Hematocrito (%), hemoglobina (gr/dl)
- Hierro (Fe), Transferrina (mg/dl), ferritina (ng/ml)
- Virus hepatitis C (si/no)
- AST/ALT (U/l)
- Calcio (Ca) total (mg/dl)

- Fósforo (P) (mg/dl)
- Producto calcio-fósforo (mg^2/dl^2)
- Albúmina (gr/dl)
- Urea (mg/dl)
- Ácido úrico (mg/dl)
- Creatinina (mg/dl)
- 1/creatinina
- Sodio (Na) (mEq/l)
- Potasio (K) (mEq/l)
- Parathormona intacta (PTHi)* (pg/ml)
- PTHi (pg/ml) (con ajuste de los valores de PTHi según el método de determinación del laboratorio, a los valores de PTHi K/DOQI)
- En muestra de orina:
 - Microalbuminuria (mg/l)
 - Cociente Albúmina/creatinina (mg/g)

***La fecha de la PTHi debe de coincidir con la misma fecha de las determinaciones analíticas de calcio, fósforo y albúmina. Si el paciente no tiene PTHi, sehará constar “no se determina”.**

Nota: Estas determinaciones se obtendrán de forma prospectiva, a partir de las analíticas realizadas a los pacientes durante el proceso asistencial llevado a cabo por cada centro participante en el estudio. De forma importante, estas determinaciones harán referencia a la analítica última o más reciente (+/- 3 meses respecto de la fecha del estudio) y en condiciones de ayuno. Para los pacientes en hemodiálisis el análisis se obtendrá prediálisis en el segundo día de hemodiálisis de la semana- Se necesita registrar las fechas de todas las analíticas.

Todas las determinaciones que no se realicen, tendrán la opción “no se determina” en la hoja de recogida de datos, para evitar campos en blanco.

7.3.6. Biomarcadores Emergentes:

- PCR ultrasensible
- Homocisteína
- Lipoproteína(a)
- Factor de crecimiento fibroblástico (FGF) 23
- 25 (OH) vitamina D
- 1,25 (OH₂) vitamina D
- Metaloproteinasas (MMPs) 2, 8, 9, 10
- Inhibidor metaloproteinasas (TIMP1)
- Ligando Receptor del Activador del Factor Nuclear Kappa-B (RANKL)
- Osteoprotegerina (OPG)

Notas:

¹El envío de muestras de sangre al biobanco de la REDinREN se realizará en la visita basal (visita 0), a los 2 años (visita 2) y a los 4 años del seguimiento (visita 4).

²La extracción de la muestra de sangre en los pacientes en diálisis será en situación de PREDIÁLISIS y en el **SEGUNDO DÍA DE LA SEMANA (miércoles si L-M-V o jueves si M-J-S)**

³Es imprescindible que el paciente esté en condiciones de ayuno. Sin embargo, se recogerán igualmente muestras de sangre de los pacientes que no estén en ayuno (pacientes diabéticos o visitados en horario de tardes), haciéndolo constar en la hoja de recogida de datos.

7.3.7. Tratamientos médicos actuales (incluyendo dosis y duración del tratamiento (en meses))*:

- Antihipertensivos (si/no) y tipo de tratamiento hipotensor: 1. antagonistas del calcio, 2. IECAS, 3. ARA-II, 4. diuréticos, 5. α -bloqueante, 6. β -bloqueante, 7. α/β -bloqueante, 8. inhibidor directo renina, 9. otros
- Hipolipemiantes (si/no) y tipo: 1. estatina, 2. fibrato, 3. ezetimiba, 5. omega 3, 4. otros
- Antiagregantes (si/no)
- Acenocumarol (si/no)
- Antidiabéticos orales (si/no).
- Insulina (si/no)
- Quelante del P con calcio (si/no), tipo y dosis diaria para calcular la cantidad de calcio elemento administrada
- Quelantes de P sin calcio (si/no)
- Calciomiméticos (si /no)
- Vitamina D y análogos: calcitriol, paricalcitol, alfacalcidol, colecalciferol, calcifediol (si/no), dosis semanal y fecha de inicio del tratamiento
- Hierro EV (si/no).
- Estimulantes eritropoyesis (si/no) y tipo: eritropoyetina alfa, eritropoyetina beta, eritropoyetina zeta, darbepoetina, cera

7.3.8. Pruebas de imagen (ver metodología determinaciones)*:

- Ecografía carotídea
- Ecografía carotídea-femoral-braquial para el estudio de las calcificaciones vasculares (score de calcio)
- Ecocardiograma

***Las pruebas de imagen se realizarán por cada equipo itinerante en la visita basal (visita 0), a los 2 años (visita 2) y a los 4 años de seguimiento (visita 4). A los 12 meses se realizará estudio de imagen a un subgrupo de pacientes con enfermedad renal.**

A los pacientes del grupo control sólo se les hará un estudio de imagen, en el momento de ser incluidos en el proyecto.

7.3.9. Eventos cardiovasculares

- Evento cardiovascular (si/no)
- Tipo evento cardiovascular (según la novena versión de la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades [CIE-9]):
 - Angina de pecho (413)
 - Infarto agudo de miocardio (410)
 - Accidente isquémico transitorio (435)
 - Infarto cerebral (433/434)
 - Hemorragia subaracnoidea (430)
 - Hemorragia intracerebral (431)

- Insuficiencia cardíaca (428)
- Aterosclerosis de extremidades con claudicación intermitente (440.21)
- Aneurisma de aorta abdominal (440.2)
- Otros (especificar)
- Fecha del evento
- Edad del paciente al evento (años)
- Muerte del paciente (si/no)
- Fecha de la muerte
- Causa muerte del paciente: cardiovascular vs. no cardiovascular
- Causas de muerte de origen cardiovascular:
 - isquemia miocárdica e infarto
 - hiperpotasemia / arritmia
 - insuficiencia cardíaca
 - accidente cerebrovascular (isquémico o hemorrágico)
 - hemorragia por ruptura aneurisma
 - infarto mesentérico
 - muerte súbita
 - otras causas
- Causas de muerte de origen no cardiovascular:
 - infecciones
 - neoplasia
 - accidente
 - renal, uremia
 - otras causas
 - no determinada
 - desconocida
 - otras

7.4. MÉTODOS ESTADÍSTICOS Y TAMAÑO MUESTRAL

7.4.1. TAMAÑO MUESTRAL

El tamaño muestral de los pacientes con ERC se ha calculado a partir de datos de incidencia de eventos cardiovasculares descritos en la población con ERC y en función del estadio de la enfermedad renal (17). El cálculo de la mínima muestra necesaria se basa en el número de casos a estudiar para poder obtener un número de eventos mínimo (que también se asume que se distribuyen equitativamente a lo largo del período de seguimiento) para ajustar los resultados del modelo multivariante por 15 variables.

Se ha calculado el tamaño muestral con errores de tipo I y II del 5% (bilateral) y del 10%, respectivamente. Asimismo, asumimos un porcentaje acumulado de pérdidas de seguimiento del 25% y que tanto los casos incidentes de eventos cardiovasculares como las pérdidas de seguimiento se distribuirán de forma proporcional a lo largo del seguimiento de los pacientes incluidos en el estudio.

Se espera incluir un total de 2661 pacientes con ERC distribuidos por número en función del estadio de la ERC:

- ERC Estadio 3: 1325
- ERC Estadios 4 y 5: 713
- En diálisis (hemodiálisis y diálisis peritoneal): 623

Asimismo, se incluirán 843 sujetos sin enfermedad renal (grupo control). El objetivo principal para el que se ha definido la n en el grupo control es el de detectar diferencias significativas en la presencia de placas entre los enfermos renales para cada estadio de la enfermedad renal y los sujetos sin enfermedad renal (a partir de datos preliminares proporcionados por la UDETMA (Unidad de Detección y Tratamiento de Enfermedades Aterotrombóticas), del Hospital Arnau de Vilanova, Lleida).

Para tener una estimación de la progresión del GIM a un año de los pacientes con ERC de cada estadio, se realizará la exploración de imagen a una submuestra aleatoria de 211 pacientes con ERC estadio III, 170 pacientes con ERC estadios IV/V sin diálisis y 141 pacientes con ERC y en diálisis.

Justificación de los cálculos del tamaño muestral:

El cálculo del tamaño muestral para cada estadio de ERC se basa en la determinación de un número mínimo de eventos cardiovasculares a obtener para poder estimar o ajustar simultáneamente el efecto de un mínimo de 15 variables en un modelo multivariante. Fijando un mínimo de 10 eventos por variable (20), y asumiendo que tanto los casos incidentes como el 25% de las pérdidas de seguimiento se distribuirán uniformemente en los 4 años de seguimiento, tendremos, según las densidades de incidencia (DI) de ECV estimadas para cada estadio:

Estadio	n_E	DI_E^1	personas-año $_E$
Diálisis (D)	623	0,0717	2091,11
IV+V sin D	713	0,0624	2406,50
III	1325	0,0330	4550,07

En que:

Personas-año $_E = 4 * n_E - 2 * n_E * Incidence - 2 * n_E * P(\text{Lost to follow-up})$

$DI_E^1 = Adjusted Hazard Ratio(CVE)_E \text{ vs. II} * Age-Standardized Rate(CVE)_{II}$

$Age-standardized Rate (CVE)_{II} = 0.0211 \text{ personas-año}$

Por lo tanto, n_E es tal que $n_E / \text{personas-año}_E = DI_E$

Las estimaciones de densidad de incidencia están basadas en los datos publicados por Go et al (17) sobre pacientes con ERC distribuidos en los estadios II, IIIa (con GFR=[45,59]), IIIb (con GFR=[30,44]), IV y V sin diálisis. Para obtener las estimaciones para los tres grupos en estudio, se han ponderado los valores publicados por el número de personas-año de seguimiento en el mismo estudio (el III se obtendría ponderando las estimaciones de IIIa y IIIb, y el IV/V sin diálisis se obtendría ponderando los dos valores estimados por separado en el estudio norteamericano. Para el grupo en diálisis se ha utilizado el valor publicado para el estadio V sin diálisis, bajo la hipótesis de que la razón de riesgos será igual o superior a éste.

Para obtener los 843 controles necesarios se definió una diferencia mínima a detectar entre la proporción de placa de la población con estadio de ERC II (25%) y la de la población sin ERC ni daño renal (17.5%), fijando el error de tipo I al 5% i una potencia del 80%. Al número obtenido se le aplicó la corrección de Bonferroni sobre el error tipo I para poder hacer las múltiples comparaciones de este grupo con cada uno de los grupos definidos según el estadio de ERC. El motivo por el que se utilizó el grupo ERC II es porque de todos los estadios de ERC, es el que hipotéticamente presentará una proporción de placa inferior, y por lo tanto, define la diferencia mínima a detectar entre los grupos de ERC i los controles (al calcularse el tamaño muestral para el grupo control, estaba previsto incluir el estadio II de ERC en el estudio).

El cálculo del subgrupo de enfermos con ERC a explorar con pruebas de imagen al año de su inclusión para tener una estimación de la progresión del GIM al año parte de fijar los mismos niveles de error (error bilateral de tipo I del 5% y del tipo II del 20%) y un 10% de posibles pérdidas de seguimiento. El cálculo considera también una desviación estándar común de 0.0887 mm y fija como el mínimo cambio en el GIM a detectar los valores 0.018 mm para ERC estadio III, 0.020 mm para ERC estadio IV/V sin diálisis y 0.022 mm para ERC en diálisis.

7.4.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se introducirán en una base de datos diseñada para tal efecto y serán analizados mediante el programa estadístico SPSS v.17.0 y el programa R 2.12.0.

Se realizará un corte transversal tras finalizar el periodo de inclusión de todos los participantes, para responder al objetivo secundario de establecer aspectos diferenciales de la patología vascular de la ERC con la población general. Inicialmente, se realizará un análisis estadístico descriptivo univariante y bivariante, indicándose un intervalo de confianza del 95% para los parámetros estimados. Se presentarán las frecuencias absolutas y los porcentajes con las variables cualitativas, y la media y la desviación típica o la mediana y el rango intercuartílico para las cuantitativas. En las comparaciones entre variables cualitativas se utilizará la prueba de la X^2 o bien la prueba exacta de Fisher (ésta última a utilizar en presencia de frecuencias esperadas inferiores a 5 que invaliden la primera prueba) y la t de Student para comparar dos medias procedentes de dos muestras independientes, el análisis de la varianza o ANOVA para comparar más de dos medias procedentes de muestras independientes. En el caso de no poder asumirse normalidad de la distribución de la variable cuantitativa, se aplicarán las pruebas no paramétricas U de Mann-Whitney para la comparación de las medianas de dos muestras independientes y Kruskal-Wallis para la comparación de más de dos medianas procedentes de muestras independientes. Si las pruebas ANOVA o Kruskal-Wallis resultan estadísticamente significativas, las comparaciones múltiples dos a dos posteriores se ajustarán utilizando el método de Bonferroni, es decir, dividiendo el riesgo alfa por el número de comparaciones dos a dos. La relación entre variables cuantitativas se analizará mediante el cálculo de los

coeficientes de correlación de Pearson o Spearman, en función de su distribución. Para analizar si los valores de GIM o ITB se asocian de igual manera o de forma diferencial a los factores de riesgo clásicos, se utilizarán modelos de regresión múltiple lineal en un primer análisis y posteriormente se ajustará un modelo de regresión mixto para tener en cuenta la variabilidad explicada por la pertenencia a un mismo centro asistencial de los pacientes. El mismo planteamiento se seguirá para la presencia o no de placa pero mediante un modelo de regresión logística al tratarse de una variable dicotómica.

El estudio de la media de cambio en el GIM a 12 meses se estimará, junto con su intervalo de confianza, separadamente para cada uno de los grupos de ERC en estudio. Se explorará también si existen características del paciente asociadas a un mayor cambio, en la medida que el tamaño de las submuestras lo permita.

En el estudio longitudinal a los 4 años de seguimiento, se analizará el tiempo hasta la incidencia de eventos cardiovasculares, mortalidad cardiovascular y mortalidad por cualquier causa, en función de los parámetros de imagen y biomarcadores analizados en el estudio mediante regresión de Cox. En un segundo análisis se tendrá en cuenta la variabilidad explicada por la pertenencia a un mismo centro de asistencia de determinados grupos de pacientes, mediante la aplicación de modelos de análisis de supervivencia con efectos aleatorios, o Frailty models.

Previamente a la construcción de la ecuación de riesgo de evento cardiovascular, se analizará el valor de las pruebas de imagen. Para ello, se comparará el resultado de las ecuaciones de riesgo REGICOR y SCORE (calculable a partir de toda la información recogida) con la presencia o no de enfermedad aterotrombótica definida a partir de las pruebas adicionales. Para compararlas se utilizarán correlaciones policóricas y de Spearman para variables ordinales. En el caso de que las pruebas adicionales tengan utilidad, las correlaciones obtenidas serán bajas, pero la mayor utilidad clínica de la imagen se obtendrá si se observan casos con riesgo bajo o moderado según las ecuaciones clásicas, con presencia de placa aterotrombótica según las pruebas adicionales realizadas en la unidad hospitalaria. También será útil en los casos en los que no se observe ninguna afectación de los vasos sanguíneos pero en los que los factores de riesgo clásicos indiquen riesgo alto o muy alto. Por lo tanto, se estudiarán detalladamente estos casos, además de calcular su proporción.

Para la construcción de la ecuación se aplicará un modelo de regresión de Cox al estudio longitudinal a 4 años para predecir el riesgo de incidencia de evento cardiovascular en personas con ERC estadios III-VD. El modelo se construirá partiendo de la variable con coeficiente/s más significativo/s y añadiendo la variable que muestre una contribución más significativa al modelo con esta primera variable. Se continuará la inclusión de variables en el modelo hasta que no haya ninguna otra con contribución significativa, siempre y cuando no se supere el número máximo de 15 variables para el que se calculó el tamaño muestral. En la ecuación de riesgo, se estudiará el papel del estadio renal como posible modificadora del efecto tanto de los factores clásicos como de las pruebas de imagen y biomarcadores. Para las variables explicativas cuantitativas, se explorará si su contribución en la ecuación es lineal o cuadrática, o por el contrario es mejor el uso de la variable agrupada en terciles

o cuartiles. Se analizará también el posible papel confusor de las variables sin contribución estadísticamente significativa en el modelo. Únicamente se mantendrán dentro del modelo las variables con contribución estadísticamente significativa o efecto confusor. Antes de dar el modelo por definitivo se realizará un análisis residual y, finalmente, se aplicará una validación cruzada.

Todos los contrastes serán bilaterales. La significación estadística se considerará como riesgo alfa del 5% ($P < 0,05$).

8. METODOLOGÍA DETERMINACIONES

Las muestras de sangre obtenidas de los pacientes de sangre se enviarán al biobanco de la Red de Investigación Renal (REDinRen) donde se procesarán mediante un procedimiento estándar y se almacenarán para su posterior distribución a los grupos que determinarán biomarcadores. De las muestras de sangre se extraerá plasma, suero, DNA y RNA de monocitos circulantes. Por lo tanto, es importante resaltar que aparte de estudiar los biomarcadores circulantes actuales, el almacenamiento de los sueros y plasmas permitirá el acceso a las muestras en un futuro para la determinación de nuevos biomarcadores que puedan surgir. Además, la obtención de RNA permitirá el poder aplicar técnicas de genómica en las células monocíticas circulantes para la obtención de patrones de expresión que puedan identificar nuevos biomarcadores potenciales. El estudio de los biomarcadores proteicos (MMPs, TIMP1, RANKL, OPG, TACE y FGF23) se realizará por medio de Elis as comerciales. Los niveles de los derivados de la Vitamina D se medirán por LC-MS. Los patrones de expresión de monocitos circulantes se medirán por técnicas de microarray.

El estudio de RNA se realizará en el 30% de los pacientes incluidos en el proyecto.

9. PRUEBAS DE IMAGEN

9.1. ECOGRAFÍA ARTERIAL

Emplearemos un ecógrafo Vivid i modelo BT09 (General Electric) con un transductor lineal tipo 8L-RS/13-6 MHz. Cada sonógrafo empleará los mismos procedimientos previamente estandarizados, y se realizarán las siguientes exploraciones:

1) Ecografía de arterias carótidas: se realizará una ecografía de carótidas para medir el GIM (aterosclerosis subclínica), identificar la presencia de placas de ateroma (aterosclerosis avanzada), e identificar y localizar la presencia de calcificaciones en la pared vascular.

Las exploraciones irán acompañadas de registro electrocardiográfico y se grabarán las imágenes estáticas en cada uno de los segmentos de interés en la onda R del electrocardiograma.

- Estudio transversal: visión transversal de la región a estudiar (arteria carótida común, bulbo y carótida interna) para identificar los tres segmentos y estudiar la presencia de placas de ateroma.
- Imágenes longitudinales: esta proyección permite medir el GIM de la pared en los tres segmentos: carótida común, bulbo y carótida

interna. Para medir el grosor se obtienen 6 imágenes de cada paciente. De acuerdo con la metodología consensuada, la evaluación de los diferentes segmentos se realiza: (1) carótida común en el último centímetro próximo al bulbo, (2) en la sección del bulbo, y (3) carótida interna en el primer centímetro distal a la bifurcación. Todos estos segmentos se miden mediante una imagen estática. En los mismos lugares anatómicos donde se realizan las mediciones del grosor, se analiza la presencia/ausencia de calcio y su localización (íntima, media o placa calcificada) en la pared arterial (definida por la existencia de hiperintensidad en la señal ecográfica). Este mismo corte, permite identificar la presencia de placas de ateroma en los tres territorios estudiados, y mediante eco-doppler evaluar y descartar estenosis.

2) Ecografía de arterias femorales: se realiza ecografía de femorales para identificar la presencia de placas de ateroma y calcificaciones en la pared vascular.

- Estudio transversal: con esta proyección se pretende identificar anatómicamente la arteria femoral común, femoral superficial y la presencia de placas de ateroma.
- Imágenes transversales: el objetivo de esta proyección es identificar las características de las placas de ateroma y definir la presencia/ausencia de calcificación en la pared arterial, y su localización anatómica. Las zona de interés son: (1) arteria femoral común, 1 cm proximal a la bifurcación, y (2) arteria femoral superficial; 1 cm distal a la bifurcación.

3) Ecografía de la arteria braquial: se realiza siempre que sea posible, en la extremidad sin el acceso vascular. Se realiza un corte longitudinal para identificar la presencia de placas de ateroma y la presencia y localización de calcio en la pared vascular.

9.1.1 LECTURA DE LAS IMÁGENES

El proceso de lectura será centralizado, y tres observadores independientes que desconocerán las características clínicas de los participantes realizarán las lecturas. Para ello se utilizará el EchoPAC de GE equipado con el software automático de medida de IMT QIMT®.

9.2. MEDICIÓN DEL INDICE TOBILLO-BRAZO (ITB)

Emplearemos un doppler vascular tipo MD2 Hungleigh con un transductor de 8MHz y un manguito para la toma manual de la presión arterial. La determinación de la presión arterial se realiza a nivel de la arteria braquial en ambos brazos y en ambos pies, habitualmente a nivel de la arteria tibial posterior y de la arteria pedia dorsal. Antes de iniciar la medición de la presión sistólica, el paciente debe de estar tumbado en decúbito supino durante al menos cinco minutos. Se debe buscar con el transductor del doppler la zona que produce el sonido más audible y, a continuación, aumentar la presión del manguito al menos 20 mmHg por encima de la presión arterial sistólica en el brazo. Para el cálculo del índice tobillo-brazo (ITB) se utilizará la presión

arterial sistólica braquial más elevada. De los cuatro valores de ITB, el de menor cuantía es el que define la existencia de enfermedad arterial periférica. El índice tobillo-brazo (ITB) es el cociente más bajo obtenido entre la presión arterial sistólica maleolar o tibial y la presión arterial sistólica más alta en el brazo.

9.3. VALORACIÓN DE LA CARGA DE ATEROSCLEROSIS

A partir de los valores obtenidos por la ecografía carotídea (GIM carotídeo y presencia o no de placas de ateroma) y el valor del ITB, estratificaremos la carga de enfermedad aterosclerótica en 4 estadios:

- Estadio EA0: Sujetos con ITB >0,9 y GIM carotídeo <90% según intervalo de referencia (IR)*
- Estadio EA1: ITB entre 0,7-0,9 y/o GIM carotídeo ≥90% según IR*
- Estadio EA2: Placa carotídea con estenosis <125cm/seg
- Estadio EA3: ITB <0,7 y/o placa carotídea con estenosis significativa (≥125 cm/seg).

*Intervalo de referencia (IR) según publicaciones previas (18,19) utilizando el mismo protocolo de adquisición de imágenes.

NOTA: En los pacientes en los que se detecte un ITB <0,7 y/o la presencia de una placa carotídea con estenosis significativa (≥125 cm/seg) (Estadio 3), se contactará de forma preferente (en un plazo de 48 horas) con el médico responsable del paciente recomendando se realice un estudio vascular completo para valorar la necesidad de intervención. Asimismo, estos pacientes sólo se incluirán en el estudio transversal y no en el estudio longitudinal, por tener un riesgo cardiovascular elevado equivalente a los pacientes en prevención secundaria. De forma importante, su detección se considerará un beneficio adicional del presente estudio.

9.3. MÉTODO CUANTIFICACIÓN DEL CALCIO (SCORE DE CALCIO)

Definimos arbitrariamente el score de calcio como presencia/ausencia de calcio en cada uno de los territorios estudiados (carotídeo, femoral y braquial), y en todas las regiones exploradas (carótida común, bulbo y carótida interna en ambos lados; femoral común y femoral superficial en ambas extremidades, y arteria braquial). De acuerdo con los resultados de las ecografías, establecemos un rango de 0 (ausencia de calcificaciones en todos los territorios estudiados) a 11 (presencia de calcio en todas las regiones estudiadas). Además diferenciamos la localización del calcio en cada territorio estudiado: calcificación de la íntima, calcificación de la media o ambas. Las placas hiperecogénicas que producen sombra de ecos, se consideran calcificación vascular (placa calcificada).

9.4. ECOCARDIOGRAMA

Emplearemos un ecógrafo Vivid i modelo BT09 (General Electric) con un transductor vectorial tipo 3S-RS. Se valorará la presencia de hipertrofia del

ventrículo izquierdo (HVI), el tipo de HVI (concéntrica, excéntrica o remodelado concéntrico). y se calculará la masa del ventrículo izquierdo. Asimismo, se determinará la fracción de eyección del ventrículo izquierdo y la medición del tamaño de la aurícula izquierda para valorar la función sistólica. Por otro lado, se determinará por Eco-doppler, la velocidad máxima de las ondas E y A, el cociente E/A y el tiempo de desaceleración mitral como parámetros indicativos de la función diastólica. Finalmente, se evaluará la presencia o no de calcificaciones valvulares.

9.4.1 LECTURA DE LAS IMÁGENES

El proceso de lectura será centralizado, y dos observadores independientes que desconocerán las características clínicas de los participantes realizarán las lecturas.

10. PLAN DE TRABAJO

10.1. ASPECTOS LOGÍSTICOS/ORGANIZACIÓN

Proponemos desplazar a las diferentes consultas y servicios de nefrología un equipo itinerante formado por una enfermera y un técnico experto en técnicas de ecografía arterial y ecocardiograma. Este equipo itinerante se encargará de la realización de las pruebas de imagen, de la medición del ITB, de la toma de muestras biológicas y de la recogida de algunos datos clínicos del estudio.

El equipo itinerante también será el encargado de centrifugar, separar en alícuotas y congelar las muestras de plasma y suero que se han de mandar al biobanco. También asegurará que el resto de las muestras de sangre (y orina??) estén refrigeradas a 4º para un correcto transporte hasta ser procesadas. Para realizar esta tarea, será imprescindible conocer si los servicios de nefrología disponen de una centrífuga para poder ser empleada por el equipo. En el caso que no dispongan, el equipo la llevará consigo. También se agradecerá se facilite una nevera para la conservación de las muestras antes de ser procesadas y enviadas al biobanco.

Se estima una permanencia en cada consulta de nefrología de una semana. Con antelación al desplazamiento del equipo itinerante, el nefrólogo responsable de cada centro deberá preparar la logística adecuada para que cada equipo itinerante pueda realizar su trabajo. En concreto, tener un espacio físico adecuado para la recogida datos antropométricos (báscula y tallímetro), extracción de muestras (silla) y realización de pruebas de imagen (camilla).

Las imágenes vasculares quedarán almacenadas en el banco de imágenes del Servicio de Nefrología del hospital Arnau de Vilanova, Lleida, donde se instalará una estación de lectura de todas las imágenes ecográficas realizadas (responsable:Dra. Àngels Betriu). Asimismo, se instalará una estación de lectura de todas las imágenes de ecocardiograma (hospital a determinar).

10.2. TAREAS DE LOS MÉDICOS PARTICIPANTES

Las tareas de los médicos participantes consistirán en:

1. Tener registrado cada paciente: datos de filiación y teléfonos de contacto.
2. Informar adecuadamente al paciente y firma de los consentimientos informados (participación en el estudio y cesión de muestras biológicas).
- 3.- Preparar la agenda de trabajo de los equipos itinerantes.
4. Recoger todas las variables clínicas (datos demográficos, específicos de la enfermedad renal y comorbilidad), el tratamiento médico y los parámetros bioquímicos mencionados en el apartado 7.3 (procedentes de analítica reciente, preferiblemente en los últimos 3 meses, y en condiciones de ayuno) especificadas.
- 5.- Responder al seguimiento telefónico semestral sobre modificaciones de tratamiento, eventos cardiovasculares y pérdidas de seguimiento.
- 6.- Entrar todos los datos en la página web de acuerdo con su código de usuario y password.

10.3 TAREAS DEL COMITÉ DE EVALUACIÓN DE EVENTOS CARDIOVASCULARES.

El comité de eventos cardiovasculares será el encargado de definir si una muerte es de causa cardiovascular o no, en aquellos casos que el diagnóstico de la causa de muerte no sea suficientemente claro, a partir de los datos facilitados por el médico responsable del paciente y de la consulta de la historia clínica.

10.4. CRONOGRAMA:

De -6 meses a 0 meses:

Formación del equipo técnico
Preparación informática para la recogida telemática de datos
Preparación de los referentes de cada área

Inicio del estudio:

Octubre/noviembre de 2009

De 0 a 12 meses:

Difusión y selección de Centros colaboradores
Programación y logística de visitas a los Centros
Trabajo equipos itinerantes
Trabajo equipo base:
Depuración y cuidado base de datos
Logística muestras y cuidado del biobanco
Análisis de imagen
Contacto continuado con Centros participantes: Recogida de datos de eventos y cambios de tratamiento con contacto telefónico cada 6 meses.
Organización teleconferencias

De 12 a 24 meses:

Equipos itinerantes: imagen subgrupo de 12 meses y a todos los pacientes incluidos a los 24 meses

Determinación de biomarcadores (a los 24 meses)

Recogida de datos clínicos (a los 24 meses)

18 meses:

Análisis de datos conjuntos

Análisis de datos con cada una de las áreas

Reunión presencial investigadores con resultados preliminares del primer año.

Trabajo equipo base:

Depuración y cuidado base de datos

Logística muestras y cuidado del biobanco

Análisis de imágenes

Contacto continuado con centros participantes: Recogida de datos de eventos y cambios de tratamiento cada 6 meses via telefónica.

Organización teleconferencias

48 meses:

Equipos itinerantes: imagen a todos los pacientes incluidos y que no han presentado eventos cardiovasculares ni se han perdido en el seguimiento

Determinación de biomarcadores pacientes ERC

Recogida de datos clínicos pacientes con ERC

Estudio de imagen y recogida de muestras para biomarcadores, y de datos clínicos, de los pacientes del grupo control (sin insuficiencia renal)

De 48 meses a 60 meses:

Análisis de resultados

Preparación de manuscritos

Presentaciones a congresos

Difusión de resultados

Durante todo el estudio, aquellos pacientes que hayan presentado eventos cardiovasculares serán seguidos telefónicamente para estudio de mortalidad cardiovascular. No se les realizarán nuevos estudios de imagen ni recogida de muestras para biomarcadores.

11. BENEFICIOS ESPERADOS DEL PROYECTO

Se espera cambiar el paradigma de prevención de la ECV en pacientes con ERC mediante la práctica de la ecografía arterial y ecocardiograma, junto con la determinación del ITB y biomarcadores emergentes. Estos valores serán de gran utilidad, tanto para su comparación entre los diferentes estadios de la ERC, como para su posterior comparación con los valores obtenidos en una cohorte de sujetos sin ERC (grupo control).

Para lograr los objetivos propuestos, este proyecto requiere de un elevado poder estadístico y una rigurosidad metodológica. Para ello, nos planteamos la participación mayoritaria de los Servicios de Nefrología de toda España, así como una homogeneidad en los procedimientos de toma y valoración de imágenes (utilizando equipos itinerantes y estaciones de lectura), y de metodología de determinación de biomarcadores (utilizando laboratorios

centralizados). Asimismo, constituiremos un biobanco de muestras biológicas, genéticas y de imagen de todo el territorio español, que permitirán realizar nuevos análisis incluyendo los biomarcadores que puedan identificarse en el futuro.

12. ASPECTOS ÉTICOS

12.1. COMITÉS ÉTICOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA (CEICs)

Se solicitará la evaluación ética del CEIC del Hospital Universitario Arnau de Vilanova (HUAV) de Lleida para el presente proyecto. Al tratarse de un estudio observacional, los diferentes centros pueden valorar emplear el CEIC del HUAV de Lleida.

12.2. INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO

Se informará al paciente de los diferentes aspectos importantes del estudio y se solicitará su consentimiento para la participación en el mismo, antes de su inclusión.

Para ello, el investigador dispondrá de una hoja estándar de información para entregar al paciente previamente a su inclusión, en la que se informará de los objetivos del estudio, sus beneficios esperados y riesgos, y el carácter voluntario de su participación (Anexos 1 y 2 para pacientes con enfermedad renal crónica y el grupo control, respectivamente). Los pacientes serán informados también de que pueden rechazar participar en el estudio y de que serán libres de abandonarlo en cualquier momento, sin que la negativa a participar en él o el abandono repercuta en su asistencia sanitaria.

Asimismo, el investigador dispondrá de dos hojas de consentimiento informado, en referencia a su participación en el presente estudio (Anexo 3) y la recogida de muestras biológicas (Anexo 4).

12.2. CONFIDENCIALIDAD DE PACIENTES

Los datos personales de los pacientes registrados en este estudio quedarán absolutamente confidenciales. Estos datos no serán registrados en ninguna forma (nombres, iniciales, códigos vinculados) y por lo tanto, la identidad del paciente será mantenida anónimamente por la duración del estudio.

Para la entrada de datos a la web, aleatorización de pacientes,... se empleará el código del biobanco.

12.3. CONFIDENCIALIDAD DE DATOS

Todos los datos serán mantenidos en la más absoluta confidencialidad de acuerdo con la vigente Ley de Protección de Datos de Carácter Personal (L.O.P.D 15/9/1999 de 13 de diciembre de 1999).

Según esta Ley, se garantizará y protegerá el tratamiento de los datos personales de todos los pacientes incluidos en el estudio, respetándose sus

derechos fundamentales de honor, intimidad, y especialmente su privacidad personal y familiar. Para ello, los datos personales (datos de filiación, número de historia clínica, etc.) de los participantes incluidos en el presente estudio no serán registrados de ninguna forma. A cada participante se le asignará un código numérico de registro que no contendrá información personal alguna. Por lo tanto, los datos personales de todos los participantes serán mantenidos anónimamente durante todo el estudio.

12.4. USO DE INFORMACIÓN

El investigador está de acuerdo con mantener en confidencialidad toda la información recogida para realizar este estudio durante el periodo de la realización del mismo y una vez terminado. El investigador también tiene la responsabilidad de asegurar que todos los que colaboran en este estudio cumplen con este acuerdo.

13. BIBLIOGRAFÍA

1. Hage F, Venkataraman R, Zoghbi G, Perry G, DeMattos A, Iskandrian A. The scope of coronary heart disease in patients with chronic kidney disease. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:2129-40.
2. Kannel WB, McGee D, Gordon T. A general cardiovascular risk profile: the Framingham Study. *Am J Cardiol* 1976;38:46-51.
2. O'Leary DH, Polak JF. Intima-media thickness: a tool for atherosclerosis imaging and event prediction. *Am J Cardiol* 2002;90:18-21.
3. Brindle P, Emberson J, Lampe F, Walker M, Whincup P, Fahey T, Ebrahim S. Predictive accuracy of the Framingham coronary risk score in British men: prospective cohort study. *BMJ* 2003;327:1267-1273.
4. Akosah KO, Schaper A, Cogbill C, Schoenfeld P. Preventing myocardial infarction in the young adult in the first place: how do the National Cholesterol Education Panel III Guidelines perform? *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1475-1479.
5. D'Agostino RB, Grundy S, Sullivan LM, Wilson P. Validation of the Framingham coronary heart disease prediction scores: results of a multiple ethnic groups investigation. *JAMA* 2001;286:180-187.
6. Verschuren WM, Jacobs DR, Bloemberg BP, Kromhout D, Menotti A, Aravanis C, et al. Serum total cholesterol and long-term coronary heart disease mortality in different cultures. Twenty-five-year follow-up of the seven countries study. *JAMA* 1995;274:131-136.
7. Haq IU, Ramsay LE, Yeo WW, Jackson PR, Wallis EJ. Is the Framingham risk function valid for northern European populations? A comparison of methods for estimating absolute coronary risk in high risk men. *Heart* 1999;81:40-46.
8. Chmielewski M, Carrero JJ, Nordfors L, Lindholm B, Stenvinkel P. Lipid disorders in chronic kidney disease: reverse epidemiology and therapeutic approach. *J Nephrol* 2008;21:635-44.
9. Smith SC Jr, Greenland P, Grundy SM. AHA Conference Proceedings. Prevention Conference V. Beyond secondary prevention: identifying the high-risk patients for primary prevention: executive summary. *Circulation* 2000;101:111-116.
10. Greenland P, Smith SC Jr, Grundy SM. Improving coronary heart disease risk assessment in asymptomatic people. The role of traditional risk factors and non-invasive cardiovascular tests. *Circulation* 2001;104:1863-1867.
11. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness. *Circulation* 2007;115:459-67.
12. Krasniak A, Drozd M, Pasowicz M, Chmiel G, Michalek M, Szumilak D, et al. Factors involved in vascular calcification and atherosclerosis in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:515-21.
13. Zhang L, Zhao F, Yang Y, Qi L, Zhang B, Wang F, et al. Association between carotid artery intima-media thickness and early-stage CKD in a Chinese population. *Am J Kidney Dis* 2007;49:786-92.
14. Bhuriya R, Li S, Chen SC, McCullough PA, Bakris GL. Plasma parathyroid hormone level and prevalent cardiovascular disease in CKD stages 3 and 4: an analysis from the Kidney Early Evaluation Program (KEEP). *Am J Kidney Dis*. 2009;53:S3-10.

15. Larsson T, Nisbeth U, Ljunggren O, Jüppner H, Jonsson KB. Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. *Kidney Int.* 2003;64:2272-9.
16. Panizo S, Cardus A, Encinas M, Parisi E, Valcheva P, López-Ongil S, et al. RANKL increases vascular smooth muscle cell calcification through a RANK-BMP4-dependent pathway. *Circ Res.* 2009;104(9):1041-8.
17. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004;352:1296-305.
18. Howard G, Burke GL, Evans GW, Crouse JR 3rd, Riley W, Arnett D, de Lacy R, Heiss G. Relations of intimal-medial thickness among sites within the carotid artery as evaluated by B-mode ultrasound. ARIC Investigators. *Atherosclerosis Risk in Communities. Stroke* 1994;25:1581-7.
19. Junyent M, Gilabert R, Núñez I, Corbella E, Vela M, Zambón D, Ros E. Carotid ultrasound in the assessment of preclinical atherosclerosis. Distribution of intima-media thickness values and plaque frequency in a Spanish community cohort. *Med Clin (Barc).* 2005;125(20):770-4.
20. Peduzzi P, Concato J, Feinstein AR, Holford TR. Importance of events per independent variable in proportional hazards regression analysis II. Accuracy and precision of regression estimates. *J Clin Epidemiol* 1995; 48(12): 1503-10

HOJA DE INFORMACIÓN A LOS PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

Estudio observacional, prospectivo y multicéntrico para establecer un modelo de valoración de la enfermedad aterosclerótica y su valor predictivo de eventos aterotrombóticos en pacientes con enfermedad renal crónica en España.

Como paciente diagnosticado con Enfermedad Renal Crónica se le invita a participar en este estudio. El estudio consiste en una simple recogida de datos clínicos y analíticos, una punción rutinaria y la realización de una ecografía arterial que no va a alterar el tratamiento de su médico ni las pruebas que le realizan habitualmente como paciente con enfermedad renal crónica.

Los pacientes con enfermedad renal crónica presentan unas elevadas tasas de morbilidad y mortalidad por enfermedad cardiovascular por lo que el objetivo principal de este estudio es estudiar la pared de sus arterias mediante ecografía y recoger una muestra de sangre para el estudio de nuevos marcadores con la finalidad de que nos ayuden a predecir qué sujetos tienen más o menor riesgo a padecer un evento cardiovascular. Para ello se pretende estudiar un total de 2.661 pacientes con enfermedad renal crónica para valorar la pared de las arterias y evaluar su repercusión en la predicción de eventos cardiovasculares.

La información del estudio mejorará el conocimiento de los médicos en el manejo y tratamiento de los pacientes con enfermedad renal crónica.

Su participación es totalmente voluntaria. Es usted libre de rechazar colaborar en este estudio sin que por ello se vea afectada su actual o futura atención médica. Si usted accede a colaborar en este estudio, únicamente deberá permitir que un equipo técnico experto recopile los datos de su historia clínica sobre el diagnóstico y tratamiento de su enfermedad renal crónica y se le realice una exploración ecográfica de sus arterias y del corazón.

Los pacientes que participan en este estudio no son sometidos a ninguna consideración experimental. Por ello, su participación en el mismo no presenta ningún riesgo adicional.

Todos sus datos se manejarán de forma estrictamente confidenciales y exclusivamente su médico conocerá su identidad. Ningún dato personal que permita su identificación será accesible a ninguna otra persona que no sea su médico o las que habitualmente acceden en la práctica habitual de este centro. Sus datos de identidad no podrán ser revelados por ningún motivo, conservando en todo momento la confidencialidad médico-paciente.

HOJA DE INFORMACIÓN A LOS PARTICIPANTES SIN ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

Estudio observacional, prospectivo y multicéntrico para establecer un modelo de valoración de la enfermedad aterosclerótica y su valor predictivo de eventos aterotrombóticos en pacientes con enfermedad renal crónica en España.

Como sujeto sin enfermedad renal crónica se le invita a participar en este estudio. El estudio consiste en una simple recogida de datos clínicos y analíticos, una punción rutinaria y la realización de una ecografía arterial que no va a alterar el curso clínico con su médico de Atención Primaria.

El objetivo principal de este estudio es estudiar la pared de sus arterias mediante ecografía y recoger una muestra de sangre para el estudio de nuevos marcadores con la finalidad de que nos ayuden a predecir qué sujetos tienen más o menor riesgo a padecer una enfermedad cardiovascular. Para ello, pretendemos comparar el estado de las arterias de pacientes con enfermedad renal crónica con un grupo control sin enfermedad renal, motivo por el que solicitamos su colaboración en dicho proyecto. Para ello se pretende estudiar 843 sujetos sin enfermedad renal crónica para evaluar el estado de sus arterias.

Su participación en dicho estudio le permitirá conocer el estado actual de sus arterias.

Su participación es totalmente voluntaria. Es usted libre de rechazar colaborar en este estudio sin que por ello se vea afectada su actual o futura atención médica. Si usted accede a colaborar en este estudio, únicamente deberá permitir que un equipo técnico experto recopile los datos de su historia clínica y se le realice una exploración ecográfica de sus arterias.

Los participantes en este estudio no son sometidos a ninguna consideración experimental. Por ello, su participación en el mismo no presenta ningún riesgo adicional.

Todos sus datos se manejarán de forma estrictamente confidenciales y exclusivamente su médico conocerá su identidad. Ningún dato personal que permita su identificación será accesible a ninguna otra persona que no sea su médico o las que habitualmente acceden en la práctica habitual de este centro. Sus datos de identidad no podrán ser revelados por ningún motivo, conservando en todo momento la confidencialidad médico-paciente.

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estudio observacional, prospectivo y multicéntrico para establecer un modelo de valoración de la enfermedad aterosclerótica y su valor predictivo de eventos aterotrombóticos en pacientes con enfermedad renal crónica en España.

Yo,.....
(nombre y apellidos)

Declaro que:

- He leído la hoja de información que se me ha entregado
- He recibido suficiente información del estudio.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He hablado con.....
(nombre del investigador)

- Comprendo que mi participación es voluntaria.
- Comprendo que puedo retirarme del estudio:
 - cuando quiera
 - sin tener que dar explicaciones
 - sin que repercuta en mis cuidados médicos

Doy mi conformidad para participar en el estudio

.....
Fecha

.....
Firma del participante

.....
Fecha

.....
Firma del investigador

.....
Fecha

.....
Firma del testigo*

*Firma del testigo en caso que el paciente no pudiera firmar el consentimiento informado por su enfermedad.

**HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA RECOGIDA DE
MUESTRAS BIOLÓGICAS DESTINADAS A LA INVESTIGACIÓN**

Estudio observacional, prospectivo y multicéntrico para establecer un modelo de valoración de la enfermedad aterosclerótica y su valor predictivo de eventos aterotrombóticos en pacientes con enfermedad renal crónica en España.

Yo,.....
(nombre y apellidos)

Consiento que el Biobanco de la REDinRen u otros centros de investigación, públicos o privados, utilicen mis datos y las muestras, incluyendo la información sobre mi salud, para investigaciones biomédicas, manteniendo siempre la confidencialidad de mis datos en los términos legales que marca la Ley 15/1999 de Protección de Datos de carácter Personal y la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica.

Libre y voluntariamente en la donación voluntaria de una muestra adicional de sangre.

Una vez finalizado el estudio, estas células pueden ser destruidas o cedidas a la institución y ser almacenadas para poder ser utilizadas en posteriores investigaciones. En el caso que decidan ceder el material biológico obtenido para poder realizar otro tipo de investigación, sus datos serán codificados a fin de mantener la confidencialidad en su utilización, tal y como prevé la legislación vigente.

Doy mi conformidad a que el personal del presente estudio me contacte en el futuro en caso de que se estime oportuno añadir nuevos datos a los recogidos y/o tomar nuevas muestras.

.....
Fecha

.....
Firma del participante

.....
Fecha

.....
Firma del investigador

.....
Fecha

.....
Firma del testigo*

*Firma del testigo en caso que el paciente no pudiera firmar el consentimiento informado por su enfermedad.
