

**RESPOSTA INFLAMATÓRIA À SOBRECARGA DE VOLUME
EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇA RENAL
CRÔNICA: ANÁLISE DA HIPÓTESE DA ENDOTOXEMIA**

SIMONE CRISTINA MIKOSZ GONÇALVES



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde

CURITIBA

2005

SIMONE CRISTINA MIKOSZ GONÇALVES

**RESPOSTA INFLAMATÓRIA À SOBRECARGA DE
VOLUME EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇA
RENAL CRÔNICA: ANÁLISE DA HIPÓTESE DA
ENDOTOXEMIA**

Dissertação apresentada para apreciação e parecer da comissão examinadora, como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Ciências da Saúde, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUC-PR.

Orientador: Miguel Carlos Riella

Co-orientador: Roberto Pecoits-Filho

CURITIBA

2005

Para Ju com amor

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, obrigada pelo carinho e apoio.

Ao meu marido, Ju, obrigada por estar sempre ao meu lado, o seu apoio e incentivos foram essenciais para muitas realizações.

Ao meu irmão Marcelo, o que seria de mim sem suas dicas de informática.

Aos pacientes, pela colaboração e confiança.

Às enfermeiras da Diálise Peritoneal, Sirlene e Roseana, amigas sempre dispostas e dedicadas.

Ao Dr. Miguel Carlos Riella, pelo apoio e incentivo à pesquisa.

Ao Dr. Roberto Pecoits-Filho, meu co-orientador, grande pesquisador sempre dedicado e disposto a ajudar.

Aos médicos do ambulatório de nefrologia da Fundação Pró-Renal de Curitiba, obrigada pelo encaminhamento dos pacientes.

À Fundação Pró-Renal, por tornar esse estudo possível.

Aos Dr. Silvio H. Barberato, Dra. Sônia Perreto e Dra. Marta Nascimento, sempre dedicados nas realizações dos exames.

À Andréa Stinghen, valioso auxílio nas dosagens laboratoriais.

Aos amigos e parentes, valeu a torcida.

SÚMARIO

| | |
|--|-----|
| LISTA DE ABREVIATURAS..... | vii |
| RESUMO | ix |
| <i>ABSTRACT</i> | x |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2. OBJETIVOS..... | 8 |
| 2.1 Objetivo geral:..... | 8 |
| 2.2 Objetivos específicos:..... | 8 |
| 3. Artigo I: <i>Impact of residual renal function on volume status in chronic renal failure.</i> | 9 |
| 4. Artigo II: <i>Associations between renal function, volume status and endotoxaemia in chronic kidney disease patients.</i> | 10 |
| 5. DISCUSSÃO..... | 11 |
| 6. CONCLUSÕES..... | 17 |
| 7. REFERÊNCIAS | 18 |
| 8. ANEXOS..... | 23 |
| 8.1 Aprovação da comissão de ética e pesquisa..... | 24 |
| 8.2 Cópia do resumo apresentado como pôster no XIII Congresso Latino-Americano de Nefrologia e Hipertensão; Punta Del Este - Uruguai, 2004 | 25 |
| 8.3 Cópia do resumo apresentado como pôster no XVI Congresso ERA-EDTA; Lisboa-Portugal, 2004 | 26 |
| 8.4 Cópia do resumo apresentado como apresentação oral no XXII Congresso Brasileiro de Nefrologia; Salvador- Bahia, 2004..... | 27 |
| 8.5 Cópia do capítulo do livro <i>Atualidades em Nefrologia 8: Aterosclerose em insuficiência renal crônica: evidências de uma doença inflamatória</i> , 2004..... | 28 |
| 8.6 Cópia da carta publicada na revista <i>Nephrology Dialysis and Transplantation</i> , 2007..... | 29 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------|---|
| BNP | - Peptídeo natriuretico cerebral (<i>brain natriuretic peptide</i>) |
| CKD | - Doença renal crônica (<i>chronic kidney disease</i>) |
| CRP | - Proteína C-reativa (<i>C-reactive protein</i>) |
| CV | - Cardiovascular |
| CVD | - Doença cardiovascular (<i>cardiovascular disease</i>) |
| DCV | - Doença cardiovascular |
| DRC | - Doença renal crônica |
| DP | - Diálise peritoneal |
| DRCT | - Doença renal crônica terminal |
| DVCI | - Diâmetro da veia cava inferior |
| ECF | - Líquido extracelular (<i>extracellular fluid</i>) |
| GFR | - Taxa de filtração glomerular (<i>glomerular filtration rate</i>) |
| TFG | - Taxa de filtração glomerular |
| HAS | - Hipertensão arterial sistêmica |
| HD | - Hemodiálise (<i>hemodialysis</i>) |
| HVE | - Hipertrofia de ventrículo esquerdo |
| CI | - Índice de colapsamento (<i>collapsing index</i>) |
| IC | - Índice de colapsamento |
| CHF | - Insuficiência cardíaca congestiva (<i>congestive heart failure</i>) |
| ICC | - Insuficiência cardíaca congestiva |
| IL-1 | - Interleucina -1 |
| IL-6 | - Interleucina -6 |

| | |
|----------------|--|
| IVCD | - Diâmetro da veia cava inferior (<i>inferior vena cava diameter</i>) |
| DVCI | - Diâmetro da veia cava inferior |
| LAL | - <i>Limulus Amebocyte Lysate</i> |
| LPS | - Lipopolissacarídeo (<i>lipopolysaccharides</i>) |
| LPB | - Proteína ligadora de LPS (<i>LPS-binding protein</i>) |
| LVH | - Hipertrofia do ventrículo esquerdo (<i>left ventricular hypertrophy</i>) |
| PA | - Pressão arterial |
| PCR | - Proteína C-reativa |
| PFA | - Proteína de fase aguda |
| NF- κ B | - Fator de transcrição nuclear - κ B |
| RFA | - Resposta de fase aguda |
| RRF | - Função renal residual (<i>residual renal function</i>) |
| Tlr | - <i>Toll-like receptors</i> |
| TNF- α | - Fator de necrose tumoral- α (<i>Tumor necrosis factor- α</i>) |
| TWB | - Água corporal total (<i>total body water</i>) |

RESUMO

Introdução: A inflamação sistêmica é um importante preditor do aumento da morbidade e mortalidade cardiovascular (CV) em pacientes com doença renal crônica (DRC), porém o mecanismo pelo qual ocorre a ativação do sistema imune não é totalmente conhecido. Os pacientes com DRC desenvolvem sinais e sintomas de sobrecarga de volume, a qual tem sido proposta como estímulo para ativação inflamatória através da translocação de macromoléculas e bactérias da luz intestinal para a circulação sanguínea. Levantamos a hipótese que a sobrecarga de volume está associada com sinais de inflamação sistêmica e endotoxemia nos diferentes estágios da IRC. **Objetivo:** Avaliar a associação entre função renal, sobrecarga de volume, inflamação sistêmica e endotoxemia em pacientes com DRC. **Materiais e métodos:** A função renal avaliada através da taxa de filtração glomerular (TFG), baseada na média entre os *clearances* de uréia e creatinina. Para avaliar a inflamação sistêmica foram realizadas dosagens dos níveis plasmáticos da proteína C reativa de alta sensibilidade (PCR), fibrinogênio e albumina. A sobrecarga de volume avaliada pelo diâmetro da veia cava inferior (DVCI) e o índice de colapso (IC). Endotoxinas foram dosadas pelo teste enzimático LAL. **Resultados:** A população estudada foi de 74 pacientes com idade mediana de 57 anos (entre 23 e 83 anos), 47% do sexo masculino, com TFG de 34ml/min (6-107ml/min). Houve uma correlação significativa entre TFG e fibrinogênio (Rho = - 0.48; p < 0.0001) e TFG e albumina (Rho = + 0.25; p = 0.05). De acordo com o DVCI, 84% dos pacientes apresentavam sobrecarga de volume, enquanto que 83% foram considerados com sobrecarga de volume quando avaliados através do IC. O IC foi significativamente mais baixo em pacientes com GFR abaixo da mediana. Sinais de endotoxemia foram detectados em todos os pacientes. Os níveis de endotoxinas foram mais altos nos pacientes com sinais de sobrecarga de volume (0.85 ± 0.11 ng/ml) quando comparado com os pacientes com valores normais do DVCI (0.61 ± 0.05 ng/ml; p < 0.05). Os níveis de endotoxinas correlacionaram-se com DVCI (Rho = 0.33; p < 0.005) e IC (Rho = - 0.25; p < 0.05). Não houve correlação entre os níveis das endotoxinas com PCR ou fibrinogênio. **Conclusões:** Em resumo, embora a maior parte dos pacientes analisados apresentou sinais de sobrecarga de volume, a qual mostrou associação com endotoxemia, não houve associação entre endotoxemia e inflamação sistêmica, sugerindo que a endotoxemia pode não ser o principal determinante do estado inflamatório neste grupo de pacientes.

ABSTRACT

Introduction: Inflammation is an important predictor of increased cardiovascular (CV) morbidity and mortality in patients with chronic kidney disease (CKD), but the mechanisms behind the chronic activation of the immune system are not clearly understood. CKD patients develop fluid overload, which has been proposed to be a stimulus for inflammatory activation due to the translocation of macromolecules from the gut. We hypothesize that fluid overload is associated with signs of systemic inflammation and endotoxemia in different stages CKD patients. **Objective:** The aim of this study was to evaluate the associations between renal function, fluid status, systemic inflammation and endotoxemia in a group of CKD patients. **Patients and Methods:** Renal function was evaluated through the estimation of glomerular filtration rate (GFR) according to the mean between of creatinine and urea clearances. To evaluate systemic inflammation plasma levels of C-reactive protein (CRP), fibrinogen and albumin were analyzed. Volume overload was evaluated by the inferior vena cava diameter (IVCD) and the collapsation index (CI). Endotoxemia was evaluated through the LAL enzymatic assay. **Results:** The population consisted of 74 CKD patients, with a median of 57 years-old (range 23 to 83 years-old), 47% males, with a median GFR of 34mL/min (6-107mL/min). Both albumin ($Rho = + 0.25$; $p = 0.05$) and fibrinogen ($Rho = - 0.48$; $p < 0.0001$) were significantly correlated to GFR. According to the IVCD, 84% of patients were fluid overloaded, while 83% were considered overloaded by the CI. Signs of endotoxemia were detected in all patients. Endotoxins levels were higher in patients with signs of fluid overload (0.85 ± 0.11 ng/mL) when compared with patients with normal values of IVCD (0.61 ± 0.05 ng/mL; $p < 0.0001$). Endotoxins levels correlated to both IVCD ($Rho = 0.33$, $p < 0.005$) and CI ($Rho = - 0.25$, $p < 0.05$). There was no correlation between endotoxin levels and GFR, CRP or fibrinogen. **Conclusions:** In summary, although most CKD patients presented signs of fluid overload, which was associated with endotoxemia, there was no association between endotoxemia and systemic inflammation, suggesting the endotoxemia may not be the main determinant of the inflammatory status in this group of patients.

1. INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) consiste em lesão renal e perda progressiva e irreversível da função dos rins. Segundo as diretrizes da Sociedade Brasileira de Nefrologia (1), a DRC pode ser classificada em estágios, de acordo com a medida da taxa de filtração glomerular (TFG), como descrito na tabela abaixo:

| Estágio | Descrição | TFG (mL/min/1,73m²) |
|----------------|--|---------------------------------------|
| 1 | Lesão renal com função renal normal | ≥ 90 |
| 2 | Insuficiência renal leve ou funcional | 60-89 |
| 3 | Insuficiência renal moderada ou laboratorial | 30-59 |
| 4 | Insuficiência renal grave ou clínica | 15-29 |
| 5 | Insuficiência renal terminal ou dialítica | < 15 ou em diálise |

A doença renal crônica (DRC) constitui importante problema de saúde pública em todo o Mundo. Segundo estimativas recentes, no Brasil existem cerca de 10 milhões de brasileiros com DRC em todos os estágios, sendo que cerca de 60 mil pacientes em estágio final, recebendo terapia substitutiva de função renal. Apesar dos marcantes avanços realizados no tratamento dialítico e no entendimento da fisiopatologia da DRC, os índices de mortalidade, especialmente de origem cardiovascular, permanecem inaceitavelmente altos. A taxa de mortalidade anual de pacientes com DRC em diálise representa 10 a 20 vezes as taxas para a população geral, mesmo quando ajustadas para idade, sexo, raça e presença de Diabetes Mellitus (2). Durante os últimos anos vem se tornando evidente que a função renal é importante e independente preditor da baixa sobrevida dos pacientes com DRC; relatado no artigo I. Vários estudos confirmam esse achado em pacientes em hemodiálise (3) ou diálise peritoneal (4). Em contraste, o risco de doença cardiovascular (DCV) em pacientes com disfunção renal leve é pouco descrito. Embora a associação entre DRC e risco cardiovascular foi descrita inicialmente nos pacientes com doença renal crônica terminal (DRCT) o seu impacto no desenvolvimento da DCV provavelmente começa nas fases iniciais da DRC. Em estudo que acompanhou mais de 6000 indivíduos por 16

anos concluiu-se que a DRC com disfunção renal leve a moderada foi independentemente associada com o aumento do risco CV e com mortalidade total (5). Os pacientes com TFG < 70ml/min, quando comparados com pacientes com TFG > 90ml/min, exibiram risco maior de morte por DCV. Este estudo também concluiu que a proteinúria é fator de risco CV relacionado com o rim. Atualmente, a disfunção renal leve (estágio 2 e 3) é estabelecida como risco independente para o desenvolvimento de DCV relatada em vários estudos (6). Nesta fase a detecção precoce da lesão renal e condutas terapêuticas apropriadas podem reduzir riscos, complicações e custos relacionados com a DRC.

A prevalência de fatores de risco cardiovascular tradicionais descritos no estudo de Framingham, como hipertensão arterial, dislipidemia, Diabetes Mellitus e tabagismo são comuns em DRC. Porém, estes fatores sozinhos não conseguem explicar a alta taxa de mortalidade cardiovascular observada nesta população. De acordo com recentes evidências, fatores de risco não tradicionais estão também associados com mortalidade cardiovascular aumentada tanto em pacientes com função renal normal (7), quanto em pacientes portadores de DRC (8). Dentre estes fatores de risco, a inflamação vem ganhando destaque nos últimos anos parecendo desempenhar o papel principal no desenvolvimento da DCV aterosclerótica tanto na população geral quanto em renais crônicos (9). Sinais de atividade inflamatória podem ser observados nas fases iniciais da DRC e níveis elevados dos mediadores inflamatórios estão associados com baixa sobrevida destes pacientes (10).

A inflamação é uma resposta normal de defesa do organismo frente a uma agressão. A resposta de fase aguda (RFA) é o principal fenômeno fisiopatológico que acompanha a inflamação, visto que está associada com ampla variedade de desordens como: infecção, neoplasias, infarto e trauma (11,12). Nesta resposta, os mecanismos de homeostase são substituídos por processos de defesa e adaptação. Este fenômeno foi descrito inicialmente durante a RFA da pneumonia pneumocócica na qual foi descoberta a proteína C-reativa (PCR), proteína que se ligou ao polisacarídeo-C da parede celular do pneumococo, originando a sua denominação (13). As proteínas de RFA são definidas como proteínas que aumentam as suas concentrações plasmáticas ou as que diminuem durante o processo inflamatório em pelo menos 25%. As PFA que aumentam as suas concentrações séricas são: PCR, amilóide sérico A, fibrinogênio, alfa-1 anti-tripsina, hepatoglobulina, ferritina e ceruloplasmina e as que diminuem

são albumina, transferrina, transtiretina e fetuína (14). Inicialmente a resposta inflamatória é mediada pelas citocinas, interleucina-6 (IL-6), interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interferon gama e o fator de crescimento-beta. Estas citocinas são produzidas por leucócitos, células mononucleares e células de Kuppfer no fígado, levando a alteração dos níveis séricos das proteínas de fase aguda (15).

A PCR é a principal proteína de fase aguda estudada em diversas situações patológicas (16). A PCR é uma proteína da família das pentraxinas composta por cinco subunidades monovalentes, cada uma com peso molecular de 23-KDa. Representa o protótipo da RFA produzida pelo fígado sobre o controle de várias citocinas pró-inflamatórias, IL-6, IL-1 e TNF- α (17). A PCR tem várias vantagens em relação a outros marcadores de fase aguda. É marcador sensível da inflamação sistêmica, dano tecidual e infecção, frente a esses estímulos o seu nível sérico aumenta rapidamente, com 6 horas, valores de até 1000 vezes o normal. Tem meia vida plasmática de 19 horas, idêntica em todas as condições, assim a taxa da síntese hepática é a única determinante da sua concentração plasmática (18). É altamente estável durante armazenamento prolongado, não tem variação com o ciclo circadiano e não é afetada por ingestão alimentar (17). Mesmo elevações pequenas dos níveis da PCR vêm se mostrando de relevância e importância em vários estudos. Para monitorar pequenas elevações métodos de alta sensibilidade são necessários.

Outra proteína de RFA bastante descrita é o fibrinogênio plasmático, molécula que possui peso molecular elevado (340.000). Sua molécula é constituída por duas subunidades idênticas. É produzido no fígado durante a RFA através do estímulo principal da IL-6. Os seus níveis elevam-se em 2 a 20 vezes com pico ocorrendo em três a cinco dias, retornando aos níveis normais gradativamente com a resolução do processo inflamatório (19). O fibrinogênio está envolvido na gênese da hemostasia sendo um dos fatores plasmáticos da coagulação sanguínea, sob ação proteolítica da trombina transforma-se em monômeros de fibrina, os quais dão origem ao retículo de coágulo. O fibrinogênio está relacionado com o desenvolvimento da aterosclerose e da trombose, através de diferentes mecanismos (20): infiltra a parede arterial onde se liga ao LDL-colesterol e outros fatores formadores do trombo, é precursor do trombo mural. Seus produtos de degradação estimulam a proliferação de células musculares e levam ao acúmulo de colesterol pelos macrófagos. Devido ao seu alto peso molecular é o principal determinante da viscosidade plasmática, a qual é fator independente de risco para DCV, cuja incidência aumenta com o

aumento dos níveis de fibrinogênio (21). Elevados níveis de fibrinogênio aumentam a formação de fibrina e aumentam a quantidade desta no trombo, levam também a alteração da estrutura da fibrina no trombo e da sua estabilidade. O fibrinogênio plasmático é preditor independente de eventos cardiovasculares agudos ou recorrentes (22). O risco de eventos cardíacos é maior nos pacientes com elevadas concentrações de fibrinogênio plasmático independente do nível sérico do colesterol (23). Na DRC a mesma relação é observada entre fibrinogênio e DCV, níveis elevados de fibrinogênio estão associados com DCV independente da função renal ou de fatores de risco (24).

A desnutrição protéica está presente em grande parte dos pacientes com DRC. Por muitos anos a hipoalbuminemia tem sido usada como marcador de desnutrição e é considerada preditor independente da mortalidade em pacientes em diálise (25). A albumina corresponde a aproximadamente 50% da massa protéica plasmática. É sintetizada exclusivamente pelo fígado, a uma razão de 12 a 15 gramas por dia e catabolizada pelo endotélio vascular em aproximadamente 16 dias. Sua concentração plasmática pode diminuir em consequência a expansão de volume plasmático, diminuição da taxa de síntese ou como resultado do catabolismo aumentado (26). Em condição de inflamação, observa-se supressão da síntese da albumina e correlação negativa entre a síntese da albumina e as PFA (27). Os mecanismos da hipoalbuminemia nessa população não estão totalmente esclarecidos (28), ela pode ter relação com o consumo protéico baixo, assim como pode ser consequência de outras alterações sistêmicas, como doença crônica ou resposta inflamatória. A forte associação entre desnutrição, inflamação e aterosclerose nos pacientes com DRC sugere a ocorrência da síndrome MIA (*Malnutrition, Inflammation and Atherosclerosis*) que está associada com altas taxas de mortalidade (29).

Uma vez que a inflamação, avaliada através dos níveis plasmáticos da proteína C-reativa (PCR) ou de citocinas como a IL-6 representa fator de risco duas vezes mais importante que os níveis de colesterol (30), a monitoração da atividade inflamatória se torna importante, particularmente em DRC, ainda mais quando se verifica que pacientes portadores de DRC, tanto na fase pré-dialítica como após iniciarem tratamento com hemodiálise ou diálise peritoneal, evidenciam níveis extremamente elevados de marcadores de atividade inflamatória quando comparados a controles saudáveis (31). Recentemente, foi descrito que 30 a 50% de pacientes em fase pré-dialítica, hemodiálise (32, 33) e diálise peritoneal (34) apresentam evidência sorológica

de atividade inflamatória. Em relato baseado na população brasileira, foi descrito a presença de inflamação sistêmica em 59% de pacientes em hemodiálise (35). A informação disponível na literatura sobre possíveis mecanismos relacionados à ativação desta resposta inflamatória ainda é limitada, especialmente em relação aos fatores de risco potencialmente modificáveis. Apesar disso, parece haver consenso de que a resposta inflamatória crônica possui causas multifatoriais.

Até pouco tempo o nível da PCR era somente reflexo do grau da resposta inflamatória em andamento e informava sobre uma agressão imunológica nos tecidos. Atualmente há vários indícios que a PCR, assim como outros marcadores da inflamação, não são simples marcadores inflamatórios, mas sim, participantes direto da resposta imunológica contribuindo para aterosclerose (36). O nível sérico da PCR tem papel direto na indução da expressão das moléculas de adesão nas células endoteliais humanas (37). A PCR induz a secreção de IL-6 e endotelina-1 e diminui a expressão e biodisponibilidade da síntese do óxido nítrico endotelial nas células endoteliais humanas (38, 39). A PCR ativa os macrófagos induzindo a expressão de citocinas e fatores teciduais e se liga ao LDL-colesterol na parede arterial (40). A PCR aumenta o efeito pró-inflamatório de outros marcadores inflamatórios (41).

A análise ecográfica do diâmetro da veia cava inferior (DVCI) é método não invasivo, amplamente disponível, de fácil realização técnica que correlaciona-se com a pressão atrial direita (PAD) e volume de sangue circulante nos pacientes em diálise (42). Com o paciente em decúbito dorsal, após repouso de 5 a 10 minutos são obtidas medidas sub-diafragmáticas do DVCI na expiração normal e na inspiração normal. Os valores do DVCI são ajustados para a superfície corpórea. O índice de colapsamento (IC) é calculado pela fórmula: $\text{DVCI expiratório} - \text{DVCI inspiratório} / \text{DVCI expiratório} \times 100\%$. Os pacientes com DVCI expiratório $> 11,5\text{mm/m}^2$ e ou IC $< 40\%$ são considerados com sobrecarga de volume, enquanto os pacientes com DVCI expiratório $< 8\text{mm/m}^2$ e ou IC $> 75\%$ são considerados depletados (43). Importante limitação deste método é a insuficiência cardíaca, a presença de insuficiência tricúspide requer critérios próprios para análise do DVCI (44).

Pacientes portadores de doença renal crônica desenvolvem alteração na capacidade de excretar solutos e água na progressão desta doença, resultando em retenção de sódio e água e conseqüentemente demonstrando sinais de sobrecarga de volume; revisado no artigo I (45). Esta

condição é bastante comum particularmente em fases avançadas da DRC (46). Foi relatada uma importante associação entre a função renal e a hipertrofia de ventrículo esquerdo, sugerindo que a perda da função renal está diretamente relacionada à sobrecarga volêmica (47). Adicionalmente, identificou-se associação entre níveis plasmáticos da IL-6 com a massa do ventrículo esquerdo de pacientes com DRC (48), indicando relação entre sobrecarga de volume e a expressão desta citocina que por sua vez é preditora de mortalidade precoce neste mesmo grupo de pacientes (49). Foi observado em uma grande proporção de pacientes em diálise peritoneal (DP) sinais de sobrecarga de volume significativamente relacionados com a pressão arterial diastólica e HVE quando comparados com pacientes transplantados renais estáveis (50). A remoção de sódio e água é preditor de mortalidade nos pacientes em DP, assim a ultrafiltração adequada é importante no manejo do paciente em DP para a prevenção da DCV (51). Neste estudo também foi demonstrado que comorbidades, HAS, creatinina sérica, função renal residual são fatores independentes que afetam a sobrevida.

Relatos provenientes da literatura cardiológica levantaram possibilidade ainda não explorada para explicar a ativação inflamatória crônica observada em pacientes portadores de DRC. Primeiramente, Niebauer e cols. (52) demonstraram que pacientes portadores de insuficiência cardíaca congestiva (ICC), uma doença caracterizada por retenção de sódio e água apesar de funcionamento renal normal, apresentam sinais de ativação do sistema imune exagerada quando ocorre descompensação do quadro clínico, caracterizada por edema generalizado. Após o tratamento com diuréticos e compensação do quadro clínico, foi observada significativa redução da concentração plasmática de vários mediadores inflamatórios (52), ocorrendo em paralelo com a redução nos níveis de endotoxinas circulante. Desta forma, pode-se considerar a hipótese de que as citocinas que são geradas em resposta aos fatores dependente da sobrecarga de volume circulante, como alteração da perfusão tecidual e alteração da permeabilidade intestinal, podem representar importantes mecanismos causais de ativação da resposta inflamatória. Detalhadamente, macromoléculas conhecidas como endotoxinas, que são lipopolissacarídeos (LPS) das bactérias Gram negativas seriam translocadas da luz intestinal para a circulação, onde poderiam desencadear duas vias fisiopatológicas: ou se ligariam às lipoproteínas ou às proteínas ligadoras de LPS (LBP). Destas duas vias, somente a do complexo LPS/LBP desencadearia ativação de receptores de membrana em células do sistema imunológico, cardiomiócitos e células

endoteliais, conhecidos como *toll-like receptors* (Tlr), particularmente o Tlr-4. Esta ativação de receptores de membrana mediada pelos receptores solúveis CD-14 têm como consequência a ativação do fator de transcrição nuclear κ B (NF- κ B), que representa o principal fator desencadeador da ativação e transcrição de genes da resposta imune inata. Por sua vez, citocinas pró-inflamatórias, moléculas de adesão, quimiocinas desencadeariam respostas celulares que incluem transição para o padrão de resposta imune linfocitária predominantemente Th1, a ativação da resposta de fase aguda no fígado, aumento da adesividade celular ao endotélio e a proliferação das células musculares lisas no tecido vascular. Estas vias fisiopatológicas resultariam no aparecimento de doenças importantes como a aterosclerose, a miocardiopatia, maior susceptibilidade a infecções e o hipercatabolismo muscular. Esta hipótese, proposta no artigo II, conhecida como a hipótese da endotoxemia-lipoproteína (53) justificaria em parte os achados de péssimos resultados clínicos em pacientes com doença renal crônica associada a desnutrição e sinais de inflamação sistêmica (8).

Portanto, foi avaliada a hipótese de que a sobrecarga de volume estaria associada com sinais de inflamação sistêmica e endotoxemia, o que seria agravado na progressão da DRC (a medida em que a disfunção renal compromete a capacidade renal de excreção de sal e água). Se a hipótese da endotoxemia se mostrar relevante neste estudo, justificaria de forma integrada ao menos em parte os achados da alarmante mortalidade observada em pacientes com doença renal crônica, particularmente quando associada à inflamação sistêmica e sobrecarga de volume. Desta forma, este estudo poderia abrir oportunidades para intervenções, como a restrição de sódio da dieta e uso de diuréticos para o controle da volemia, que poderiam resultar em significativa redução da atividade inflamatória sistêmica.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

- Avaliar as associações entre a função renal, sinais de sobrecarga de volume, ativação inflamatória e níveis circulantes de endotoxinas em pacientes portadores de doença renal crônica em fase pré-dialítica.

2.2 Objetivos específicos:

- Determinar a taxa de filtração glomerular (estimativa da função renal) em pacientes com DRC;
- Caracterizar o estado volêmico dos pacientes através da mensuração do diâmetro da veia cava inferior e calculo do índice de colapsamento;
- Avaliar o processo inflamatório através das dosagens plasmáticas da PCR, do fibrinogênio e da albumina;
- Mensurar os níveis de endotoxinas circulantes e analisar a correlação entre a sobrecarga volêmica e o grau de endotoxemia;
- Analisar as correlações entre estado volêmico, função renal, os níveis dos marcadores resposta inflamatória sistêmica e os níveis circulantes das endotoxinas.

3. ARTIGO I: IMPACT OF RESIDUAL RENAL FUNCTION ON VOLUME STATUS IN CHRONIC RENAL FAILURE.

Artigo Publicado no *Blood Purification*, 2004.

4. ARTIGO II: *ASSOCIATIONS BETWEEN RENAL FUNCTION, VOLUME STATUS AND ENDOTOXAEMIA IN CHRONIC KIDNEY DISEASE PATIENTS.*

Artigo Publicado no *Nephrology Dialysis and Transplantation*, 2006.

5. DISCUSSÃO

A mortalidade CV é extremamente elevada nos pacientes com DRC. Apesar da alta prevalência dos fatores de risco CV tradicionais (dislipidemia, diabetes mellitus, hipertensão, tabagismo e hipertrofia de VE), esses fatores sozinhos não conseguem explicar a alta mortalidade e morbidade encontrada na DRC (54-56). Através de mecanismos não totalmente conhecidos fatores de risco não tradicionais (função renal, inflamação, sobrecarga de volume e endotoxinas) parecem estar envolvidos com o desenvolvimento da DCV, justificando a elevada mortalidade encontrada nos pacientes com DRC. Os principais achados neste estudo foram alta prevalência de inflamação nos pacientes na fase pré-dialítica, aumento significativo da atividade inflamatória representada pelo fibrinogênio plasmático e pela albumina plasmática ocorrendo em paralelo com a diminuição da TFG e a ausência de relação entre PCR e TFG. A sobrecarga de volume foi observada em 84% dos pacientes quando avaliada pelo DVCI ($DVCI > 11.5 \text{ mm/m}^2$), enquanto 83% eram considerados com sobrecarga de volume através do IC ($IC < 40\%$). Sinais de endotoxemia foram detectados em todos os pacientes, os níveis de endotoxinas mostraram-se mais altos no pacientes com sobrecarga de volume e não houve relação entre os níveis de endotoxinas e os marcadores inflamatórios.

Devido a forte associação já estabelecida entre os mediadores inflamatórios e mortalidade na população com DRC (9,49,57) é de extrema importância elucidarmos os mecanismos envolvidos neste processo que levariam a uma resposta inflamatória elevada e sustentada. A causa da inflamação crônica na DRC é multifatorial, pode ser uma consequência do tratamento dialítico (bioincompatibilidade do capilar e qualidade da água), pode estar relacionada com fatores outros independentes da diálise (redução da função renal por si só, infecção crônica, sobrecarga de volume e comorbidades) ou ambos (58). Na fase pré-dialítica há uma alta prevalência de níveis elevados de marcadores inflamatórios (59), os quais variam com o tempo independente da diálise (60). Estes achados sugerem que fatores não relacionados com a diálise como fatores associados à função renal podem ser responsáveis em grande parte pela inflamação sistêmica observada nos pacientes em diálise.

Estudo recente mostrou que alterações na PCR durante a HD são independentes do grau de contaminação do dialisato e das características do material e do fluxo do capilar utilizado,

sugerindo que outros fatores como comorbidades, função renal residual e intercorrências clínicas, podem ser os maiores causadores da inflamação nos pacientes com DRCT (61). Níveis aumentados de fibrinogênio plasmático estão presentes em pacientes hipertensos com função renal modestamente diminuída (62). Da mesma forma, Shlipak et al. demonstraram em um estudo com 5888 pacientes idosos que a insuficiência renal está independentemente associada com elevações dos mediadores inflamatórios ou pró-coagulantes (fibrinogênio) (24). Na DRC são observados aumentos das concentrações das citocinas plasmáticas pró-inflamatórias, tanto nas fases iniciais como nas fases avançadas da DRC. Com a redução da TFG ocorre uma diminuição do clearance das citocinas pró-inflamatórias que levaria a um aumento nos seus níveis plasmáticos, assim o estado inflamatório provocado pela uremia parece estar relacionado com a diminuição da remoção (pela queda da TFG) e não com o aumento na produção das citocinas (48).

Há poucos estudos analisando os marcadores de fase aguda da inflamação nas fases iniciais da DRC. A maioria dos estudos comprovam a relação importante entre função renal nos diferentes estágios da insuficiência renal com vários marcadores inflamatórios, como PCR, IL-6, fibrinogênio e TNF- α principalmente nas fases tardias da DRC. Já foram estudados os níveis circulantes de IL-1, IL-1 Ra, TNF- α e seus receptores solúveis (TNF-sR55 e TNF-sR75), marcadores de atividade das células T(CD25) e células B (CD23) e monócitos (neopterina) em pacientes com DRC antes de iniciar a diálise em vários estágios da DRC, em hemodiálise e em diálise peritoneal. Nestes estudos, observou-se aumento gradual do CD25 e CD23 e neopterina com a progressão da uremia. Os níveis de IL-1 Ra eram significativamente aumentados desde as fases iniciais da insuficiência renal os níveis plasmáticos de TNF- α , TNF-sR55 e TNF-sR75 aumentaram com a severidade da DRC (63). Outro estudo analisou vários marcadores inflamatórios em 176 pacientes na fase pré-dialítica divididos em dois grupos de acordo a mediana da TFG foi observado uma relação significativamente negativa entre TFG e os marcadores inflamatórios (IL-6 e ácido hialurônico) (64). Em 103 pacientes na fase pré-diálise foram dosados os níveis de PCR, IL-6 e albumina sérica e houve uma correlação significativa ente PCR e IL-6 com a função renal (65). Em outro estudo com 102 paciente na pré-diálise também foi demonstrado que o aumento da PCR e IL-6 ocorre em paralelo com a diminuição da função renal (66). Porém, a análise de marcadores de estresse oxidativo e inflamação em 60

pacientes com DRC nos estágios de 3-5 mostrou aumento da prevalência do estresse oxidativo e inflamação nestes pacientes, sem correlação com a TFG. No mesmo estudo IL-6 e PCR tiveram correlação positiva com a presença de DCV e correlação negativa como uso de inibidores da angiotensina e estatinas (67). Neste estudo, artigo I, encontramos um significativo aumento linear do fibrinogênio plasmático quando comparamos pacientes nos diferentes estágios da DRC. Não houve relação significativa entre TFG e PCR. Os achados no presente estudo mostram a presença da inflamação nas fases iniciais da DRC, isto justificaria em parte o risco elevado para desenvolvimento de DCV encontrado nesta população.

A perda da função renal residual parece ser o principal fator que leva a sinais de sobrecarga de volume principalmente na fase mais avançada da DRC (TFG < 15ml/min) (46). A incidência de hipertrofia de ventrículo esquerdo (HVE) e disfunção sistólica (DS) na DRC é alta, ambas levam a insuficiência cardíaca congestiva (ICC) que está relacionada com a baixa sobrevida desta população (68). A grande maioria dos pacientes com DRCT (estágio 5) quando iniciam a diálise são hipertensos, nestes a hipertensão é preditor independente de mortalidade (69). O mecanismo da sobrecarga de volume nos pacientes com DRC esta relacionado com a sobrecarga de sódio e retenção de água, a medida que a TFG diminui há uma redução na excreção de sal e água levando ao aumento da pressão arterial (PA) e a HVE principalmente nas fases mais avançadas da DRC (estágio 5). A resposta da pressão arterial a sobrecarga de volume e sódio parece ser influenciada por distúrbio na resposta e atividade dos mecanismos neuro-humorais como o aumento da atividade do sistema renina-angiotensina e do sistema nervoso simpático, alteração dos inibidores da Na-K-ATPase e do sistema do óxido nítrico (70). A sobrecarga de sódio nos pacientes com HAS essencial leva a um aumento do estresse oxidativo (71). A remoção do excesso de sódio e água melhora o controle da PA nos pacientes com DRC (72). Estudos mostram evidências que o sódio pode ser independente do volume, observou-se uma melhora no controle da PA dos pacientes em diálise após restrição dietética de sódio e diminuição da concentração do sódio do dialisado (73). Em outro estudo a normalização da PA foi obtida com diálise prolongada não havendo diferença no volume extracelular (74). Os mecanismos envolvidos no efeito do sódio independente do volume na regulação da PA não são totalmente conhecidos. Neste estudo, artigo I, analisamos a sobrecarga de volume através da medida do DVCI em pacientes com DRC nos diferentes estágios da doença (estágios de 2 à 5), 59% destes

pacientes com TFG entre 10 a 75ml/min foram considerados com sobrecarga de volume (DVCI >11,5mm/m²). Quando somente os estágios 4 e 5 foram analisados a prevalência da sobrecarga de volume aumentou para 71%. O aumento linear do DVCI ocorreu em paralelo com a diminuição do volume urinário quando analisamos os estágios da DRC de 2 à 5. Estes achados sugerem que com a diminuição da função renal há uma redução na remoção de sal e água levando a sinais de sobrecarga de volume e posterior desenvolvimento de ICC nos pacientes com DRC, justificando a elevada taxa de mortalidade por DCV vista nesta população.

A mucosa do trato digestivo além das funções secretória e absorptivas constitui barreira de defesa que isola o lume intestinal e sua microflora dos linfáticos mesentéricos e das vênulas tributárias. Quando essa barreira é quebrada ocorre a translocação de bactérias e de endotoxinas; definida como a passagem de germes viáveis do trato gastrointestinal para tecidos estéreis (75). Vários fatores favorecem a translocação bacteriana: doenças primárias da mucosa intestinal (Doença de Crohn, Colite Ulcerativa), obstrução intestinal, isquemia intestinal, alterações da microflora intestinal, agressões diretas da mucosa (radioterapia, quimioterapia) e alterações a mucosa por alterações sistêmicas (hipovolemia, vasoconstrição, sepse, alterações térmicas) (76-79).

A endotoxina foi descoberta no final do século XIX, substância liberada da lise bacteriana, resistente ao calor que se mostrava capaz de produzir efeitos biológicos importantes como febre e choque circulatório (80). Há vários anos, a endotoxina é um produto biológico natural que fascina os pesquisadores (81). As endotoxinas são lipopolissacarídeos (LPS) de alto peso molecular (200.000 a 1.000.000), termo-estáveis (à 100°C) que são os maiores componentes da membrana externa da parede celular de bactérias Gram-negativas. O termo endotoxina e LPS são usados como sinônimos, porém nem todas as bactérias compostas por LPS são endotoxinas e nem todas as endotoxinas são LPS (82). A endotoxina é composta por três subunidades: uma cadeia polissacarídea superficial, dita antígeno "O", responsável pela viabilidade antigênica das bactérias Gram-negativas, uma ponte também polisacarídea de localização intermediária e finalmente o fosfolípido A, inserido na membrana externa e responsável pela sensibilização do hospedeiro (83). Em presença de obstrução biliar extra-hepática ocorre aumento dos níveis das endotoxinas circulantes através da translocação de bactérias intestinais. Algumas substâncias como o ácido *ursodeoxycholic* protegem contra a endotoxemia aumentando o transporte do LPS

através dos hepatócitos da circulação sanguínea para a bile sem afetar as células de Kupffer, esta exceção biliar é dependente dos ácidos biliares (84). Existem vários métodos para detecção das endotoxinas, dentre estes destaca-se o LAL (*Limulus Amebocyte Lysate*) cromogênico, descrito no artigo II. Este é um método sensível e específico que detecta e mensura os níveis de endotoxinas através da reação com a porção da endotoxina formada pelo fosfolípido A nos fluidos biológicos, incluindo o plasma. Este método é baseado em dois estágios: ativação do LAL e adição de substrato cromogênico. Esta reação enzimática causa coloração amarela e a absorvência de onda é medida utilizando espectrofotômetro (85).

O desenvolvimento da ICC está relacionado com vários mecanismos inflamatórios como autoimunidade, infecção, endotoxinas, sobrecarga de volume, isquemia, oxidação do LDL-colesterol; estes estão relacionados com elevados níveis de citocinas (86). Pacientes com ICC, função renal normal e com sobrecarga de volume, apresentam elevados níveis de endotoxina e citocinas durante os períodos de exacerbação da doença caracterizado por edema generalizado (52). Até o presente momento nenhum estudo foi realizado para avaliar a relação entre sobrecarga de volume, endotoxemia e inflamação nos pacientes com DRC. A endotoxina induz vários efeitos biológicos no hospedeiro como febre, leucocitose, hipoferremia, agregação plaquetária, trombocitopenia e coagulopatias. (87, 88). Esses efeitos ocorrem através da ativação de várias vias endógenas ou mecanismos de cascata. A interação da endotoxina com o macrófago parece ser o principal fator da resposta inflamatória. Na circulação o LPS ligado aos receptores de membrana (proteína ligadora de LPS) ativa os receptores de membranas (TLr) das células do sistema imune, cardiomiócitos e células endoteliais. Essa resposta é mediada pelo CD14 e leva a ativação do fator nuclear- κ B, que desempenha o principal papel na ativação e transcrição genética da resposta imune inata. Neste estudo, artigo II, levantamos a hipótese de que as endotoxinas circulantes seriam geradas em consequência da redução da perfusão tecidual, alteração da permeabilidade intestinal e congestão levando a um aumento da produção das citocinas pró-inflamatórias a medida que a insuficiência renal progride. Os achados deste não confirmaram essa hipótese, não foi observada relação entre os níveis de endotoxinas circulantes e os marcadores da inflamação. Por outro lado, observamos correlação significativa entre sobrecarga de volume e a presença das endotoxinas na circulação. Este achado levanta a possibilidade da endotoxemia estar relacionada com permeabilidade intestinal alterada observada

nos pacientes com DRC. A falta de associação entre endotoxemia e inflamação sistêmica pode estar relacionada com o fato dos níveis de PCR, fibrinogênio e albumina na DRC dependerem de causas multifatoriais.

6. CONCLUSÕES

- A mediana da taxa de filtração glomerular foi de 34ml/min (6-107ml/min) e a maioria dos pacientes estavam no estágio 3 e estágio 4 da DRC;
- A grande maioria dos pacientes avaliados neste estudo apresentou sinais de inflamação sistêmica e sobrecarga de volume, os quais foram mais evidentes nas fases mais avançadas da DRC;
- Na avaliação do estado inflamatório fibrinogênio e albumina foram significativamente correlacionados com a TFG, enquanto não houve correlação significativa com a PCR;
- Endotoxinas circulantes foram detectadas em todas as amostras, havendo uma correlação significativa com a sobrecarga de volume avaliada pelo diâmetro da veia cava inferior e pelo índice de colapsamento. Pacientes com sinais de sobrecarga de volume apresentaram níveis maiores de endotoxinas circulantes quando comparado com os pacientes com estado volêmico normal;
- Os pacientes com a TFG abaixo da mediana apresentaram IC significativamente maiores quando comparados com os pacientes com a TFG acima da mediana. Não houve relação entre endotoxemia e a concentração de marcadores inflamatórios;
- Não foi identificada correlação significativa entre os parâmetros da sobrecarga de volume e os marcadores inflamatórios;
- A endotoxemia não foi o principal determinante do estado inflamatório neste grupo de pacientes; este achado reforça a idéia que a inflamação presente no paciente com DRC seja de causa multifatorial.

7. REFERÊNCIAS

1. Romão-Júnior, E. J. Diretrizes Brasileiras de Doença Renal Crônica. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*. 2004 Agosto;XXVI(3):1-3.
2. Foley, N. R, Parfrey, S. P, Sarnak, J. M. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis*. 1998;32(5 Suppl 3):S112-9.
3. Shemin, D., Bostom, G. A, Laliberty, P., et al. Residual renal function and mortality risk in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 2001 Jul;38(1):85-90.
4. Merkus, P. M, Jager, J. K, Dekker, W. F, et al. Predictors of poor outcome in chronic dialysis patients: The Netherlands Cooperative Study on the Adequacy of Dialysis. The NECOSAD Study Group. *Am J Kidney Dis*. 2000 Jan;35(1):69-79.
5. Muntner, P., He, J., Hamm, L., et al. Renal insufficiency and subsequent death resulting from cardiovascular disease in the United States. *J Am Soc Nephrol*. 2002 Mar;13(3):745-53.
6. Pinkau, T., Hilgers, F. K, Veelken, R., et al. How does minor renal dysfunction influence cardiovascular risk and the management of cardiovascular disease? *J Am Soc Nephrol*. 2004 Mar;15(3):517-23.
7. Ross, R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340(2):115-26.
8. Pecoits-Filho, R., Lindholm, B., Stenvinkel, P. The malnutrition, inflammation, and atherosclerosis (MIA) syndrome - the heart of the matter. *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17 Suppl 11:28-31.
9. Zimmermann, J., Herrlinger, S., Pruy, A., et al. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 1999;55:648-58.
10. Stenvinkel, P. Interactions between inflammation, oxidative stress, and endothelial dysfunction in end-stage renal disease. *J Ren Nutr*. 2003 Apr;13(2):144-8.
11. Kushner, I. The phenomenon of the acute phase response. *Ann N Y Acad Sci*. 1982;389:39-48.
12. Gabay, C., Kushner, I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med*. 1999 Feb 11;340(6):448-54.
13. Tillet, WS, Francis, TJ. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J Exp Med*. 1930;52:561.
14. Morley, J. J, Kushner, I. Serum C-reactive protein levels in disease. *Ann N Y Acad Sci*. 1982;389:406-18.
15. Gauldie, J., Richards, C., Harnish, D., et al. Interferon beta 2/B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987 Oct;84(20):7251-5.
16. Lagrand, W.K., Visser, C.A., Hermens, W.T., et al. C-reactive protein as a cardiovascular risk factor. More than an epiphenomenon. *Circulation*. 1999;100:96-102.
17. Ridker, M. P. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003 Jan 28;107(3):363-9.
18. Vigushin, M. D, Pepys, B. M, Hawkins, N. P. Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. *J Clin Invest*. 1993 Apr;91(4):1351-7.
19. Green, F., Humphries, S. Control of plasma fibrinogen levels. *Baillieres Clin Haematol*. 1989 Oct;2(4):945-59.

20. Thompson, D. W, Smith, B. E. Atherosclerosis and the coagulation system. *J Pathol.* 1989 Oct;159(2):97-106.
21. Sweetnam, M. P, Thomas, F. H, Yarnell, W. J, et al. Fibrinogen, viscosity and the 10-year incidence of ischaemic heart disease. *Eur Heart J.* 1996 Dec;17(12):1814-20.
22. Stec, J. J, Silbershatz, H., Tofler, H. G, et al. Association of fibrinogen with cardiovascular risk factors and cardiovascular disease in the Framingham Offspring Population. *Circulation.* 2000 Oct 3;102(14):1634-8.
23. Thompson, G. S, Kienast, J., Pyke, D. S, et al. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med.* 1995 Mar 9;332(10):635-41.
24. Shlipak, G. M, Fried, F. L, Crump, C., et al. Elevations of inflammatory and procoagulant biomarkers in elderly persons with renal insufficiency. *Circulation.* 2003 Jan 7;107(1):87-92.
25. Lowrie, E.G., Lew, N.L. Death risk in hemodialysis patients: The predictive value of commonly measured variables and an evaluation of death rate differences between facilities. *Am J Kidney Dis.* 1990;15:458-82.
26. Kaysen, G.A., Rathore, V., Shearer, G.C., et al. Mechanisms of hypoalbuminemia in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1995;48:510-6.
27. Moshage, H.J., Janssen, J.A.M., Franssen, J.H., et al. Study of the molecular mechanisms of decreased liver synthesis of albumin in inflammation. *J Clin Invest.* 1987;79:1635-41.
28. Owen, F. W, Jr., Lew, L. N, Liu, et al. The urea reduction ratio and serum albumin concentration as predictors of mortality in patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med.* 1993;329(14):1001-6.
29. Stenvinkel, P., Heimbürger, O., Lindholm, B., et al. Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15(7):953-60.
30. Ridker, M. P, Rifai, N., Rose, L., et al. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2002 Nov 14;347(20):1557-65.
31. Pecoits-Filho, R., Lindholm, B., Stenvinkel, P. End-stage renal disease: a state of chronic inflammation and hyperleptinemia. *Eur J Clin Invest.* 2003 Jun;33(6):527-8.
32. Qureshi, R. A, Alvestrand, A., Danielsson, A., et al. Factors predicting malnutrition in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *Kidney Int.* 1998;53(3):773-82.
33. Owen, W.F., Lowrie, E.G. C-reactive protein as an outcome predictor for maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1998;54:627-36.
34. Yeun, J.Y., Kaysen, G.A. Acute phase proteins and peritoneal dialysate albumin loss are the main determinants of serum albumin and peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 1997;30:923-7.
35. Nascimento, M. M, Pecoits-Filho, R., Qureshi, R. A, et al. The prognostic impact of fluctuating levels of C-reactive protein in Brazilian haemodialysis patients: a prospective study. *Nephrol Dial Transplant.* 2004 Nov;19(11):2803-9.
36. Stenvinkel, P., Alvestrand, A. Inflammation in end-stage renal disease: sources, consequences, and therapy. *Semin Dial.* 2002 Sep-Oct;15(5):329-37.
37. Pasceri, V., Willerson, J.T., Yeh, E.T. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation.* 2000;102:2165-8.

38. Verma, S., Li, H. S, Badiwala, V. M, et al. Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein. *Circulation*. 2002 Apr 23;105(16):1890-6.
39. Venugopal, K. S, Devaraj, S., Yuhanna, I., et al. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation*. 2002 Sep 17;106(12):1439-41.
40. Zwaka, P. T, Hombach, V., Torzewski, J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation*. 2001 Mar 6;103(9):1194-7.
41. Nakagomi, A., Freedman, B. S, Geczy, L. C. Interferon-gamma and lipopolysaccharide potentiate monocyte tissue factor induction by C-reactive protein: relationship with age, sex, and hormone replacement treatment. *Circulation*. 2000 Apr 18;101(15):1785-91.
42. Mandelbaum, A., Ritz, E. Vena cava diameter measurement for estimation of dry weight in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 1996;11 Suppl 2:24-7.
43. Cheriex, C. E, Leunissen, M. K, Janssen, H. J, et al. Echography of the inferior vena cava is a simple and reliable tool for estimation of 'dry weight' in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 1989;4(6):563-8.
44. Moreno, L. F, Hagan, D. A, Holmen, R. J, et al. Evaluation of size and dynamics of the inferior vena cava as an index of right-sided cardiac function. *Am J Cardiol*. 1984 Feb 1;53(4):579-85.
45. Kooman, P. J, Sande vd, M. F, Leunissen, M. K. Sodium, blood pressure and cardiovascular pathology: is it all volaemia? *Nephrol Dial Transplant*. 2004 May;19(5):1046-9.
46. Foley, N. R, Parfrey, S. P, Sarnak, J. M. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 1998 Dec;9(12 Suppl):S16-23.
47. Wang, Y. A, Wang, M., Woo, J., et al. A novel association between residual renal function and left ventricular hypertrophy in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int*. 2002 Aug;62(2):639-47.
48. Pecoits-Filho, R., Lindholm, B., Axelsson, J., et al. Update on interleukin-6 and its role in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 2003 Jun;18(6):1042-5.
49. Pecoits-Filho, R., Barany, P., Lindholm, B., et al. Interleukin-6 is an independent predictor of mortality in patients starting dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant*. 2002 Sep;17(9):1684-8.
50. Konings, J. C, Kooman, P. J, Schonck, M., et al. Assessment of fluid status in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int*. 2002 Nov-Dec;22(6):683-92.
51. Ates, K., Nergizoglu, G., Keven, K., et al. Effect of fluid and sodium removal on mortality in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int*. 2001 Aug;60(2):767-76.
52. Niebauer, J., Volk, H-d., Kemp, M., et al. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet*. 1999;353:1838-42.
53. Rauchhaus, M., Coats, J. A, Anker, D. S. The endotoxin-lipoprotein hypothesis. *Lancet*. 2000 Sep 9;356(9233):930-3.
54. Cheung, K. A, Sarnak, J. M, Yan, G., et al. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2000;58(1):353-62.
55. Longenecker, C. J, Coresh, J., Powe, R. N, et al. Traditional cardiovascular disease risk factors in dialysis patients compared with the general population: the CHOICE Study. *J Am Soc Nephrol*. 2002 Jul;13(7):1918-27.
56. Sarnak, J. M, Coronado, E. B, Greene, T., et al. Cardiovascular disease risk factors in chronic renal insufficiency. *Clin Nephrol*. 2002 May;57(5):327-35.

57. Yeun, J.Y., Levine, R.A., Mantadilok, V., et al. C-reactive protein predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2000;35:469-76.
58. Kaysen, G.A. The microinflammatory state in uremia - Causes and potential consequences. *J Am Soc Nephrol.* 2001;In Press.
59. Stenvinkel, P., Heimbürger, O., Paulter, F., et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int.* 1999;55(5):1899-911.
60. Kaysen, G.A., Dublin, J.A., Müller, H.G., et al. The acute-phase response varies with time and predicts serum albumin levels in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2000;58:346-52.
61. Tellingén V, A., Grooteman, P. M, Schoorl, M., et al. Intercurrent clinical events are predictive of plasma C-reactive protein levels in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2002 Aug;62(2):632-8.
62. Catena, C., Zingaro, L., Casaccio, D., et al. Abnormalities of coagulation in hypertensive patients with reduced creatinine clearance. *Am J Med.* 2000 Nov;109(7):556-61.
63. Descamps-Latscha, B., Herbelin, A., Nguyen, T. A, et al. Balance between IL-1 beta, TNF-alpha, and their specific inhibitors in chronic renal failure and maintenance dialysis. Relationships with activation markers of T cells, B cells, and monocytes. *J Immunol.* 1995 Jan 15;154(2):882-92.
64. Pecoits-Filho, R., Heimbürger, O., Barany, P., et al. Associations between circulating inflammatory markers and residual renal function in CRF patients. *Am J Kidney Dis.* 2003 Jun;41(6):1212-8.
65. Panichi, V., Migliori, M., Pietro D, S., et al. C-reactive protein and interleukin-6 levels are related to renal function in predialytic chronic renal failure. *Nephron.* 2002 Aug;91(4):594-600.
66. Panichi, V., Migliori, M., Pietro D, S., et al. C reactive protein in patients with chronic renal diseases. *Ren Fail.* 2001 May-Jul;23(3-4):551-62.
67. Oberg, P. B, McMenamin, E., Lucas, L. F, et al. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2004 Mar;65(3):1009-16.
68. Parfrey, P.S., Foley, R.N., Harnett, J.D., et al. Outcome and risk factors for left ventricular disorders in chronic uremia. *Nephrol Dial Transpl.* 1996;11:1277-85.
69. Klag, J. M, Whelton, K. P, Randall, L. B, et al. Blood pressure and end-stage renal disease in men. *N Engl J Med.* 1996 Jan 4;334(1):13-8.
70. Kooman, P. J, Sande vd, M. F, Leunissen, M. K. Role of sodium and volume in the pathogenesis of hypertension in dialysis patients. Reflections on pathophysiological mechanisms. *Blood Purif.* 2004;22(1):55-9.
71. Lacy, F., O'Connor, T. D, Schmid-Schonbein, W. G. Plasma hydrogen peroxide production in hypertensives and normotensive subjects at genetic risk of hypertension. *J Hypertens.* 1998 Mar;16(3):291-303.
72. Ozkahya, M., Ok, E., Cirit, M., et al. Regression of left ventricular hypertrophy in haemodialysis patients by ultrafiltration and reduced salt intake without antihypertensive drugs. *Nephrol Dial Transplant.* 1998 Jun;13(6):1489-93.
73. Krautzig, S., Janssen, U., Koch, M. K, et al. Dietary salt restriction and reduction of dialysate sodium to control hypertension in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 1998 Mar;13(3):552-3.
74. Nesrallah, G., Suri, R., Moist, L., et al. Volume control and blood pressure management in patients undergoing quotidian hemodialysis. *Am J Kidney Dis.* 2003 Jul;42(1 Suppl):13-7.

75. Berg, D. R, Garlington, W. A. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. *Infect Immun.* 1979 Feb;23(2):403-11.
76. Rush, F. B, Jr., Redan, A. J, Flanagan, et al. Does the bacteremia observed in hemorrhagic shock have clinical significance? A study in germ-free animals. *Ann Surg.* 1989 Sep;210(3):342-5; discussion 6-7.
77. Deitch, A. E, Berg, R., Specian, R. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. *Arch Surg.* 1987 Feb;122(2):185-90.
78. Ambrose, S. N, Johnson, M., Burdon, W. D, et al. Incidence of pathogenic bacteria from mesenteric lymph nodes and ileal serosa during Crohn's disease surgery. *Br J Surg.* 1984 Aug;71(8):623-5.
79. Morehouse, L. J, Specian, D. R, Stewart, J. J, et al. Translocation of indigenous bacteria from the gastrointestinal tract of mice after oral ricinoleic acid treatment. *Gastroenterology.* 1986 Sep;91(3):673-82.
80. Knobel, E. Choque séptico e mecanismos de agressão tecidual. In: Atheneu, editor. *Conduitas no paciente grave.* São Paulo; 1998. p. 18-23.
81. Freudenberg, A. M, Galanos, C. Bacterial lipopolysaccharides: structure, metabolism and mechanisms of action. *Int Rev Immunol.* 1990;6(4):207-21.
82. Hitchcock, J. P, Leive, L., Makela, H. P, et al. Lipopolysaccharide nomenclature--past, present, and future. *J Bacteriol.* 1986 Jun;166(3):699-705.
83. Fadel, T MV. Uso de corticosteróides na infecção grave de origem peritoneal por bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas, experimentalmente induzidas em camundongos [Mestrado em Medicina Interna]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 1996.
84. Hori, Y., Ohyanagi, H. Protective effect of the intravenous administration of ursodeoxycholic acid against endotoxemia in rats with obstructive jaundice. *Surg Today.* 1997;27(2):140-4.
85. Hurley, C. J. Endotoxemia: methods of detection and clinical correlates. *Clin Microbiol Rev.* 1995 Apr;8(2):268-92.
86. Damas, K. J, Gullestad, L., Aukrust, P. Cytokines as new treatment targets in chronic heart failure. *Curr Control Trials Cardiovasc Med.* 2001;2(6):271-7.
87. McCloskey, V. R, Straube, C. R, Sanders, C., et al. Treatment of septic shock with human monoclonal antibody HA-1A. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. CHESSTrial Study Group. *Ann Intern Med.* 1994 Jul 1;121(1):1-5.
88. Morrison, C. D, Ryan, L. J. Endotoxins and disease mechanisms. *Annu Rev Med.* 1987;38:417-32.

8. ANEXOS

8.1 Aprovação da comissão de ética e pesquisa

8.2 Cópia do resumo apresentado como pôster no XIII Congresso Latino-Americano de Nefrologia e Hipertensão; Punta Del Este - Uruguai, 2004

8.3 Cópia do resumo apresentado como pôster no XVI Congresso ERA-EDTA; Lisboa-Portugal, 2004

8.4 Cópia do resumo apresentado como apresentação oral no XXII Congresso Brasileiro de Nefrologia; Salvador- Bahia, 2004

8.5 Cópia do capítulo do livro Atualidades em Nefrologia 8: **Aterosclerose em insuficiência renal crônica: evidências de uma doença inflamatória**, 2004

8.6 Cópia da carta publicada na revista Nephrology Dialysis and Transplantation , 2007