

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: NEFROLOGIA

**EFEITO AGUDO DA SINVASTATINA EM MARCADORES
INFLAMATÓRIOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES
COM DOENÇA RENAL CRÔNICA**

CLAUS DIETER DUMMER

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre

2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: NEFROLOGIA

**EFEITO AGUDO DA SINVASTATINA EM MARCADORES
INFLAMATÓRIOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES
COM DOENÇA RENAL CRÔNICA**

CLAUS DIETER DUMMER

Dissertação de mestrado apresentada a Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas: Nefrologia.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Veronese

Porto Alegre

2007

AGRADECIMENTOS

- À Deus por ter me protegido durante esta jornada.
- Aos meus pais, que sempre me oportunizaram o melhor em minha vida. Amo vocês!
- À minha esposa Fátima, pelo seu amor, compreensão e apoio incondicional que foram fundamentais nesta conquista.
- À minha secretária Carolina, pela sua disposição e ajuda.
- Ao meu orientador Dr. Francisco Veronese pelo seu apoio, confiança e amizade.
- Ao Dr. Fernando Thomé pela participação e suporte no estudo.
- À Prof^a. Adriane Belló por disponibilizar o Laboratório de Fisiologia da UFRGS para análise do estresse oxidativo.
- Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia FAMED/UFRGS, pela oportunidade de aprendizado.
- A todos os meus amigos, colegas e professores do Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, que de certa forma contribuíram para a realização deste trabalho.
- Aos amigos Thiago, Davi e Tânia pelo processamento e análise material no Laboratório de Fisiologia da UFRGS.
- À Patrícia Franke do Laboratório de Pesquisa pelo suporte recebido.
- Aos alunos Bianca Zingano e Alberto Lindoso pela ajuda na coleta dos dados.
- Aos funcionários do laboratório de análises, da zona 12 e 14, principalmente ao Vilmar pela coleta dos exames.
- Aos colegas da UNIRIM, principalmente ao Dr. Altemir Spinelli pela sua disponibilidade.
- Ao amigo Marion P. Rocha pela ajuda dispensada.

- Ao Laboratório BIOLAB pelo fornecimento da sinvastatina e o placebo.
- Ao Fundo de Incentivo à Pesquisa do HCPA pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	8
LISTA DE TABELAS.....	10
1 INTRODUÇÃO	11
1.1 Doença renal crônica e mortalidade cardiovascular	13
1.2 Inflamação, desnutrição e aterogênese na doença renal crônica	16
1.2.1 Inflamação e o desenvolvimento de aterosclerose	17
1.2.2 Desnutrição e inflamação na doença renal crônica	19
1.3 Proteína C reativa e outros marcadores de doença cardiovascular.....	23
1.4 Estresse oxidativo, uremia e aterogênese	27
1.4.1 Espécies reativas do metabolismo do oxigênio	27
1.4.2 Sistema antioxidante.....	29
1.4.3 Estresse oxidativo na uremia e sua associação com aterogênese.....	30
1.4.4 Métodos de mensuração da peroxidação lipídica	34
1.4.5 Métodos de mensuração da oxidação protéica	36
1.4.6 Métodos de mensuração do sistema antioxidante	36
1.4.7 Disfunção endotelial, estresse oxidativo e inflamação.....	37
1.5 Uso de vastatinas no tratamento da inflamação e do estresse oxidativo	39
1.5.1 Os efeitos pleotrópicos das vastatinas	40
1.5.1.2 Efeitos sobre a adesão e recrutamento de células mononucleares.....	43
1.5.1.3.1 Mecanismos antiinflamatórios relacionados à redução dos lipídios	45
1.5.1.3.2 Mecanismos antiinflamatórios independentes da redução dos lipídios.....	45
1.5.2 Efeitos na disfunção endotelial.....	46
1.5.3 Outros efeitos das vastatinas	47
1.6 Uso clínico das vastatinas em pacientes com doença renal crônica.....	48
2 JUSTIFICATIVA	51
3 OBJETIVOS	53
3.1 Objetivo primário	53
3.2 Objetivos secundários.....	53

4 REFERÊNCIAS	54
5 ARTIGO EM PORTUGUÊS: ESTUDO RANDOMIZADO E CONTROLADO SOBRE O EFEITO AGUDO DA SINVASTATINA EM MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA	81
Resumo	82
Introdução	84
Paciente e métodos	85
Resultados.....	90
Discussão	92
Agradecimentos	97
Referências	98
6 CONCLUSÃO.....	116
ANEXOS	117
ANEXO 1 – Termo de Consentimento	118
ANEXO 2 – Formulário de Pesquisa	121

LISTA DE ABREVIATURAS

ASG	-	Avaliação subjetiva global
BRA-II	-	Bloqueador dos receptores da angiotensina
Carb	-	Carbonilas
DCV	-	Doença cardiovascular
DM	-	Diabete melito
DNPH	-	Dinitrofenilhidrazina
DRC	-	Doença renal crônica
ERMO	-	Espécies reativas do metabolismo do oxigênio
EO	-	Estresse oxidativo
HDL	-	Lipoproteína de alta densidade
HMG-CoA	-	Hidroxi-metil-glutaril coenzima A
ICAM-1	-	Molécula de adesão intercelular -1
IECA	-	Inibidor da enzima conversora da angiotensina
Pr/Cr	-	Índice proteinúria/creatininúria
IRC	-	Insuficiência renal crônica terminal
KF/DOQI	-	Iniciativa para Qualidade dos Desfechos na Doença Renal
LDL	-	Lipoproteína de baixa densidade
MDRD	-	Modificação da Dieta na Doença Renal
MIA	-	Má nutrição, inflamação e aterosclerose
MICS	-	Síndrome do complexo desnutrição-Inflamação
PcR	-	Proteína C reativa
TFG	-	Taxa de filtração glomerular
TNF- α	-	Fator de necrose tumoral- α

TRAP - Parâmetro antioxidante de captura de radicais totais

LISTA DE FIGURAS E QUADROS

Figuras e Quadros da Introdução

Figura 1 - Mortalidade em pacientes com DRC e em diálise, na presença de doença cardiovascular.....	13
Figura 2 - Fases iniciais do processo de aterosclerose.	18
Figura 3 - Etapas de formação da placa aterosclerótica.	18
Quadro 4 - Fatores que contribuem para um pior perfil nutricional nos pacientes com DRC .	19
Figura 5 - Relação entre estado microinflamatório, desnutrição e aterosclerose acelerada em pacientes urêmicos.....	20
Figura 6 - Estrutura pentamérica da proteína C reativa.....	23
Figura 7 - Formação das ERMOs a partir da redução do oxigênio.	28
Quadro 8 - Biomarcadores in vivo com potencial para gerar EO em pacientes urêmicos	31
Figura 9 - O estresse carbonílico em pacientes com DRC pré-dialítica e em hemodiálise.....	33
Figura 10 - Mecanismo de ação das vastatinas.	40
Figura 11 - Os efeitos pleotrópicos das vastatinas.	41

Figuras do Artigo em Português

Figura 1 - Protocolo de randomização, <i>wash out</i> e intervenções	111
Figura 2 - Variação dos níveis de colesterol total por grupo de randomização e por período. CT: Colesterol total	112
Figura 3 - Variação das medidas dos marcadores inflamatórios por grupo e por período. PcR e fibrinogênio (S-P vs. P-S) p=NS (não significativo) para medida basal, 1 e 2	113
Figura 4 - Variação das medidas de estresse oxidativo por grupo e por período. TRAP= Total Radical Trapping Antioxidant Parameter; Carbonilas (S-P vs. P-S): p=NS (não significativo), medida 1 e 2; TRAP (S-P vs. P-S): p=NS, medida basal, 1 e 2	114
Figura 5 – Interação entre diabetes melito e resposta ao tratamento sobre os níveis de fibrinogênio	115

LISTA DE TABELAS

Tabelas da Introdução

Tabela 1 - Estágios evolutivos da doença renal crônica.....	12
Tabela 2 - Fatores de risco para aterosclerose em pacientes urêmicos	15
Tabela 3 - Características da desnutrição do Tipo 1 e do Tipo 2	21

Tabelas do Artigo em Português

Tabela 1 - Características clínicas e demográficas dos grupos	106
Tabela 2 - Parâmetros laboratoriais dos grupos no período basal	107
Tabela 3 - Valores basais dos marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo	108
Tabela 4 - Evolução dos parâmetros inflamatórios e de estresse oxidativo nos grupos S-P e P-S.....	109
Tabela 5 - Efeitos adversos do tratamento sobre o nível de transaminases e de creatinofosfoquinase.....	110

1 INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) é uma síndrome causada por inúmeras doenças que têm em comum a redução progressiva da filtração glomerular. Independentemente do insulto inicial provocado pela doença de base, a lesão progride com esclerose glomerular e fibrose intersticial, levando à perda progressiva dos néfrons com reflexos variados e heterogêneos nas funções metabólicas, hormonais e homeostáticas dos rins (1, 2).

Estima-se que mais de 10 milhões de americanos tenham DRC. A sua prevalência é maior que 25% em indivíduos com mais de setenta anos de idade (3,4). No Brasil, a prevalência de pacientes mantidos em programa crônico de diálise mais que dobrou nos últimos oito anos. De 24.000 pacientes mantidos em programa dialítico em 1994, alcançamos 58.000 pacientes em 2004. A incidência de novos pacientes cresce cerca de 8% ao ano, e, em termos absolutos, 18.000 novos pacientes foram registrados em 2001. Os custos impostos pelo programa de diálise e transplante renal ao sistema de saúde são significativos e, no Brasil, situam-se ao redor de 1,4 bilhões de reais ao ano. Com base em dados norte-americanos, estima-se que, para cada paciente mantido em programa de diálise, existiriam cerca de vinte pacientes com algum grau de disfunção renal, ou seja, cerca de 1,2 milhão de brasileiros com DRC (5).

A DRC é definida como dano renal ou Taxa de Filtração Glomerular (TFG) <90 ml/min/1,73m² por três meses ou mais. O dano renal é definido como anormalidades patológicas ou marcadores de lesão do rim, incluindo anormalidades nos exames de urina, sangue e de imagem. A DRC é dividida em cinco estágios (Tabela 1) de acordo com o nível de função renal, presença de dano renal e de alterações clínico-laboratoriais progressivas, conforme o Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI) (3).

Tabela 1 - Estágios evolutivos da doença renal crônica

Estágio	Descrição	TFG (ml/min/1,73m²)
1	Dano renal com TFG normal ou ↑	≥90
2	Dano renal com leve ↓ da TFG	60-89
3	Moderada ↓ da TFG	30-59
4	Severa ↓ da TFG	15-29
5	Falência renal	<15 (ou diálise)

Adaptado de K/DOQI, Am J Kidney Dis 2002;39(2 Suppl 1):S1-266.

Nas últimas décadas, tem sido possível aumentar, significativamente, a sobrevida de pacientes com insuficiência renal crônica terminal através dos métodos dialíticos, hemodiálise (HD) e diálise peritoneal (DP), e do transplante renal. Mas, paralelamente, complicações crônicas da uremia, como a osteodistrofia renal e a anemia, e do transplante, como os efeitos adversos da imunossupressão e a rejeição crônica, foram sendo descritas, impondo novos desafios de prevenção, diagnóstico e tratamento de maior complexidade (6).

Entretanto, apesar de todos esses avanços, a mortalidade na DRC, principalmente em fase terminal, permanece elevada (Figura 1). Conforme estatística americana, a expectativa de vida é, em média, de quatro a cinco vezes menor na população de urêmicos em relação à população geral, ajustada para idade, sexo e raça (7).

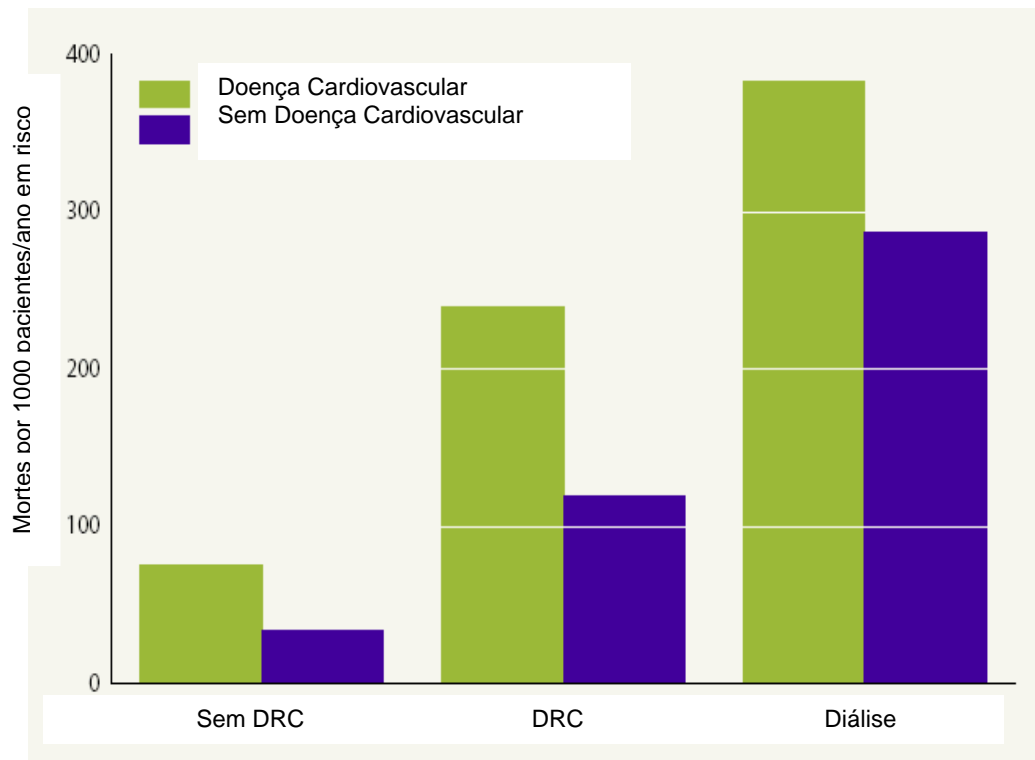


Figura 1 - Mortalidade em pacientes com DRC e em diálise, na presença de doença cardiovascular. Adaptado de Henry RM, *Kidney Int* 2002; 62: 1402-7.

Nesta revisão, serão abordados aspectos etiopatogênicos da aterosclerose no contexto da DRC, que dão origem à doença cardiovascular (DCV) e à morbi-mortalidade a ela associada, muito prevalente nessa população de pacientes.

1.1 Doença renal crônica e mortalidade cardiovascular

A maior causa de mortalidade em pacientes com DRC é de origem cardiovascular, atingindo um índice anual em torno de, aproximadamente, 9%, ou seja, dez a vinte vezes maior se comparada à população geral, mesmo quando o ajuste é feito para outros fatores de risco, como idade, raça, sexo e presença de diabetes melito (DM) (8). Considerando esse elevado risco de DCV e a morbimortalidade a ela associada (9-14), é fundamental, em termos

de saúde pública, estabelecer, quantificar e prevenir os fatores causais de doença renal e cardiovascular nessa população de indivíduos.

Em uma coorte de 1.120.295 adultos, medidas longitudinais foram usadas para estimar o risco de DCV em pacientes com DRC. Com uma média de acompanhamento de 2,8 anos, o risco de DCV, após ajuste para diferenças em fatores demográficos e clínicos, aumentou progressivamente à medida que a TFG, estimada pela equação do estudo *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD) (15), diminuiu abaixo de 60 ml/min (16). O *adjusted hazard ratio* para a ocorrência de eventos cardiovasculares foi 1,4 (IC 95% 1,4-1,5) para uma TFG estimada entre 45 e 59 ml/min, 2,0 (IC 95% 1,9-2,1) na faixa entre 30 e 44 ml/min, 2,8 (IC 95% 2,6-2,9), entre 15 e 29 ml/min e 3,4 (IC 95% 3,1-3,8), para uma TFG menor que 15 ml/min. Outros estudos de grandes populações, como o *Second National Health and Nutritional Examination Survey* (NHANES II) (14) e o Framingham Heart Study (11), também demonstraram um aumento significativo no risco de morte em pacientes com perda de função renal.

Os fatores associados com DCV em indivíduos portadores de DRC são múltiplos (Tabela 2). Tradicionalmente, fatores de risco com elevada prevalência como hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemia, DM e tabagismo, são encontrados, e, mais recentemente, também têm sido associados fatores ditos não-tradicionais, tais como inflamação, estresse oxidativo (EO), infecção persistente, proteinúria e hiperfosfatemia, que parecem exercer um papel relevante no desenvolvimento do processo aterosclerótico nesse grupo de pacientes (17-19). Em estudo recente, comparando os fatores tradicionais e os novos fatores de risco como preditores de mortalidade cardiovascular em indivíduos com e sem DRC (TFG <60 ml/min), Shlipak e cols. (20) verificaram que os fatores de risco tradicionais, como hipertrofia ventricular esquerda, tabagismo, sedentarismo, DM e pressão arterial sistólica elevada, tiveram maior impacto sobre a mortalidade cardiovascular nos dois

subgrupos, enquanto os não-tradicionais, como proteína C reativa (PcR), fibrinogênio, interleucina-6 (IL-6), hemoglobina e fator VIII, influenciaram esse desfecho apenas no grupo sem DRC. Entretanto, o estudo só envolveu indivíduos idosos, a distribuição racial não foi homogênea entre os subgrupos, e o poder do estudo foi limitado pelas múltiplas comparações e análise de subgrupos com desfecho único.

Tabela 2 - Fatores de risco para aterosclerose em pacientes urêmicos

Fatores de risco tradicionais	Fatores de risco não tradicionais
Sexo masculino	Hipervolemia
Idade: Homens > 45 anos; Mulheres pós-menopausa	Fatores trombogênicos (fator de von Willebrand e outros)
Diabete melito	Produto cálcio X fósforo elevado, paratormônio
Hiperlipidemia	Inflamação crônica (PcR, outros)
Tabagismo	Hiperhomocisteinemia
Hipertensão arterial sistêmica	Hipercatabolismo, desnutrição
Obesidade	Infecções (<i>Chlamydia pneumoniae</i> , outros)
Sedentarismo	Redução do óxido nítrico
Hereditariedade	Produtos finais de glicosilação avançada
Estilo de vida	Dimetil arginina assimétrica
	Proteinúria, anemia
	Hiperfibrinogenemia
	Marcadores de estresse oxidativo
	Redução da filtração glomerular
	Atividade do sistema renina-angiotensina

Adaptado de Shlipak MG, JAMA 2005;293(14):1737-45.

1.2 Inflamação, desnutrição e aterogênese na doença renal crônica

A presença de inflamação é um achado consistente em pacientes com DRC e tem sido amplamente reconhecida como um novo fator de risco para doença arterial coronariana (DAC) (21).

Décadas antes, a associação entre uremia e aterosclerose havia sido descrita em pacientes sob tratamento hemodialítico prolongado (22). Acumulam-se evidências sugerindo que a inflamação crônica contribui para o desenvolvimento e progressão da aterosclerose também nos pacientes em fase pré-dialítica (23,24). É comum, em pacientes com DRC em diferentes fases de progressão, encontrar-se níveis elevados de marcadores do estado inflamatório como a Pcr (25-27), um dos mais estudados recentemente. A medida da Pcr prediz doença cardíaca aterosclerótica e maior morbi-mortalidade, tanto em indivíduos normais quanto em urêmicos sob tratamento conservador e dialítico (27-29). Existe uma correlação significativa entre estado microinflamatório e o número e a extensão de placas de ateroma em carótidas em urêmicos (30). Outros marcadores inflamatórios, como a IL-6 e o fibrinogênio, também estão elevados na DRC, e, junto com o estado urêmico *per se*, infecções persistentes (ex.: *Chlamydia pneumoniae* e infecções dentárias) e o próprio processo aterosclerótico contribuem para o aumento da resposta inflamatória observada em urêmicos (31-35).

É possível que esses fatores associados à aterogênese interajam mutuamente, resultando em um ciclo vicioso, onde participam diversas substâncias pró-inflamatórias, como citocinas, moléculas de adesão, quimiocinas e espécies reativas do metabolismo do oxigênio (ERMO). Esses mecanismos ainda não são totalmente claros, mas a sua associação com aterosclerose acelerada e mortalidade cardiovascular é evidente em diversos estudos experimentais e clínicos envolvendo renais crônicos em diferentes fases da doença (17,19,21,25,27,33,35).

1.2.1 Inflamação e o desenvolvimento de aterosclerose

As hipóteses mais atuais sobre a aterogênese enfatizam o papel da disfunção endotelial e da inflamação como etapas iniciais da formação da placa de ateroma. Resumidamente, ocorre aumento da adesividade endotelial de leucócitos e plaquetas, favorecendo uma atividade pró-coagulante, expressão de moléculas de adesão como selectinas, molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e molécula de adesão vascular-1 (VCAM-1), síntese de citocinas, quimiocinas como a proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) e fatores de crescimento, e liberação de moléculas vasoativas pelo endotélio lesado (36). Desencadeia-se a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), que são fagocitadas por macrófagos, originando as células espumosas, carregadas de lipídios. Com a aceleração do processo inflamatório, ocorre a migração e a proliferação de células musculares lisas, espessamento arterial e remodelamento da parede do vaso afetado. Inicia-se um ciclo vicioso de ativação e infiltração de células mononucleares, liberação de citocinas e enzimas hidrolíticas com conseqüente necrose focal. O ciclo proliferativo prossegue com a formação da capa fibrosa, formada por colágeno e outras proteínas da matriz extracelular, sobre o núcleo de gordura e área de necrose. A inflamação na parede da artéria representa o início e a perpetuação do processo aterosclerótico, que evolui com erosão, fissura e ruptura da placa aterosclerótica, culminando em formação de trombo, obstrução do vaso e lesão isquêmica (37).

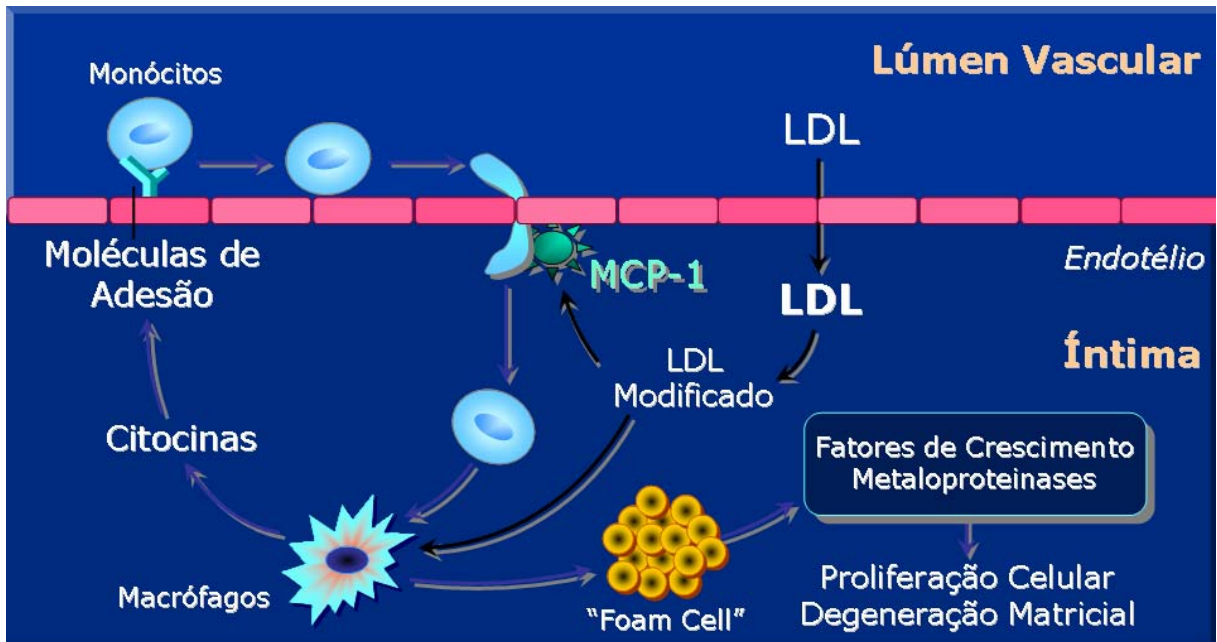


Figura 2 - Fases iniciais do processo de aterosclerose. Adaptado de Ross R, N Engl J Med 1999;340:115-126.

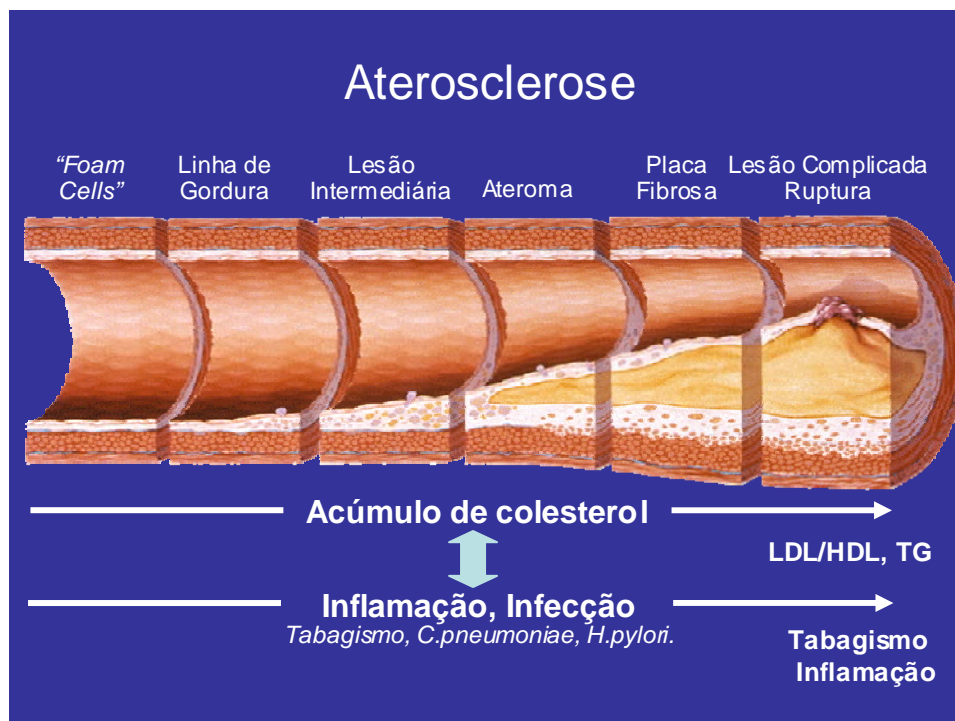


Figura 3 - Etapas de formação da placa aterosclerótica. Adaptado de Stary HC, Circulation 1995;92:1355-1374.

1.2.2 Desnutrição e inflamação na doença renal crônica

A desnutrição é encontrada freqüentemente em pacientes com DRC, tanto na fase pré dialítica (38-40) como após o início da diálise (41), com uma prevalência de 28% a 51% e 10% a 70%, respectivamente. É uma condição que se correlaciona diretamente com a perda da função renal (42-44), sendo um importante fator preditivo de morbimortalidade nessa população (24,38). Esta associação já havia sido descrita, em 1983, por Acchiardo e cols., em pacientes submetidos à HD (45).

Fatores diversos contribuem para um pior perfil nutricional nos pacientes com DRC em diferentes fases da doença, como os citados no Quadro 4.

<ol style="list-style-type: none"> 1. Ingestão alimentar diminuída <ul style="list-style-type: none"> • Uremia • Comorbidades • Doenças agudas intercorrentes • Doença gastrointestinal coexistente (gastroparesia) • Depressão • Efeitos adversos de drogas 1. Hipermetabolismo e alterações metabólicas <ul style="list-style-type: none"> • Doenças intercorrentes (infecções, sepse) • Deficiência de hormônios anabólicos (insulina, fatores de crescimento) • Hiperparatireoidismo • Hiperglucagonemia • Acidose metabólica • Uremia 2. Estado inflamatório
--

Quadro 4 - Fatores que contribuem para um pior perfil nutricional nos pacientes com DRC. Adaptado de Kopple JD, J Nutr 1999; 129: S247-51.

A hipoalbuminemia ocorre em 60% dos pacientes com insuficiência renal crônica em fase pré-dialítica (46). A desnutrição, conseqüência de múltiplos fatores, como uremia, microinflamação, maior catabolismo protéico e o próprio procedimento dialítico – tanto HD como DP – resultam na queda da albumina sérica. Estudos anteriores associaram

hipoalbuminemia a maior morbimortalidade em diálise (45), mas esse dado foi recentemente questionado à medida que alguns estudos têm identificado outros marcadores com maior poder preditivo de morte na população de dialisados. Dentre esses, o aumento dos níveis séricos de PcR é um dos mais importantes por ser um preditor forte de eventos cardiovasculares (26). Após ajuste para os níveis séricos de PcR, a hipoalbuminemia tem seu efeito sobre a mortalidade atenuado e passa a não constituir fator de risco cardiovascular (24,29,47).

Esses dados adquirem consistência quando se observa que a PcR é um preditor primário do nível de albuminemia (48). Também na fase pré-dialítica, a PcR e a albumina diferem no valor preditivo de prognóstico cardiovascular. Menon e cols. (49) observaram que a PcR elevada e a albumina baixa nos estágios 3 e 4 da DRC foram fatores de risco independentes para mortalidade de todas as causas, mas só o aumento dos níveis de PcR esteve associado a maior mortalidade cardiovascular, independentemente de fatores demográficos, cardíacos e da doença renal. Para integrar os efeitos da inflamação sobre a desnutrição e a mortalidade, Bergström e Lindholm propuseram, em 1998, o termo síndrome MIA - “Má Nutrição, Inflamação e Aterosclerose”, em que a atividade inflamatória estaria na gênese da desnutrição e da hipoalbuminemia, da DCV e de outros problemas associados (50,51).

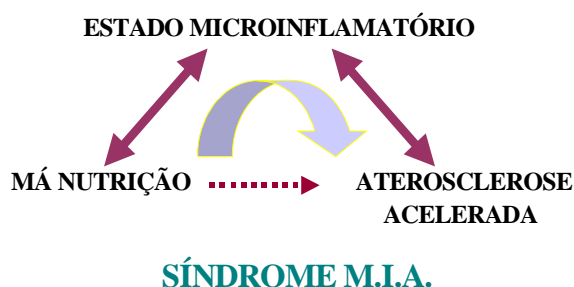


Figura 5 - Relação entre estado microinflamatório, desnutrição e aterosclerose acelerada em pacientes urêmicos. Adaptado de Bergström J, Am J Kidney Dis 1998;32(5):834-41.

Posteriormente, Kalantar-Zadeh e cols. (52) sugeriram o termo Síndrome do Complexo Desnutrição-Inflamação (MICS) para salientar a importância dessas duas condições no desfecho de pacientes renais crônicos em tratamento dialítico. Os elementos da síndrome MIA e MICS, em conjunto, parecem estar entre os fatores de risco que mais contribuem para a elevada morbimortalidade e para a baixa qualidade de vida dessa população de pacientes (53).

Dois tipos de desnutrição foram propostos por Stenvinkel e cols. (51), de Tipo 1 e de Tipo 2 (Tabela 3). O Tipo 1 decorre de um aporte nutricional inadequado, sendo, então, mais facilmente corrigido. No entanto, no Tipo 2, a inflamação e suas comorbidades são as causas predominantes. Neste tipo, o hipercatabolismo e a falha na deposição de nutrientes causados pelo estado inflamatório parecem ser a razão principal da deficiência calórico-proteica. Poderia haver, ainda, uma sobreposição dessas duas condições em uma forma mista.

Tabela 3 - Características da desnutrição do Tipo 1 e do Tipo 2

	Tipo 1	Tipo 2
Albumina sérica	Normal/baixa	Baixa
Comorbidades	Incomum	Comum
Presença de inflamação	Não	Sim
Ingestão alimentar	Baixa	Baixa/normal
Gasto energético basal	Normal	Elevado
Estresse oxidativo	Aumentado	Muito aumentado
Catabolismo protéico	Reduzido	Aumentado
Reversão pela diálise e suporte nutricional	Sim	Não

Adaptado de Stenvinkel P, Nephrol Dial Transplant 2000;15(7):953-960.

Nos anos recentes, vem sendo demonstrada uma relação inversa entre a TFG e os níveis séricos de marcadores do estado inflamatório, que se encontram elevados nas diferentes fases

evolutivas da DRC. Proteínas de fase aguda e citocinas pró-inflamatórias, quando em níveis elevados, exercem marcada influência sobre o estado nutricional, pois determinam anorexia e perda de peso através de catabolismo protéico e diminuição do anabolismo (24, 54-57).

Os efeitos de outras citocinas pró-inflamatórias, como a IL-6 e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) na nutrição, resultam de sua ação catabólica sobre o metabolismo protéico, da ação direta no sistema gastrointestinal ou da sua ação indireta sobre o sistema nervoso central, resultando em anorexia (58). Outros mecanismos são a hidrólise protéica, a destruição da proteína muscular via ativação da transcrição do fator nuclear κ -B (NF κ -B) (59), a ativação do sistema proteolítico ubiquitina-proteasoma (60) e a ação do hormônio anorético leptina. Estudo com modelo animal mostrou aumento da produção de leptina sob estímulo de citocinas inflamatórias como TNF- α e interleucina-1 (IL-1) (61). A relação entre leptina e mudanças na composição corporal em pacientes com DRC é ainda controversa, não quanto ao papel da leptina na regulação da ingestão nutricional e no gasto energético. Alguns estudos são consistentes na associação entre leptina e desnutrição (62,63), mas outros não demonstraram correlação entre leptina sérica e mudanças de peso recentes ou outros marcadores nutricionais (64-65).

Como existe uma grande variabilidade inter e intra-individual na prevalência da inflamação que não pode ser explicada somente pela diálise ou outras condições clínicas que envolvam inflamação, é possível que diferenças genéticas possam estar envolvidas (66). A identificação de variações em genes relacionados ao eixo inflamação-desnutrição tem sido alvo de estudo, tendo, como finalidade, o rastreamento de populações de alto risco. Até o momento, os genes do TNF α -308 (G \rightarrow A) e da interleucina-10 (IL-10) -1082 (A \rightarrow G) parecem estar associados a desfechos clínicos adversos em pacientes com DRC (66,67).

1.3 Proteína C reativa e outros marcadores de doença cardiovascular

A PcR é uma proteína pentamérica pertencente à família das pentraxinas, composta de cinco subunidades de 25 kilo-daltons, dispostas simetricamente por ligações não-covalentes em torno de um núcleo central (Figura 5). Protótipo das proteínas de resposta de fase aguda e a primeira a ser descrita, a PcR é produzida pelo hepatócito sob estímulo e controle de citocinas pró-inflamatórias, especialmente a IL-6, que é a principal indutora do gen da PcR, e também a IL-1, o TNF- α e os produtos da ativação do complemento (68).



Figura 6 - Estrutura pentamérica da proteína C reativa.

Entre várias funções conhecidas da PcR, citam-se o reconhecimento de patógenos e células danificadas do hospedeiro, incluindo antígenos nucleares, lipoproteínas e células apoptóticas, bem como a mediação de sua eliminação por recrutamento do sistema de complemento e células fagocíticas (69).

Em 1996, um estudo transversal (28) demonstrou em uma população de homens entre 50 e 69 anos, que vários fatores de risco tradicionais cardiovasculares se associavam a níveis

elevados de PcR e que esta mostrou uma forte correlação com DAC. Posteriormente, Ridker e cols. (70) estudaram mais de 28.000 mulheres sadias após a menopausa, por um período médio de três anos, avaliando o efeito de doze marcadores tradicionais e não-tradicionais no desenvolvimento de eventos cardiovasculares. De todos os fatores, a PcR foi o preditor mais forte de risco em análises univariadas, e, na análise multivariada, só a PcR e a razão colesterol total/colesterol HDL (lipoproteína de alta densidade) permaneceram como preditores independentes.

A PcR tem a capacidade de prever eventos coronarianos, acidentes encefálicos e oclusão arterial periférica em indivíduos não-urêmicos e em urêmicos com doença aterosclerótica estabelecida (25). Tem sido associada, também, à resistência à insulina, à síndrome metabólica e estaria envolvida na fisiopatogênese do DM.

A PcR apresenta várias características que a tornam clinicamente útil. Correlaciona-se bem com outras proteínas de fase aguda e com diversas citocinas pró-inflamatórias. O método de dosagem é simples e tem um custo relativamente baixo, com uma variabilidade intra-ensaio pequena e elevada acurácia. Sua variabilidade na população é grande, até mil vezes, refletindo mais sensivelmente variações no estado inflamatório, mesmo que esse seja transitório. Enquanto um estímulo inflamatório eleva fugazmente diversas citocinas circulantes, ou reduz lentamente proteínas de fase aguda negativas como a albumina, cuja variação situa-se em torno de 20%, a PcR se eleva rápida (em até seis a doze horas) e intensamente (cem a mil vezes) (71), e sua meia-vida é de dezenove horas (68,69).

Existem duas conformações distintas da PcR: a nativa (PcRn) e a modificada (PcRm). A PcRn pode dissociar-se em unidades monoméricas individuais. Isto modifica significativamente a sua estrutura, solubilidade e antigenicidade. Essa forma é reconhecida como “modificada, monomérica” ou PcRm. A PcRm é uma proteína natural não solúvel, estável, com tendência de se auto-agregar, de localização tecidual. É detectada por

imunohistoquímica no citoplasma de células musculares lisas e endoteliais dos vasos e em áreas adjacentes, e podendo ser produzida a partir da PcRn por quelação de uréia, de ácido ou de calor (72). Pouco se sabe sobre seus efeitos *in vivo* nas doenças. Em modelos experimentais, foi demonstrado que a PcRn humana acelera a aterosclerose, enquanto a PcRm previne parcialmente a formação da placa aterosclerótica (73). Entre suas funções, descreve-se a ativação de células endoteliais e neutrófilos, indução da adesão de neutrófilos ao endotélio e retardo na apoptose dos neutrófilos *in vitro*. Contudo, esses efeitos não são descritos para a PcRn (72).

A PCRn é um clássico reagente de fase aguda inflamatória que é utilizado na clínica, e a média do seu nível sérico médio em indivíduos de meia-idade é 1,5 mg/l, abaixo do qual o risco de eventos cardíacos maiores, como infarto agudo do miocárdio, é baixo (73). Schwedler e cols. (73) propuseram que, nos pacientes com DRC, os níveis de PcR maiores que 10 mg/l podem representar um estado de microinflamação, e valores entre 10 e 50 mg/l levam à suspeita de sobreposição de algum evento inflamatório. Valores maiores que 50 mg/L indicariam a presença de uma infecção sobreposta.

Uma única determinação da PcR é um marcador de risco cardiovascular consistente em pacientes em diálise (74). Recentemente, foi demonstrado, em uma população de urêmicos em HD no Sul do Brasil, que o aumento da PcR acima de cinco mg/l, mesmo que transitório, está associado a maior mortalidade geral (75).

Outras condições inflamatórias, como neoplasias, reações de hipersensibilidade, gestação, adiposidade, síndrome metabólica, DM, HAS e a apnéia do sono, também foram claramente associadas com aumento dos níveis de PcR (69,76). Por outro lado, perda de peso e uso de estatinas, fibratos, glitazona ou ácido acetilsalicílico foram associados com redução dos níveis de PcR (77,78).

Além do fato de a PcR ser um marcador de inflamação inespecífico, esta proteína *per se* parece apresentar propriedades pró-inflamatórias por meio da ativação do sistema do complemento (79). Estudos imunohistoquímicos forneceram as primeiras evidências da ação pró-inflamatória da PcR, documentando a deposição de PcR juntamente com o colesterol LDL oxidado na parede de artérias (80). A PcR pode afetar diretamente a função da célula endotelial, reduzindo a biodisponibilidade do óxido nítrico (ON). Li e cols. (81) estudando a disfunção endotelial através de cultura de células, observaram que o LDL oxidado liga-se ao *lectin-like oxidized cholesterol receptor-1* (LOX-1) nas células endoteliais, etapa importante do processo de aterogênese. Esta ligação também envolve a geração de ânions superóxido (O_2^-) e a redução da produção do ON.

O estado inflamatório *per se* pode não ser meramente um epifenômeno, mas sim um fator patogênico relevante na formação da placa aterosclerótica (82). Torzewski e cols. (83), estudando lesões ateroscleróticas coronarianas, observaram que a maioria das células espumosas subendoteliais apresentava fixação da PcR além de frações do complemento, tais como C5b-9. Além da localização na placa aterosclerótica, foram identificados outros sítios de expressão da PcR, como artérias normais, cardiomiócitos, células renais, neurônios e adipócitos (79,84,85).

Outras proteínas de fase aguda também estão diretamente relacionadas com doença vascular, como o fibrinogênio. Assim muitos pacientes com doença DRC têm níveis séricos elevados de fibrinogênio (86-89). Níveis plasmáticos aumentados de fibrinogênio apresentam uma correlação direta com inflamação, desnutrição e maior mortalidade em pacientes com DAC (90).

A IL-6 é um polipeptídeo com peso molecular de vinte kilo-daltons, o qual é secretado por diversas células, incluindo fibroblastos, adipócitos, monócitos e células endoteliais. Os efeitos da IL-6 estão relacionados à sua concentração na circulação sanguínea, tendo ações

parácrinas e endócrinas. Em pacientes urêmicos pré-diálise, possíveis fatores associados ao aumento dos níveis plasmáticos de IL-6 são HAS não- controlada, adiposidade, resistência insulínica, infecções persistentes, insuficiência cardíaca crônica e fatores genéticos. A queda progressiva da TFG apresenta uma forte correlação com níveis elevados de IL-6 (91). Assim como a PcR, a IL-6 também estaria envolvida na patogênese da aterosclerose. Em um estudo foi observada uma associação entre IL-6 e inflamação, EO e soropositividade para *Chlamydia pneumoniae* em pacientes urêmicos (92,93). Possíveis mecanismos incluem o estímulo à produção da molécula ICAM-1, aumentando a adesão e migração de leucócitos através do endotélio, efeitos pró-trombóticos e inibição da lipase lipoprotéica, o que acarreta lipólise e dislipidemia (94).

1.4 Estresse oxidativo, uremia e aterogênese

1.4.1 Espécies reativas do metabolismo do oxigênio

A geração das ERMOs ocorre durante os processos de oxidação biológica, dentre os quais se pode citar a respiração celular acoplada à fosforilação oxidativa para formação de adenosina trifosfato (ATP) na mitocôndria. Porém, existe um sistema enzimático redutor que impede a formação de ERMOs: o sistema citocromo C oxidase. Este sistema redutor é eficiente e promove a redução do oxigênio à água em apenas uma etapa, onde o oxigênio recebe quatro elétrons de uma só vez sem a formação de ERMO. Cerca de 98% do oxigênio de que o organismo necessita para a vida é reduzido à água pelo sistema citocromo C oxidase. Os 2% restantes são reduzidos de forma monovalente por outros sistemas não-enzimáticos. Assim, o oxigênio tende a receber um elétron de cada vez, gerando compostos intermediários

altamente deletérios, que são o radical O_2^- , o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxil (OH^\bullet), este o de maior poder oxidante (95,96).

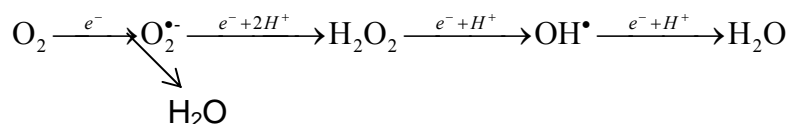


Figura 7 - Formação das ERMOS a partir da redução do oxigênio.

A vida em aerobiose é caracterizada pela produção contínua de ERMOS, que é contrabalançada pelo sistema de defesa antioxidante. Em condições fisiológicas, o balanço entre agentes pró-oxidantes e as defesas antioxidantes se mantém equilibrado (balanço redox). Quando ocorre aumento na produção de ERMOS, diminuição das defesas antioxidantes ou ambos, o equilíbrio é rompido em favor dos agentes pró-oxidantes, ficando a célula ou organismo sob EO com seus potenciais danos. Quando isso ocorre, macromoléculas, como proteínas, lipídios, carboidratos e o ácido desoxirribonucléico (DNA) nelas presentes, são oxidados. Os mecanismos de toxicidade descritos são a lipoperoxidação (LPO) das membranas celulares ou intracelulares, a degradação de proteínas, o dano ao DNA e a inativação enzimática. As ERMOS também induzem apoptose em células mesangiais glomerulares e em células musculares lisas dos vasos (95-97).

As membranas celulares são formadas, em sua maior parte por lipídios insaturados e proteínas, ficando muito vulneráveis ao ataque oxidativo. Este processo pode alterar propriedades de membrana, principalmente, a permeabilidade e a capacidade de transporte, podendo, assim, levar à liberação de enzimas que degradam os lisossomos e promovem destruição e morte celular. O radical OH^\bullet é reconhecido como a espécie iniciadora mais importante da LPO (95,97,98).

As proteínas também sofrem reações oxidativas iniciadas pelas ERMOS, que levam às alterações nas suas estruturas e nos seus estados conformacionais. Também pode haver ataque ao DNA nuclear pelo radical OH^\cdot , identificado pela presença de bases oxidadas de DNA como a 8-hidroxideoxiguanosina (95,97,98).

1.4.2 Sistema antioxidante

Antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações, comparada com aquelas do substrato passível de ser oxidado, retarda ou evita, de forma significativa, a oxidação desse substrato (99). Os antioxidantes minimizam os distúrbios do meio interno e preservam a atividade celular (100). A atividade das defesas antioxidantes varia com o tipo celular e, possivelmente, em diferentes células do mesmo tecido, sendo que fluídos extracelulares têm diferentes mecanismos protetores comparados aos intracelulares (101). Habitualmente, o sistema antioxidante é dividido em enzimático e não-enzimático. Entre as defesas enzimáticas, citam-se a superóxido dismutase (SOD), a catalase e a glutatíon peroxidase (102), sendo estes os agentes que cataliticamente removem radicais livres e outras espécies reativas. O sistema não-enzimático é composto por antioxidantes lipofílicos, como tocoferóis (vitamina E), carotenóides, biflavonóides, e os antioxidantes hidrofílicos, como a vitamina A, ácido ascórbico (vitamina C), ácido úrico e glutatíon. A vitamina E é o principal agente lipossolúvel responsável pela proteção dos ácidos graxos poli-insaturados, e a sua oxidação forma o tocoferil, que reage com o ascorbato e forma o ascorbil, substância hidrossolúvel que pode ser eliminada pelo organismo ou regenerada pelo sistema da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) (96).

São também antioxidantes proteínas que minimizam a disponibilidade de pró-oxidantes (íons ferro e cobre), tais como a transferrina e haptoglobina.

1.4.3 Estresse oxidativo na uremia e sua associação com aterogênese

A insuficiência renal crônica está associada a diversas alterações no equilíbrio entre pró-oxidantes e antioxidantes. Diversos estudos demonstraram que há EO em pacientes com DRC em diferentes fases evolutivas (103,104). Níveis espontâneos e estimulados de radical $O_2\cdot$ e de H_2O_2 intracelulares foram observados em pacientes urêmicos antes do início da diálise, assim como aumento dos produtos de oxidação no plasma e membranas celulares, sugerindo que o EO pode resultar da uremia *per se* (103,105). Empregando ensaios sensíveis e específicos, diversos grupos têm demonstrado um aumento nos níveis plasmáticos de LPO (106,107) e redução na atividade antioxidante em pacientes urêmicos, comparados a indivíduos normais. Ceballos-Picot e cols. (108) investigaram uma grande coorte de pacientes com DRC, demonstrando diminuição dos níveis plasmáticos de glutatíon e uma marcada redução na atividade da enzima glutatíon peroxidase. No Quadro 8, são apresentados os biomarcadores *in vivo* com potencial para gerar EO em pacientes urêmicos.

Lipídios
Malondialdeído e outros aldeídos
Hidroperoxidases lipídicas
LDL oxidado
Alcanos exalados
Produtos finais da lipoxidação avançada (ALE)
Derivados do ácido araquidônico
Isoprostranos F2
Isolevoglandinas
Carboidratos
Aldeídos reativos
Produtos finais da glicação avançada (AGE)
Aminoácidos
Cisteína/cistina
Homocisteína/homocistina
Isoaspartato
3-clorotirosina
Ditirosina
3-nitrotirosina
Proteínas
Oxidação do tiol
Formação carbonílica
Produtos da oxidação avançada de proteínas (AOPP)
DNA
8 hidroxil 2' deoxiguanina
Outros
Ressonância paramagnética de elétrons

Quadro 8 - Biomarcadores in vivo com potencial para gerar EO em pacientes urêmicos. Adaptado de Himmelfarb J, *Kidney Int* 2002; 62(5):1524-1538

Com a progressão da insuficiência renal, a retenção de toxinas urêmicas pode também servir de substrato para o dano oxidativo, a exemplo do LDL, que pode ser carbamylado na presença de elevadas concentrações de uréia, sendo captado por monócitos e, assim, iniciando a formação da placa aterosclerótica (109).

De forma geral, a composição plasmática das lipoproteínas modifica-se na uremia e favorece a geração de EO. A modificação estrutural e funcional de HDL e a redução de sua concentração favorecem a oxidação de LDL e o aumento da ação da enzima mieloperoxidase, principalmente, na presença de um estado inflamatório exacerbado (110).

O LDL é suscetível ao dano induzido por radicais livres de oxigênio e, quando oxidado, contribui, de forma importante, para o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas. Uma vez oxidado, é capturado pelos macrófagos residentes na camada íntima dos vasos, levando à

formação das células espumosas e também promovendo dano direto e destruição da célula endotelial (111).

Estudos em pacientes em HD mostram que mesmo a oxidação de grau leve do LDL pode desdobrar a estrutura molecular da apolipoproteína B, facilitando sua penetração no centro lipídico da LDL (112). A LPO do LDL parece ter outras implicações já demonstradas em modelos experimentais, como interação e inativação do ON influenciando o tônus vascular, e indução de apoptose das células endoteliais de cordão umbilical humano (113) e de células musculares lisas isoladas de aorta (114).

As ERMOs podem também alterar diretamente proteínas, oxidando aminoácidos, tais como ortho-tirosina e sulfóxido de metionina, acarretando uma perda progressiva de suas propriedades metabólicas, enzimáticas e imunológicas (115). Alternativamente, compostos reativos de carbonilas (RCOs), formados pela oxidação de carboidratos e lipídios, podem, indiretamente, resultar em glicação ou lipoxidação avançadas de proteínas. Miyata e cols. (116) propõem que o acúmulo dos RCOs e a subsequente modificação carbonílica das proteínas devam ser chamados de “estresse carbonílico”. O estresse carbonílico, composto pelos AGEs (*Advanced Glycation End Products*), derivados de carboidratos (ex.: carboximetilisina e pentosidina), ALEs (*Advanced Lipoxidation End Products*), derivados de lipídios (ex.: malondialdeído-lisina e acroleína-proteína), e também pela ação da mieloperoxidase sobre aminoácidos (ex.: glioxal, glicolaldeído), acumula-se no plasma e em proteínas teciduais em pacientes urêmicos, tanto na pré diálise quanto na diálise, conforme ilustrado na Figura 9.

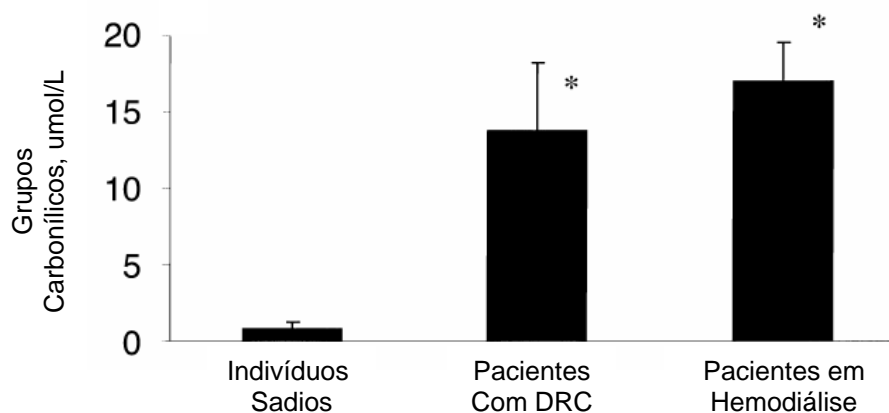


Figura 9 - O estresse carbonílico em pacientes com DRC pré-dialítica e em hemodiálise. Adaptado de Himmelfarb J, *Kidney Int* 2000; 58:2571-2578.

As modificações protéicas derivadas dos AGEs/ALEs geram uma série de atividades biológicas, como resposta inflamatória, secreção de citocinas pró-inflamatórias por macrófagos (117-119), estímulo à agregação plaquetária (120) e proliferação de células musculares lisas dos vasos (121). Nesse contexto, o EO tem sido considerado um importante fator associado à inflamação, disfunção endotelial, aterogênese e DCV em pacientes com DRC (122). Um estudo clínico com urêmicos em tratamento conservador, portadores de doença aterosclerótica avançada, mostrou associação entre dano oxidativo, expresso por oxidação lipídica e protéica, e espessamento da parede carotídea (123).

Medidas terapêuticas contra o EO podem beneficiar pacientes urêmicos. Existem estudos que demonstraram algum benefício do uso de antioxidantes, como acetilcisteína (124) e vitamina E (125) na prevenção de eventos cardiovasculares em pacientes com DRC avançada e em HD. O estudo SPACE (*Secondary Prevention with Antioxidants of Cardiovascular Disease in Endstage Renal Disease*), randomizado e controlado com placebo, mostrou que a suplementação de vitamina E na dose de 800 UI/dia reduziu,

significativamente, os desfechos primários: infarto agudo do miocárdio (fatal e não fatal), acidente vascular cerebral isquêmico, doença vascular periférica e angina instável (125).

O próprio tratamento dialítico pode restaurar o balanço redox ao normal, desde que não sejam usadas, no procedimento, membranas bioincompatíveis e água inadequadamente tratada no procedimento (97). Bianchi e cols. (115), estudando urêmicos em diálise com valores basais elevados de LPO, carbonilas e nitritos, demonstraram que, após uma sessão de HD, a capacidade antioxidante total reduz-se, e os níveis de nitrito, metabólito do ON, se elevam significativamente.

1.4.4 Métodos de mensuração da peroxidação lipídica

A LPO pode ser medida através da técnica de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Pela ação do EO sobre os ácidos graxos poliinsaturados das membranas celulares, ocorre a formação de dienos conjugados e de malondialdeído, um dos componentes medidos pelo TBARS, é um método bastante difundido, porém pouco sensível e específico para medida de LPO. Fatores como composição de ácidos graxos, quantidade de gordura e atividade de substâncias antioxidantes podem modificar essa reação (126).

Diversos estudos têm demonstrado uma maior oxidação lipídica na uremia quando comparada a controles. Em estudo experimental, Nagase e cols. (127) relataram uma taxa significativamente maior de geração de TBARS em microsomas obtidos de ratos com insuficiência renal do que em controles saudáveis. Outro estudo do mesmo grupo de pesquisadores mostrou uma atividade antioxidante sérica reduzida nos pacientes em HD, evidenciada por um menor efeito inibitório do plasma urêmico na geração microsomal de TBARS (128). Essas evidências sugerem que a oxidação de lipídios seja um fenômeno prevalente entre pacientes com insuficiência renal crônica (129-132).

Um aumento nos níveis de TBARS nos eritrócitos de pacientes em HD também foi observado por Paul e cols. (132), não havendo correlação com idade, sexo, tipo de membrana hemodialítica e duração de tratamento. Nesse estudo, não foi constatada variação de TBARS no plasma desses pacientes. Entretanto, Schettler e cols. (133) mostraram que o valor de TBARS estava significativamente elevado no plasma de pacientes com insuficiência renal e que não se modificava após uma sessão de HD. Hirayama e cols. (106) avaliaram a LPO através da medida de TBARS no plasma, antes e após a sessão de HD. Foram encontrados, no plasma, níveis significativamente maiores de TBARS e de eritrócitos dos pacientes do que nos controles, sugerindo um aumento no estado oxidativo desses pacientes. Nesse estudo, os valores de TBARS também não foram modificados pelo procedimento dialítico.

O TBARS também foi avaliado no tecido adiposo subcutâneo de pacientes com DRC. Tal estudo demonstrou que o nível de TBARS no tecido adiposo dos pacientes com DRC era maior em relação aos níveis encontrados no plasma e aos eritrócitos (134). Os níveis de TBARS no tecido adiposo foram significativamente mais elevados nos pacientes com DRC do que nos controles, e estes valores não se correlacionaram com os níveis séricos. A medida de TBARS no tecido adiposo pode ser um índice mais sensível de LPO devido à abundância de substrato para sua geração *in situ* e/ou pelo acúmulo de TBARS gerado em outros órgãos que são transportados pela circulação sanguínea até os adipócitos.

Um método mais sensível que o TBARS para medida da LPO é a quimioluminescência iniciada por hidroperóxido de ter-butil. A realização desse teste baseia-se no fato de que os hidroperóxidos são espécies químicas instáveis, reagindo com lipídios por um mecanismo radicalar que gera produtos que emitem luz (115). Contudo, esse método requer alguns cuidados essenciais. A preparação e leitura da amostra devem ser feitas no mesmo dia em uma sala escura, com frasco mantido na penumbra para evitar a fosforescência ativada pela luz fluorescente.

1.4.5 Métodos de mensuração da oxidação protéica

A oxidação de proteínas tem um importante papel na patogênese de um grande número de doenças degenerativas e no envelhecimento (135,136). Estudos experimentais mostraram que as proteínas são mais oxidadas em tecidos de animais e de seres humanos que apresentam aterosclerose, quando comparadas a controles (137,138).

Os estudos sobre a oxidação protéica foram facilitados com o desenvolvimento da técnica de análise carbonílica, considerada um teste simples, robusto e preciso (139) e que representa um marcador precoce de oxidação de proteínas. Esse processo envolve cátions do ciclo redox como ferro e cobre, que se ligam a proteínas e podem transformar resíduos de aminoácidos em carbonilas na presença de H_2O_2 e ânion O_2^- . Os aminoácidos lisina, arginina, prolina e histidina são os mais propensos para gerar carbonilas (140).

O método de mensuração das carbonilas baseia-se na reação da dinitrofenilhidrazina com as carbonilas das proteínas, formando hidrazonas, compostos que podem ser medidos espectrofotometricamente. Essa técnica mostra excelente reprodutibilidade, podendo detectar níveis de carbonilas em vários sistemas (141).

1.4.6 Métodos de mensuração do sistema antioxidante

Métodos de mensuração da capacidade antioxidante total do plasma devem considerar a constituição plasmática heterogênea, com compartimento hidrofílico e lipofílico e seus componentes antioxidantes solúveis em água ou gordura, respectivamente, bem como as interações desses antioxidantes entre si no plasma (142). Os maiores contribuintes para a ação antioxidante são os antioxidantes hidrofílicos, como as proteínas, ácido úrico e ácido ascórbico (142). Em pacientes com DAC, um baixo nível de atividade da enzima glutatíon

peroxidase-1 de eritrócitos está independentemente associada a maior risco de eventos cardiovasculares (143).

O TRAP (parâmetro antioxidante de captura de radicais totais) medido no plasma avalia o sistema antioxidante não enzimático hidrossolúvel, composto, principalmente, por ácido úrico, vitamina C e glutathione (144), e informa sobre a capacidade dos sistemas de resistir aos desequilíbrios do EO (145). Esse método permite medir a capacidade da amostra de plasma em agir como antioxidante diante de radicais livres formados. Atualmente, O TRAP é o método mais usado para mensurar a capacidade antioxidante no compartimento hidrofílico do plasma (142).

Gotoh e cols. (134), avaliando o estado peroxidativo de renais crônicos em HD, também demonstraram que a atividade antioxidante desses pacientes está reduzida.

1.4.7 Disfunção endotelial, estresse oxidativo e inflamação

O endotélio vascular é um importante órgão autócrino e parácrino que regula o estado de contratilidade da parede dos vasos e sua composição celular. Produz substâncias vasodilatadoras, como o ON e a prostaciclina, substâncias antiagregantes plaquetárias e substâncias vasoconstritoras, como a endotelina-1 e o tromboxane. Tem marcada influência nos processos de coagulação, fibrinólise, na resposta imune e no crescimento e tônus vasculares (146).

A disfunção endotelial é uma das primeiras alterações do processo de aterosclerose, ocorrendo muito antes da manifestação angiográfica da doença (147,148). Essa disfunção endotelial tem, como principal característica, a redução na síntese, liberação e atividade do ON derivado do endotélio. Este ON inibe uma série de componentes do processo aterogênico. O ON derivado do endotélio promove o relaxamento vascular (149), inibe a agregação

plaquetária (150), a proliferação das células musculares lisas e a interação dos leucócitos com o endotélio (151,152).

Em situações de estresse EO, o excesso de radicais livres de oxigênio, especialmente o ânion O_2^- , remove o ON, transformando-o em peroxinitrito (ONOO⁻). A inativação do ON pelo ânion O_2^- leva à vasoconstrição e à HAS (153,154). De fato, demonstrou-se que radicais de oxigênio provocam prejuízo na vasodilatação dependente do endotélio (155), efeito que é bloqueado pela enzima SOD.

A angiotensina II também influencia a função endotelial, pois é um potente estimulador da produção de radicais de oxigênio e causa hipertrofia das células musculares lisas, provavelmente por estimulação da NADPH oxidase, mediada pelo receptor tipo 1 da angiotensina II (AT1) (156). Células endoteliais em cultura produzem o radical O_2^- em resposta ao LDL oxidado e à lipoproteína (a), e o LDL oxidado reduz a vasodilatação dependente do endotélio (146). O LDL oxidado parece atuar sinergicamente com angiotensina II, em que um elemento estimula a expressão dos receptores celulares do outro (AT1 e *Lectin-like oxidized cholesterol receptor-1*, respectivamente), amplificando os seus efeitos.

Pacientes urêmicos podem ter disfunção endotelial por outros fatores, além do EO: estado microinflamatório, retenção de inibidores da L-arginina (que é precursora do ON), hiperhomocisteinemia, dislipidemia, hiperglicemia e HAS, entre outros (157). O tratamento hemodialítico também é um fator relacionado à disfunção endotelial que tem sido estudado. Miyazaki e cols. (158) mostraram que uma sessão de HD prejudica a vasodilatação periférica e que esta se correlaciona com o nível de LDL oxidado. Além disso, o uso de dialisadores recobertos com vitamina E reduz o efeito prejudicial à vasodilatação. Esses autores concluíram que a HD causa disfunção endotelial através de EO. Bolton e cols. (87) também documentaram a presença de disfunção endotelial em pacientes urêmicos em diálise e em pré-

diálise, mas não a correlacionaram com a oxidação do LDL, e sim com efeitos da IL-6, TNF- α e PcR.

1.5 Uso de vastatinas no tratamento da inflamação e do estresse oxidativo

A aterosclerose é descrita atualmente como uma doença inflamatória crônica por envolver recrutamento e proliferação celular, neovascularização e esclerose. Esse novo conceito inflamatório da aterosclerose tem gerado muita investigação no que diz respeito aos aspectos preventivos e terapêuticos desse processo. Fármacos com ação antiinflamatória têm se mostrado eficazes nesse contexto, como os inibidores da enzima conversora da angiotensina e as estatinas. (159).

As vastatinas são drogas que inibem a hidroximetilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, reduzindo os níveis de colesterol sérico pela inibição da síntese do mevalonato, precursor do colesterol (Figura 10). Genericamente, existem dois tipos de vastatinas: as derivadas de fermentação ou naturais (ex.: mevastatina) e as sintéticas (ex.: atorvastatina). Embora a estrutura química das vastatinas seja similar, a sua farmacocinética é completamente diferente (160). Por exemplo, a sinvastatina e a atorvastatina são primariamente metabolizadas pelo sistema citocromo P 3A4 (CYP3A4), enquanto a pravastatina é amplamente independente desse sistema. Com exceção da pravastatina e, possivelmente, da rosuvastatina, os princípios ativos das vastatinas e seus metabólitos são excretados primariamente pela bile, tendo pequena percentagem excretada pelos rins. Dependendo da dose e do tipo da vastatina usada, o colesterol-LDL pode ser reduzido de 19% a 60% em resposta aos efeitos da terapia (161). Tipicamente, seu rendimento sobre os níveis de lipídios ocorre entre uma a duas semanas, com um efeito máximo em quatro a seis semanas (160). Esse efeito hipolipemiante está associado a uma diminuição significativa da

mortalidade e da incidência de eventos cardiovasculares em pacientes não urêmicos (162) e em urêmicos (163). É interessante salientar que o impacto clínico do uso das vastatinas ocorre precocemente, sugerindo outros mecanismos de ação além dos efeitos na progressão da placa aterosclerótica, que acontecem lentamente (164).

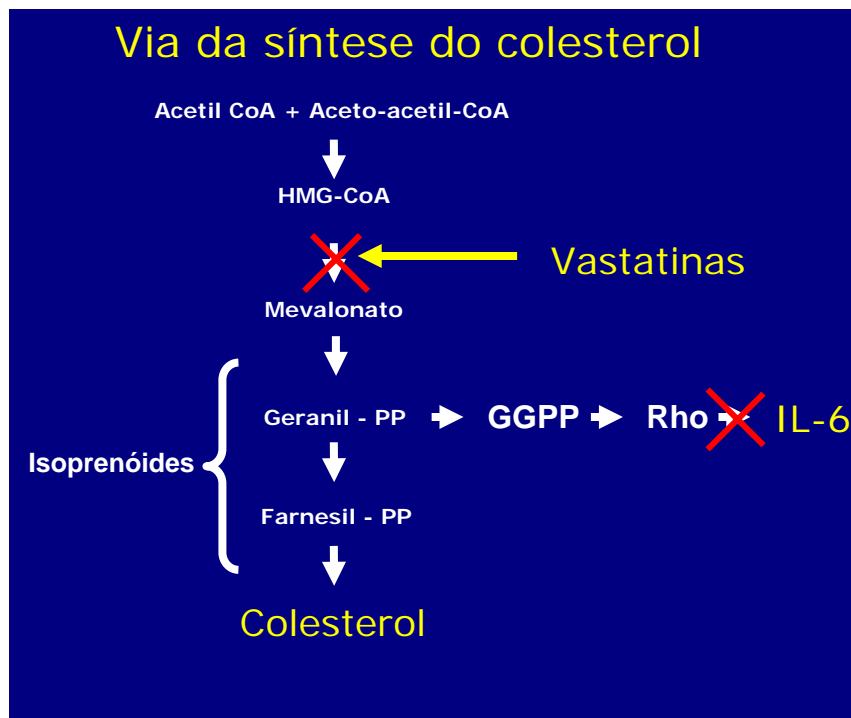


Figura 10 - Mecanismo de ação das vastatinas. Adaptado de Ito T, Cardiovasc Drugs Ther 2002;16:121-6.

1.5.1 Os efeitos pleotrópicos das vastatinas

Os inibidores da HMG-CoA redutase apresentam múltiplos efeitos além da redução do colesterol. Esses efeitos são conhecidos como pleotrópicos e incluem ações diretas sobre os vasos sanguíneos, rins, ossos e metabolismo glicêmico, entre outros.

Diferenças estruturais entre as vastatinas podem determinar a extensão dos seus efeitos pleotrópicos. Por exemplo, as vastatinas lipofílicas (sinvastatina e atorvastatina) são mais amplamente captadas por difusão passiva em uma grande variedade de tecidos e células, o que não ocorre com as estatinas hidrofílicas (pravastatina). Esse diferente perfil farmacocinético

interfere na capacidade das células não-hepáticas de transportar as vastatinas para dentro da célula (160). Na Figura 11, são apresentados os diversos efeitos pleotrópicos das vastatinas descritos até o momento.

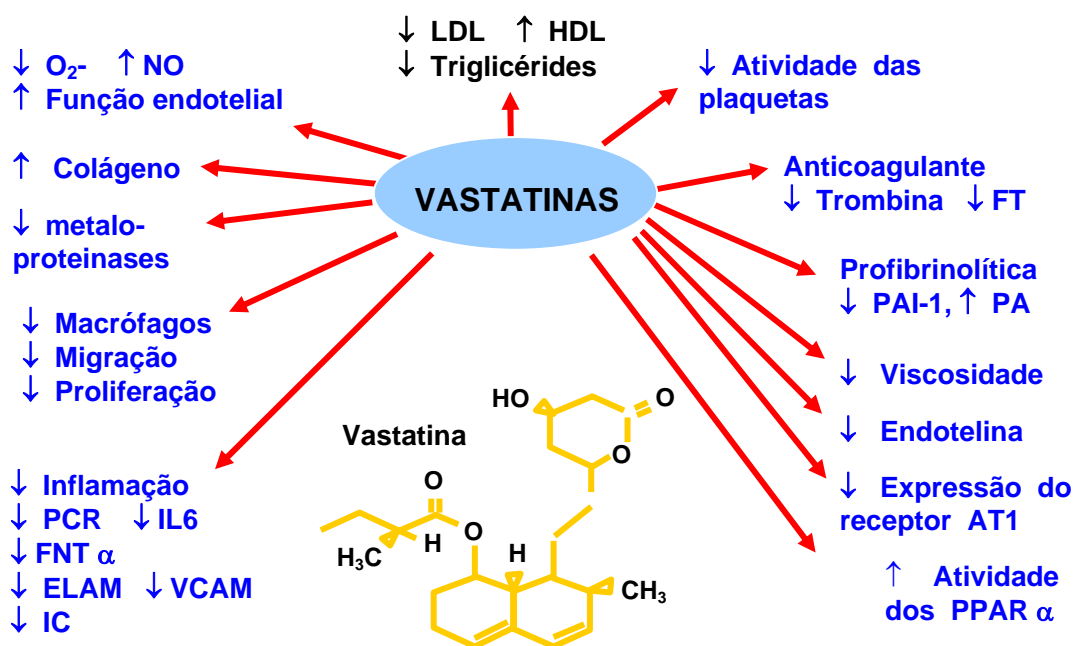


Figura 11 - Os efeitos pleotrópicos das vastatinas.

Estudos clínicos e em modelos animais (*in vitro* e *in vivo*) demonstraram a capacidade das vastatinas de reduzir o risco de DCV (162,165,166), o desenvolvimento de DM (167) e a progressão da nefropatia diabética (168), bem como a taxa de fraturas ósseas (169), benefícios esses que vão além da redução do colesterol isoladamente. Os potenciais efeitos benéficos se dão pelo impacto positivo na atenuação da inflamação e da disfunção endotelial, aumentando a produção de ON no glomérulo e no endotélio vascular.

Evidências que dão suporte aos efeitos das vastatinas, não relacionados à redução de colesterol, advêm de estudos angiográficos, que mostram melhora clínica desproporcional às modificações detectadas no tamanho das placas ateroscleróticas. Como exemplo, podemos

citar o *Familial Atherosclerosis Treatment Study* (FATS), onde o uso de vastatinas associado à colestiramina reduziu a incidência de eventos coronarianos em 70%, mas em somente 0,7%, o tamanho das lesões ateroscleróticas (170,171). Ainda, no estudo *Myocardial Ischemia Reduction With Aggressive Cholesterol Lowering* (MIRACL), as vastatinas mostraram-se efetivas em reduzir eventos isquêmicos recorrentes após uma isquemia coronariana aguda, antes mesmo do período de dezesseis semanas (164). Embora a redução do LDL-colesterol tenha sido de 40%, o intervalo de tempo provavelmente tenha sido muito pequeno para que ocorressem mudanças significativas na remodelação vascular (161). Acredita-se que esses benefícios precoces têm relação, principalmente, com a melhora da função endotelial (172,173).

As vastatinas têm uma ação sinalizadora celular independente da síntese de colesterol pela via do mevalonato, que é um produto da HMG-CoA reductase. Quando a célula é exposta às vastatinas, a função dessa enzima é inibida e, conseqüentemente, não são produzidos o mevalonato e os isoprenóides. As alterações nas funções celulares que se seguem induzem os efeitos antioxidante, antitrombótico, antiinflamatório e imunomodulador. Muitos desses efeitos são revertidos quando as células são incubadas juntamente com o mevalonato, pois seus produtos são repostos. O mevalonato produz isoprenóides que ativam várias proteínas celulares, como a Ras e Rho, que são proteínas pequenas, que se ligam ao GTP (Guanosina Trifosfato) e ciclaram entre o estado ativo e inativo do GDP (Guanosina Difosfato), permitindo que realizem suas funções (174).

Parecem existir diversos mecanismos pelos quais as vastatinas reduzem o EO. Um dos seus efeitos é sobre a NADPH oxidase. Esta é uma das maiores fontes de radical O_2^- nas coronárias humanas e sua atividade está aumentada em pacientes com DCV (175). Em modelos experimentais de ratos, a atorvastatina reduz a formação do radical O_2^- pela NADPH oxidase, induzida pela angiotensina II, tanto *in vitro* (176) quanto *in vivo* (177).

Adicionalmente, reduz a formação do radical O_2^- por monócitos em cultura, dependente de NADPH (178). Com o uso da sinvastatina, ocorre uma redução da dose dependente da geração do radical O_2^- em macrófagos humanos (179).

Paumelle e cols. (180), recentemente, sugeriram um mecanismo associado às propriedades pleotrópicas antiinflamatórias das vastatinas, mediado pelo *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α* (PPAR α). O PPAR α é um receptor nuclear que regula a expressão de genes associados à inflamação, ligando-se ao heterodímero retinóide-X (RXR) e aos elementos PPAR-responsivos (PPREs). O PPAR α regula não somente o metabolismo lipídico (181), mas também exerce atividades antiinflamatórias pronunciadas. Em nível molecular, essa ação é exemplificada pela inibição da indução de genes pró-inflamatórios e seus produtos, como a molécula VCAM-1, a IL-6 e o TNF- α (182). Do contrário, a deficiência de PPAR α induz a uma resposta inflamatória prolongada.

Foi demonstrado que o efeito inibitório das vastatinas nos genes da resposta inflamatória induzida pelos lipopolissacarídeos está abolido em macrófagos e em neutrófilos PPAR α deficientes. A sinvastatina inibe a fosforilação do PPAR α pela *lipopolysaccharide-activated protein kinase C α* (PKC α) ativada por lipopolissacarídeos. A forma ativa da PKC α inibe a trans-repressão do NF κ -B pelo PPAR α . A sinvastatina aumenta a atividade de trans-repressão da forma nativa do PPAR α , mas não do PPAR α mutado no seu sítio de fosforilação.

1.5.1.2 Efeitos sobre a adesão e recrutamento de células mononucleares

Existem diversas evidências experimentais e em humanos de que as vastatinas atuam na regulação da adesão e recrutamento de células inflamatórias. O tratamento com fluvastatina inibe a expressão de ICAM-1 em monócitos humanos (183). O uso de lovastatina reduz a adesão de monócitos dependente de CD11b (184) e produz um bloqueio seletivo da interação

entre ICAM-1 e seu ligante *lymphocyte function-associated antigen-1* (LFA-1), inibindo a adesão de linfócitos (185). Em humanos, a atorvastatina e a sinvastatina reduzem os níveis plasmáticos de ICAM-1, VCAM-1, E-selectina e P-selectina em pacientes com DAC (186). A atorvastatina reduz a expressão da MCP-1 e de interleucina-8 (IL-8), diminuindo a expressão de metaloproteinase 3 e a infiltração de macrófagos, o que parece estar relacionado com a redução da ativação do NF- κ B (187). As vastatinas não somente diminuem a infiltração de macrófagos na parede vascular, mas também reduzem a secreção de metaloproteinases e aumentam o conteúdo de colágeno na matriz da placa, tornando-a mais estável e menos vulnerável à ruptura (159). Adicionalmente, as vastatinas podem promover apoptose de células musculares lisas dos vasos, induzida por citocinas e *fatty acid synthetase* (Fas) (188).

Ação sobre os marcadores de inflamação

Em diversos modelos experimentais, as vastatinas inibiram a produção de moléculas de adesão, metaloproteinases, citocinas pró-inflamatórias como IL-6, TNF- α e interleucina-1 beta (IL-1 β), além de diminuir a atividade do NF- κ B e a expressão de genes de moléculas pró-inflamatórias (189-191). Estudos em humanos demonstraram que essas drogas reduzem os níveis séricos de Pcr em pacientes dislipidêmicos (192) e em pacientes urêmicos (193), o que não foi relacionado com a magnitude da redução dos lipídios séricos. Os mecanismos antiinflamatórios das vastatinas podem estar associados ou ser independentes da redução dos lipídios.

1.5.1.3.1 Mecanismos antiinflamatórios relacionados à redução dos lipídios

A redução dos lipídios séricos pelos inibidores da HMG-CoA também contribui de forma indireta para os seus efeitos antiinflamatórios. Sabe-se que a hipercolesterolemia - particularmente o LDL oxidado - tem efeitos pró-inflamatórios via CD40 e seu ligante CD40-L, ativando o NF- κ B e as metaloproteinases (159,187).

A hipercolesterolemia aumenta a ativação da NF- κ B, a expressão de moléculas de adesão e favorece a infiltração de macrófagos nas paredes vasculares (188-190). Aikawa e cols. (191), em modelo animal de coelho com aterosclerose, observaram que restrições dietéticas produziam redução da expressão de CD40 e CD40L e infiltração de macrófagos. É possível, então, que a redução dos lipídios pelas vastatinas contribua, de forma indireta, para minimizar o processo inflamatório característico da aterosclerose.

1.5.1.3.2 Mecanismos antiinflamatórios independentes da redução dos lipídios

A inibição dos isoprenóides pelas vastatinas, que são compostos intermediários da síntese do colesterol, tais como farnesilpirofosfato (FPP) e geranylgeranylpirofosfato (GGPP), também é descrita como mecanismo inibitório de inflamação (192). A isoprenilação protéica induz ligação covalente e trânsito de proteínas de membrana de localização subcelular. Os isoprenóides atuam como ligantes de lipídios em modificações translacionais de uma variedade de proteínas, incluindo a Ras, Ras-like e Rho (193). Como já mencionado, Ras e Rho são proteínas pequenas que se ligam ao GTP e ciclam entre o estado ativo e inativo do GDP. Nas células endoteliais, a translocação da Ras do citoplasma para a membrana plasmática depende da farnelização, contudo a translocação da Rho é dependente da geranylgeranilação. As vastatinas inibem a isoprenilação da Ras e da Rho, levando a um

acúmulo de formas inativas no citoplasma, com conseqüente redução da expressão de genes associados à proliferação e migração de células e também da apoptose (159). Como a Rho é o maior alvo da geranylgeranilização, a sua inibição é um mecanismo mediador de alguns efeitos pleotrópicos das vastatinas na parede vascular (194), afetando o transporte intracelular, a estabilidade do ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) e a transcrição genética (161). Outros estudos sugerem, também, a existência desses efeitos sobre os leucócitos (195) e os ossos (196).

A atorvastatina reduz, diretamente, a expressão do MCP-1 e IL-8, bem como a ativação do NF-kB induzido pela angiotensina II e TNF- α em cultura de monócitos e de células musculares lisas dos vasos (197). Estes efeitos estão relacionados à inibição de componentes da rota de síntese do mevalonato, como FPP e GGPP, que restabelecem a inibição da atividade da NF-kB induzida pela atorvastatina.

As vastatinas também modulam a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 β , a IL-6 e a ciclooxigenase-2 (COX-2), através do estímulo do PPAR α em células endoteliais (198).

1.5.2 Efeitos na disfunção endotelial

Diversos estudos têm demonstrado que as vastatinas restabelecem a função endotelial antes de produzirem uma redução significativa nos níveis séricos de colesterol (199-201), sugerindo efeitos independentes da ação hipolipemiante.

Dentre esses efeitos, mostrou-se que as vastatinas aumentam a biossíntese e a biodisponibilidade do ON, melhorando a disfunção endotelial em curto prazo (200). Postula-se, como possíveis mecanismos, o aumento da expressão do gen da síntese do ON e

diminuição da produção do radical O_2^- , além dos efeitos primários benéficos da redução dos lipídios séricos sobre a função do endotélio (159,188).

As vastatinas aumentam a biodisponibilidade do ON, estimulando a enzima ON sintetase (eNOS) (202-204), o que também ocorre pela inibição da Rho. Estimulando a expressão e atividade da eNOS, ocorre um aumento do fluxo sanguíneo cerebral e redução do tamanho das áreas de infarto, em níveis que não são clinicamente detectáveis (202,203). Em um grande estudo clínico, o uso de vastatinas foi associado com uma redução significativa da incidência de acidente vascular cerebral isquêmico (205).

Também foram descritos aumento da expressão do ativador do plasminogênio tecidual (206) e inibição da expressão da endotelina-1, um potente vasoconstrictor e mitógeno (207).

Outro potencial mecanismo pelo qual as vastatinas melhoram a função endotelial é seu efeito antioxidante. Em um estudo experimental com ratos, as vastatinas melhoraram o relaxamento endotelial pela inibição da produção de ERMO, como o íon O_2^- e o radical OH^- (204).

1.5.3 Outros efeitos das vastatinas

As vastatinas influenciam os níveis de diversos elementos do processo trombogênico. Têm efeitos sobre fatores pró-trombóticos, como o fator tecidual, a agregação plaquetária, a viscosidade sanguínea e plasmática, o fibrinogênio, o inibidor da ativação do plasminogênio-1 (PAI-1) e a lipoproteína (a) (208). Essas drogas podem normalizar a geração de trombina e reduzir a agregação plaquetária em pacientes hipercolesterolêmicos (209).

Níveis elevados de fibrinogênio e aumento da viscosidade plasmática podem contribuir para um risco aumentado de eventos cardiovasculares em pacientes com ou sem DAC

estabelecida (209,210). Igualmente, níveis elevados de PAI-1 estão associados a estado de hipercoagulabilidade sangüínea, e as vastatinas reduzem os níveis séricos de PAI-1 (211).

As vastatinas podem mediar a neovascularização através da ativação da serina-treonina quinase vascular, efeito esse demonstrado em coelhos tratados com sinvastatina (203). Ocorre mobilização de células progenitoras endoteliais (EPCs) da medula óssea, que têm um importante papel na manutenção da vasculogênese (212). O uso das vastatinas está associado com aumento das EPCs em pacientes com DAC (213).

Recentes avanços na compreensão das ações celulares das vastatinas facilitaram o entendimento dos seus mecanismos sobre o metabolismo da glicose e sensibilidade à insulina. Esses fármacos interferem na liberação de substrato para tecidos sensíveis à insulina, ou podem modular cascatas sinalizadoras ativadas pela insulina que regulam a utilização de glicose. Aumentando a expressão da eNOS, as vastatinas ocasionam aumento no recrutamento e eliminação capilar da glicose (214).

Muitos estudos têm demonstrado que as vastatinas têm efeitos na remodelação óssea, inibindo a reabsorção e estimulando a formação óssea (196,215).

Finalmente, as vastatinas apresentam efeitos na imunomodulação, principalmente, através da inibição do recrutamento e ativação de células imunocompetentes e da expressão de antígenos do complexo maior de histocompatibilidade de classe II (216).

1.6 Uso clínico das vastatinas em pacientes com doença renal crônica

Não existem definições sobre o uso clínico de vastatinas em pacientes com DRC em tratamento conservador ou dialítico, com o objetivo de reduzir inflamação e estresse EO, medidas que poderiam conferir proteção contra a aterosclerose e modificar desfechos pesados, como mortalidade global e cardiovascular (163). Especula-se que essas drogas poderiam ter

efeitos de nefroproteção e, assim, poderiam retardar a progressão da DRC, embora, em recente metaanálise, isso não tenha sido demonstrado (217). Também não existem definições sobre vantagens de um tipo específico de vastatina e sobre qual a dose ideal a ser administrada em pacientes com DRC.

Até o momento, são poucos os estudos sobre os efeitos antiinflamatórios e de redução do EO das vastatinas em pacientes em fases mais iniciais da DRC até a fase pré-dialítica.

Os estudos clínicos iniciais sobre o uso de vastatinas em renais crônicos foram conflitantes. Chang e cols. (218), em estudo randomizado e controlado, estudaram o efeito em curto prazo (8 semanas), da sinvastatina, na dose de 20 mg/dia, em 62 pacientes em HD, sobre os níveis séricos de PcR, albumina, malondialdeído e D-dímeros, avaliando inflamação, LPO e trombose intravascular, respectivamente. A administração de sinvastatina não modificou os níveis de malondialdeído e dos D-dímeros, mas houve uma diferença significativa, em relação aos controles, na redução da PcR e na elevação da albumina. Por outro lado, van den Akker e cols. (192), em estudo não controlado, com atorvastatina e sinvastatina, por dezoito semanas, em 28 pacientes em HD, não observaram diferença nos níveis de PcR pós-tratamento, mas houve uma redução estatisticamente significativa do LDL oxidado.

Estudos mais recentes em renais crônicos em HD, ainda com número limitado de pacientes, mas utilizando vastatinas por períodos semelhantes e também avaliando PCR e LDL oxidado, entre outros parâmetros, têm demonstrado, consistentemente, uma redução nos níveis da PcR pós-tratamento da ordem de 30 a 50% (219-221).

Contudo, é importante reconhecer que esses efeitos são relativamente modestos e que o impacto clínico nessa população de pacientes ainda não foi determinado. Adicionalmente, em alguns estudos, foram documentados em combinação com outros tratamentos convencionais, como inibidores da enzima conversora da angiotensina (222) e inibidores do receptor da angiotensina II (223). Entretanto, o uso de vastatinas tem se difundido como medida cardio e,

possivelmente, nefroprotetora, em combinação com outras terapêuticas, como dieta, antiadesivos plaquetários, vasodilatadores e antioxidantes. Dessa forma, entre as opções terapêuticas para pacientes com DRC, população de alto risco para eventos cardiovasculares, a inclusão de uma vastatina deve ser considerada e, mais importante, adequadamente testada em estudos clínicos de longa duração.

Com base nesse contexto, são objetivos deste estudo avaliar a influência do uso de sinvastatina nos níveis séricos de marcadores inflamatórios e verificar o seu efeito sobre o estresse EO em pacientes com DRC em tratamento conservador, correlacionando esses resultados com parâmetros clínicos, laboratoriais e com o estado nutricional desses pacientes.

2 JUSTIFICATIVA

A doença renal crônica (DRC) atinge hoje proporções epidêmicas e constitui um problema emergente de saúde pública. Fatores de risco comuns para o desenvolvimento da uremia e da doença cardiovascular (DCV) resultam na elevada incidência de eventos cardiovasculares que são a principal causa de morte nessa população de pacientes.

O desenvolvimento de aterosclerose acelerada está relacionado a fatores de risco tradicionais, como diabetes melito, hipertensão arterial, dislipidemia e tabagismo, mas, recentemente, tem se verificado que outros fatores não-tradicionais também estão fortemente associados a ela. Entre esses fatores, inflamação, estresse oxidativo (EO), hiperhomocisteinemia, disfunção endotelial e a uremia *per se* são identificados mesmo em estágios iniciais da DRC. Marcadores de risco cardiovascular conhecidos vêm sendo alvos de intensa pesquisa, como a proteína C reativa (PcR), o fibrinogênio e a homocisteína. Pesquisas experimentais e clínicas têm investigado a importância do óxido nítrico na disfunção endotelial, os mecanismos geradores de espécies ativas de oxigênio e da redução da capacidade antioxidante e, também, de outros mecanismos como a influência de infecções persistentes, a hiperatividade do sistema renina-angiotensina-aldosterona e a inibição da enzima óxido nítrico sintetase pela dimetilarginina assimétrica. Esses fatores em conjunto têm sido associados com o desenvolvimento de desnutrição e de aterosclerose acelerada, condições muito prevalentes na população de urêmicos, e que resultam em DCV e em elevada morbimortalidade.

Nesse contexto, necessitam-se medidas preventivas e terapêuticas custo-efetivas para redução de risco cardiovascular, estando as vastatinas entre as mais importantes. Diversos estudos demonstraram que as vastatinas, além do efeito hipolipemiante, têm efeitos pleotrópicos, inibindo a produção de citocinas pró-inflamatórias, assim reduzindo a

inflamação, quantificada pela queda dos níveis séricos de PcR, e também diminuindo o EO, o que já foi demonstrado por menores níveis de LDL oxidado e de carbonilas pós tratamento. Esses efeitos têm sido reproduzidos em renais crônicos, tanto na fase pré dialítica como durante o tratamento diálítico.

Até o momento, não existem definições sobre o uso clínico de vastatinas em pacientes com DRC em tratamento conservador ou dialítico, com o objetivo de reduzir inflamação e EO. Também não existem definições sobre vantagens de um tipo específico de vastatina, tempo de tratamento, bem como a respeito da dose mais segura e eficaz.

Dessa forma, este estudo se propõe avaliar, em nosso meio, a influência do uso de uma vastatina nos níveis séricos de marcadores inflamatórios, bem como verificar o seu efeito sobre medidas de EO, em pacientes com DRC, estágios 3 e 4.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo primário

Avaliar a influência do uso de sinvastatina nos níveis séricos de marcadores inflamatórios e do estresse oxidativo em pacientes com doença renal crônica, estágios 3 e 4, correlacionando esses efeitos com parâmetros clínico-laboratoriais.

3.2 Objetivo secundário

- Avaliar as interações da presença de diabetes melito, desnutrição, uso de I-ECA ou BRA-II e hipercolesterolemia sobre a resposta ao tratamento (sinvastatina ou placebo), medida pela evolução da proteína C reativa, fibrinogênio, carbonilas e atividade antioxidante total.

4 REFERÊNCIAS

1. Thomé FS, Manfro RC, Barros EJG, Prompt CA, Karohl C. Insuficiência Renal Crônica. In: Barros E MR, Thomé FS, Gonçalves LFS, ed. Nefrologia, Rotinas, Diagnóstico e Tratamento. 2ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul Ltda.; 1999:423-40.
2. Mitch WE, Brenner BM, Stein JH. The Progressive Nature of Renal Disease. Contemporary Issues in Nephrology. Camden Town (UK): Churchill Livingstone Inc; 1986.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002;39(2 Suppl 1):S1-266.
4. Coresh J, Byrd-Holt D, Astor BC, Briggs JP, Eggers PW, Lacher DA, et al. Chronic kidney disease awareness, prevalence, and trends among U.S. adults, 1999 to 2000. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(1):180-8.
5. <http://www.sbn.org.br/Publico/midia/midia1.htm>. Acessado em maio de 2006.
6. Barros E, Manfro RC, Thomé FS, Gonçalves LFS. Nefrologia – Rotinas, Diagnóstico e Tratamento. 3ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul Ltda; 2006.
7. United States Renal Data Systems, USRDS 2006 Annual Data Report: Atlas of end-stage renal disease in the United States, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. http://www.usrds.org/2006/ref/H_morte_06.pdf (acessado em julho de 2006).
8. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998;32(5 Suppl 3):S112-9.
9. Levey AS, Beto JA, Coronado BE, Eknoyan G, Foley RN, Kasiske BL, et al. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: what do we know? What do we need to learn? Where do we go from here? National Kidney

- Foundation Task Force on Cardiovascular Disease. *Am J Kidney Dis* 1998;32(5):853-906.
10. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culleton B, Hamm LL, et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Hypertension* 2003;42(5):1050-65.
 11. Culleton BF, Larson MG, Wilson PW, Evans JC, Parfrey PS, Levy D. Cardiovascular disease and mortality in a community-based cohort with mild renal insufficiency. *Kidney Int* 1999;56(6):2214-9.
 12. Manjunath G, Tighiouart H, Coresh J, Macleod B, Salem DN, Griffith JL, et al. Level of kidney function as a risk factor for cardiovascular outcomes in the elderly. *Kidney Int* 2003;63(3):1121-9.
 13. Mann JF, Gerstein HC, Pogue J, Bosch J, Yusuf S. Renal insufficiency as a predictor of cardiovascular outcomes and the impact of ramipril: the HOPE randomized trial. *Ann Intern Med* 2001;134(8):629-36.
 14. Muntner P, He J, Hamm L, Loria C, Whelton PK. Renal insufficiency and subsequent death resulting from cardiovascular disease in the United States. *J Am Soc Nephrol* 2002;13(3):745-53.
 15. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999; 130(6): 461-70.

16. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004;351(13):1296-305.
17. Yaqoob MM. Emerging cardiovascular risk factors in end-stage renal disease. *J Nephrol* 2002;15(2):205-8.
18. Henry RM, Kostense PJ, Bos G, Dekker JM, Nijpels G, Heine RJ, et al. Mild renal insufficiency is associated with increased cardiovascular mortality: The Hoorn Study. *Kidney Int* 2002;62(4):1402-7.
19. Rattazzi M, Puato M, Faggini E, Bertipaglia B, Grego F, Pauletto P. New markers of accelerated atherosclerosis in end-stage renal disease. *J Nephrol* 2003;16(1):11-20.
20. Shlipak MG, Fried LF, Cushman M, Manolio TA, Peterson D, Stehman-Breen C, et al. Cardiovascular mortality risk in chronic kidney disease: comparison of traditional and novel risk factors. *JAMA* 2005;293(14):1737-45.
21. Stenvinkel P. Inflammatory and atherosclerotic interactions in the depleted uremic patient. *Blood Purif* 2001;19(1):53-61.
22. Lindner A, Charra B, Sherrard DJ, Scribner BH. Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 1974;290(13):697-701.
23. Papagianni A, Kalovoulos M, Kirmizis D, Vainas A, Belechri AM, Alexopoulos E, et al. Carotid atherosclerosis is associated with inflammation and endothelial cell adhesion molecules in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(1):113-9.
24. Stenvinkel P, Heimburger O, Paultre F, Diczfalusy U, Wang T, Berglund L, et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999;55(5):1899-911.

25. Koenig W. Update on C-reactive protein as a risk marker in cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl* 2003(84):S58-61.
26. Arici M, Walls J. End-stage renal disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality: is C-reactive protein the missing link? *Kidney Int* 2001;59(2):407-14.
27. Stenvinkel P, Pecoits-Filho R, Lindholm B. Coronary artery disease in end-stage renal disease: no longer a simple plumbing problem. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(7):1927-39.
28. Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield TC. C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *Bmj* 1996;312(7038):1061-5.
29. Yeun JY, Levine RA, Mantadilok V, Kaysen GA. C-Reactive protein predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2000;35(3):469-76.
30. Zoccali C, Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Fermo I, Foca A, et al. Inflammation is associated with carotid atherosclerosis in dialysis patients. Creed Investigators. Cardiovascular Risk Extended Evaluation in Dialysis Patients. *J Hypertens* 2000;18(9):1207-13.
31. Haubitz M, Brunkhorst R. C-reactive protein and chronic Chlamydia pneumoniae infection--long-term predictors for cardiovascular disease and survival in patients on peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16(4):809-15.
32. Stenvinkel P, Heimbürger O, Jogestrand T, Karnell A, Samuelsson A. Does persistent infection with Chlamydia pneumoniae increase the risk of atherosclerosis in chronic renal failure? *Kidney Int* 1999;55(6):2531-2.
33. Herbelin A, Urena P, Nguyen AT, Zingraff J, Descamps-Latscha B. Elevated circulating levels of interleukin-6 in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 1991;39(5):954-60.

34. Panichi V, Migliori M, De Pietro S, Taccola D, Bianchi AM, Giovannini L, et al. C-reactive protein and interleukin-6 levels are related to renal function in predialytic chronic renal failure. *Nephron* 2002;91(4):594-600.
35. Erdogan C, Unlucerci Y, Turkmen A, Kuru A, Cetin O, Bekpinar S. The evaluation of oxidative stress in patients with chronic renal failure. *Clin Chem Acta* 2002;322(1-2):157-61.
36. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340(2):115-26.
37. Amann K, Tyralla K, Gross ML, Eifert T, Adamczak M, Ritz E. Special characteristics of atherosclerosis in chronic renal failure. *Clin Nephrol* 2003;60 Suppl 1:S13-21.
38. Lawson JA, Lazarus R, Kelly JJ. Prevalence and prognostic significance of malnutrition in chronic renal insufficiency. *J Ren Nutr* 2001;11(1):16-22.
39. Stenvinkel P, Barany P, Chung SH, Lindholm B, Heimbürger O. A comparative analysis of nutritional parameters as predictors of outcome in male and female ESRD patients. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(7):1266-74.
40. Heimbürger O, Qureshi AR, Blazer WS, Berglund L, Stenvinkel P. Hand-grip muscle strength, lean body mass, and plasma proteins as markers of nutritional status in patients with chronic renal failure close to start of dialysis therapy. *Am J Kidney Dis* 2000;36(6):1213-25.
41. Bergstrom J., Lindholm B. Nutrition and adequacy of dialysis. How do hemodialysis and CAPD compare? *Kidney Int.* 1993; 43: 439-550.
42. Modification of diet in renal disease (MDRD) study group. (Prepared by Kopple DJ, Greene T, Chumlea C, Hollinger D, Maroni BJ, Merrill D, et al. Relationship between nutritional status and the filtration rate: results from the MDRD Study. *Kidney Int.* 2000; 57: 1688-1703.

43. Kopple JD. Pathophysiology of protein-energy wasting in chronic renal failure. *J Nutr*. 1999; 129: S247-51.
44. Lim VS, Kopple JD: Protein metabolism in patients with chronic renal failure: Role of uremia and dialysis. *Kidney Int*.2000; 58:1-10.
45. Acchiardo SR, Moore LW, Latour PA. Malnutrition as the main factor in morbidity and mortality of hemodialysis patients. *Kidney Int Suppl* 1983;16:S199-203.
46. Obrador GT, Ruthazer R, Arora P, Kausz AT, Pereira BJ. Prevalence of and factors associated with suboptimal care before initiation of dialysis in the United States. *J Am Soc Nephrol* 1999;10(8):1793-800.
47. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999;55(2):648-58.
48. Kaysen GA, Dubin JA, Muller HG, Rosales LM, Levin NW. The acute-phase response varies with time and predicts serum albumin levels in hemodialysis patients. The HEMO Study Group. *Kidney Int* 2000;58(1):346-52.
49. Menon V, Greene T, Wang X, Pereira AA, Marcovina SM, Beck GJ, et al. C-reactive protein and albumin as predictors of all-cause and cardiovascular mortality in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2005;68(2):766-72.
50. Bergstrom J, Lindholm B. Malnutrition, cardiac disease, and mortality: an integrated point of view. *Am J Kidney Dis* 1998;32(5):834-41.
51. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergstrom J. 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.

52. Kalantar-Zadeh K, Ikizler TA, Block G, Avram MM, Kopple JD. Malnutrition-inflammation complex syndrome in dialysis patients: causes and consequences. *Am J Kidney Dis* 2003;42(5):864-81.
53. Kalantar-Zadeh K, Kopple JD, Humphreys MH, Block G. Comparing outcome predictability of markers of malnutrition-inflammation complex syndrome in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(6):1507-19.
54. Owen WF, Jr., Lew NL, Liu Y, Lowrie EG, Lazarus JM. 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.
55. Bologa RM, Levine DM, Parker TS, Cheigh JS, Serur D, Stenzel KH, et al. Interleukin-6 predicts hypoalbuminemia, hypocholesterolemia, and mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998;32(1):107-14.
56. Kaizu Y, Kimura M, Yoneyama T, Miyaji K, Hibi I, Kumagai H. Interleukin-6 may mediate malnutrition in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998;31(1):93-100.
57. Kaizu Y, Ohkawa S, Odamaki M, Ikegaya N, Hibi I, Miyaji K, et al. Association between inflammatory mediators and muscle mass in long-term hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2003;42(2):295-302.
58. Bergstrom J. Mechanisms of uremic suppression of appetite. *J Ren Nutr* 1999;9(3):129-32.
59. Guttridge DC, Mayo MW, Madrid LV, Wang CY, Baldwin AS, Jr. NF-kappaB-induced loss of MyoD messenger RNA: possible role in muscle decay and cachexia. *Science* 2000;289(5488):2363-6.

60. Mitch WE, Du J, Bailey JL, Price SR. Mechanisms causing muscle proteolysis in uremia: the influence of insulin and cytokines. *Miner Electrolyte Metab* 1999;25(4-6):216-9.
61. Grunfeld C, Zhao C, Fuller J, Pollack A, Moser A, Friedman J, et al. Endotoxin and cytokines induce expression of leptin, the ob gene product, in hamsters. *J Clin Invest* 1996;97(9):2152-7.
62. Young GA, Woodrow G, Kendall S, Oldroyd B, Turney JH, Brownjohn AM, et al. Increased plasma leptin/fat ratio in patients with chronic renal failure: a cause of malnutrition? *Nephrol Dial Transplant* 1997;12(11):2318-23.
63. Odamaki M, Furuya R, Yoneyama T, Nishikino M, Hibi I, Miyaji K, et al. Association of the serum leptin concentration with weight loss in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1999;33(2):361-8.
64. Merabet E, Dagogo-Jack S, Coyne DW, Klein S, Santiago JV, Hmiel SP, et al. Increased plasma leptin concentration in end-stage renal disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(3):847-50.
65. Dagogo-Jack S, Ovalle F, Landt M, Gearing B, Coyne DW. Hyperleptinemia in patients with end-stage renal disease undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1998;18(1):34-40.
66. Stenvinkel P, Pecoits-Filho R, Lindholm B. Gene polymorphism association studies in dialysis: the nutrition-inflammation axis. *Semin Dial* 2005;18(4):322-30.
67. Pecoits-Filho R, Nordfors L, Lindholm B, Hoff CM, Schalling M, Stenvinkel P. Genetic approaches in the clinical investigation of complex disorders: malnutrition, inflammation, and atherosclerosis (MIA) as a prototype. *Kidney Int Suppl* 2003(84):S162-7.

68. Volanakis JE. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol* 2001;38(2-3):189-97.
69. Du Clos TW. Function of C-reactive protein. *Ann Med* 2000;32(4):274-8.
70. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000;342(12):836-43.
71. Pepys MB, Baltz ML. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. *Adv Immunol* 1983;34:141-212.
72. Potempa LA, Maldonado BA, Laurent P, Zemel ES, Gewurz H. Antigenic, electrophoretic and binding alterations of human C-reactive protein modified selectively in the absence of calcium. *Mol Immunol* 1983;20(11):1165-75.
73. Schwedler SB, Filep JG, Galle J, Wanner C, Potempa LA. C-reactive protein: a family of proteins to regulate cardiovascular function. *Am J Kidney Dis* 2006;47(2):212-22.
74. Wang AY, Woo J, Lam CW, Wang M, Sea MM, Lui SF, et al. Is a single time point C-reactive protein predictive of outcome in peritoneal dialysis patients? *J Am Soc Nephrol* 2003;14(7):1871-9.
75. Nascimento MM, Pecoits-Filho R, Qureshi AR, Hayashi SY, Manfro RC, Pachaly MA, et al. The prognostic impact of fluctuating levels of C-reactive protein in Brazilian haemodialysis patients: a prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(11):2803-9.
76. Jialal I, Devaraj S, Venugopal SK. C-reactive protein: risk marker or mediator in atherothrombosis? *Hypertension* 2004;44(1):6-11.
77. Jialal I, Devaraj S. Role of C-reactive protein in the assessment of cardiovascular risk. *Am J Cardiol* 2003;91(2):200-2.

78. Jialal I, Stein D, Balis D, Grundy SM, Adams-Huet B, Devaraj S. Effect of hydroxymethyl glutaryl coenzyme a reductase inhibitor therapy on high sensitive C-reactive protein levels. *Circulation* 2001;103(15):1933-5.
79. Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 2001;158(3):1039-51.
80. Torzewski M, Rist C, Mortensen RF, Zwaka TP, Bienek M, Waltenberger J, et al. C-reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(9):2094-9.
81. Li L, Roumeliotis N, Sawamura T, Renier G. C-reactive protein enhances LOX-1 expression in human aortic endothelial cells: relevance of LOX-1 to C-reactive protein-induced endothelial dysfunction. *Circ Res* 2004;95(9):877-83.
82. Morrow DA, Rifai N, Antman EM, Weiner DL, McCabe CH, Cannon CP, et al. C-reactive protein is a potent predictor of mortality independently of and in combination with troponin T in acute coronary syndromes: a TIMI 11A substudy. *Thrombolysis in Myocardial Infarction. J Am Coll Cardiol* 1998;31(7):1460-5.
83. Torzewski J, Torzewski M, Bowyer DE, Frohlich M, Koenig W, Waltenberger J, et al. C-reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18(9):1386-92.
84. Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nishida M, Kumada M, et al. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation* 2003;107(5):671-4.

85. Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Human neurons generate C-reactive protein and amyloid P: upregulation in Alzheimer's disease. *Brain Res* 2000;887(1):80-9.
86. Malyszko J, Malyszko JS, Mysliwiec M. Comparison of hemostatic disturbances between patients on CAPD and patients on hemodialysis. *Perit Dial Int* 2001;21(2):158-65.
87. Bolton CH, Downs LG, Victory JG, Dwight JF, Tomson CR, Mackness MI, et al. Endothelial dysfunction in chronic renal failure: roles of lipoprotein oxidation and pro-inflammatory cytokines. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16(6):1189-97.
88. Citak A, Emre S, Sairin A, Bilge I, Nayir A. Hemostatic problems and thromboembolic complications in nephrotic children. *Pediatr Nephrol* 2000;14(2):138-42.
89. Symonides B, Januszewicz A, Rowinski O, Januszewicz M, Chodakowska J, Berent H, et al. Plasma fibrinogen as a risk factor for restenosis after percutaneous transluminal renal angioplasty in patients with atherosclerotic renal artery stenosis. *J Cardiovasc Risk* 1999;6(4):269-72.
90. Bickel C, Rupprecht HJ, Blankenberg S, Klein C, Schlitt A, Ripplin G, et al. Relation of markers of inflammation (C-reactive protein, fibrinogen, von Willebrand factor, and leukocyte count) and statin therapy to long-term mortality in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2002;89(8):901-8.
91. Descamps-Latscha B, Herbelin A, Nguyen AT, Roux-Lombard P, Zingraff J, Moynot 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;154(2):882-92.

92. Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis* 2000;148(2):209-14.
93. Stenvinkel P, Heimbürger O, Jogestrand T. Elevated interleukin-6 predicts progressive carotid artery atherosclerosis in dialysis patients: association with Chlamydia pneumoniae seropositivity. *Am J Kidney Dis* 2002;39(2):274-82.
94. Stenvinkel P, Barany P, Heimbürger O, Pecoits-Filho R, Lindholm B. Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: what is the role of interleukin-6? *Kidney Int Suppl* 2002(80):103-8.
95. Darley-Usmar V, Halliwell B. Blood radicals: reactive nitrogen species, reactive oxygen species, transition metal ions, and the vascular system. *Pharm Res* 1996;13(5):649-62.
96. Del Maestro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand Suppl* 1980;492:153-68.
97. Ward RA, McLeish KR. Oxidant stress in hemodialysis patients: what are the determining factors? *Artif Organs* 2003;27(3):230-6.
98. Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int* 2002;62(5):1524-38.
99. Halliwell B. Antioxidants: the basics--what they are and how to evaluate them. *Adv Pharmacol* 1997;38:3-20.
100. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994;74(1):139-62.
101. Halliwell B, Gutteridge JCM. Free Radicals in Biology and Medicine. 3th ed. New York: Oxford University Press; 1999.

102. Sies H. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic Biol Med* 1999;27(9-10):916-21.
103. Tepel M, Echelmeyer M, Orle NN, Zidek W. Increased intracellular reactive oxygen species in patients with end-stage renal failure: effect of hemodialysis. *Kidney Int* 2000;58(2):867-72.
104. Morena M, Cristol JP, Senecal L, Leray-Moragues H, Krierer D, Canaud B. Oxidative stress in hemodialysis patients: is NADPH oxidase complex the culprit? *Kidney Int Suppl* 2002(80):109-14.
105. Miyata T, Kurokawa K, van Ypersele de Strihou C. Relevance of oxidative and carbonyl stress to long-term uremic complications. *Kidney Int Suppl* 2000;76:S120-5.
106. Hirayama A, Nagase S, Gotoh M, Takemura K, Tomida C, Ueda A, et al. Hemodialysis does not influence the peroxidative state already present in uremia. *Nephron* 2000;86(4):436-40.
107. Salomon RG, Kaur K, Podrez E, Hoff HF, Krushinsky AV, Sayre LM. HNE-derived 2-pentylpyrroles are generated during oxidation of LDL, are more prevalent in blood plasma from patients with renal disease or atherosclerosis, and are present in atherosclerotic plaques. *Chem Res Toxicol* 2000;13(7):557-64.
108. Ceballos-Picot I, Witko-Sarsat V, Merad-Boudia M, Merad-Boudia M, Nguyen AT, Thevenin M, et al. Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radic Biol Med* 1996;21(6):845-53.
109. Horkko S, Savolainen MJ, Kervinen K, Kesaniemi YA. Carbamylation-induced alterations in low-density lipoprotein metabolism. *Kidney Int* 1992;41(5):1175-81.
110. Kaysen GA, Eiserich JP. The role of oxidative stress-altered lipoprotein structure and function and microinflammation on cardiovascular risk in patients with minor renal dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2004;15(3):538-48.

111. Quinn MT, Parthasarathy S, Steinberg D. Endothelial cell-derived chemotactic activity for mouse peritoneal macrophages and the effects of modified forms of low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;82(17):5949-53.
112. Wratten ML, Tetta C, Ursini F, Sevanian A. Oxidant stress in hemodialysis: prevention and treatment strategies. *Kidney Int Suppl* 2000;76:S126-32.
113. Harada-Shiba M, Kinoshita M, Kamido H, Shimokado K. Oxidized low density lipoprotein induces apoptosis in cultured human umbilical vein endothelial cells by common and unique mechanisms. *J Biol Chem* 1998;273(16):9681-7.
114. Galle J, Schneider R, Heinloth A, Wanner C, Galle PR, Conzelmann E, et al. Lp(a) and LDL induce apoptosis in human endothelial cells and in rabbit aorta: role of oxidative stress. *Kidney Int* 1999;55(4):1450-61.
115. Bianchi PD, Barp J, Belló-Klein A, Menna Barreto SS, Thomé FS. Avaliação de antioxidantes em doentes renais crônicos em hemodiálise. In Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental 2003, 18^a, Pinhais. Programa e Resumos, São Paulo: FESBE, 2003 no. 07.001 - CD-ROM.
116. Miyata T, Sugiyama S, Saito A, Kurokawa K. Reactive carbonyl compounds related uremic toxicity ("carbonyl stress"). *Kidney Int Suppl* 2001;78:S25-31.
117. Miyata T, Inagi R, Iida Y, Sato M, Yamada N, Oda O, et al. Involvement of beta 2-microglobulin modified with advanced glycation end products in the pathogenesis of hemodialysis-associated amyloidosis. Induction of human monocyte chemotaxis and macrophage secretion of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1. *J Clin Invest* 1994;93(2):521-8.
118. Miyata T, Iida Y, Ueda Y, Shinzato T, Seo H, Monnier VM, et al. Monocyte/macrophage response to beta 2-microglobulin modified with advanced glycation end products. *Kidney Int* 1996;49(2):538-50.

119. Iida Y, Miyata T, Inagi R, Sugiyama S, Maeda K. Beta 2-microglobulin modified with advanced glycation end products induces interleukin-6 from human macrophages: role in the pathogenesis of hemodialysis-associated amyloidosis. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;201(3):1235-41.
120. Hangaishi M, Taguchi J, Miyata T, Ikari Y, Togo M, Hashimoto Y, et al. Increased aggregation of human platelets produced by advanced glycation end products in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;248(2):285-92.
121. Satoh H, Togo M, Hara M, Miyata T, Han K, Maekawa H, et al. Advanced glycation endproducts stimulate mitogen-activated protein kinase and proliferation in rabbit vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;239(1):111-5.
122. Annuk M, Zilmer M, Lind L, Linde T, Fellstrom B. Oxidative stress and endothelial function in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2001;12(12):2747-52.
123. Shoji T, Emoto M, Tabata T, Kimoto E, Shinohara K, Maekawa K, et al. Advanced atherosclerosis in predialysis patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 2002;61(6):2187-92.
124. Tepel M, van der Giet M, Statz M, Jankowski J, Zidek W. The antioxidant acetylcysteine reduces cardiovascular events in patients with end-stage renal failure: a randomized, controlled trial. *Circulation* 2003;107(7):992-5.
125. Boaz M, Smetana S, Weinstein T, Matas Z, Gafter U, Iaina A, et al. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2000;356(9237):1213-8.
126. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med* 1990;9(6):515-40.

127. Nagase S, Aoyagi K, Gotoh M, Hirayama A, Tomida C, Shimozawa Y, et al. Increased lipid peroxidation by rat liver microsomes in experimental renal failure. *Nephron* 1996;74(1):204-8.
128. Nagase S, Aoyagi K, Hirayama A, Gotoh M, Ueda A, Tomida C, et al. Favorable effect of hemodialysis on decreased serum antioxidant activity in hemodialysis patients demonstrated by electron spin resonance. *J Am Soc Nephrol* 1997;8(7):1157-63.
129. Fillit H, Elion E, Sullivan J, Sherman R, Zabriskie JB. Thiobarbituric acid reactive material in uremic blood. *Nephron* 1981;29(1-2):40-3.
130. Giardini O, Taccone-Gallucci M, Lubrano R, Ricciardi-Tenore G, Bandino D, Silvi I, et al. Evidence of red blood cell membrane lipid peroxidation in haemodialysis patients. *Nephron* 1984;36(4):235-7.
131. Kuroda M, Asaka S, Tofuku Y, Takeda R. Serum antioxidant activity in uremic patients. *Nephron* 1985;41(3):293-8.
132. Paul JL, Sall ND, Soni T, Poignet JL, Lindenbaum A, Man NK, et al. Lipid peroxidation abnormalities in hemodialyzed patients. *Nephron* 1993;64(1):106-9.
133. Schettler V, Wieland E, Verwiebe R, Schuff-Werner P, Scheler F, Oellerich M. Plasma lipids are not oxidized during hemodialysis. *Nephron* 1994;67(1):42-7.
134. Gotoh M, Nagase S, Aoyagi K, , Hirayama A, Takemura K, Ueda A, et al. Thiobarbituric acid reactive substances are increased in the subcutaneous fat tissue of patients with end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12(4):713-7.
135. Berlett BS, Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J Biol Chem* 1997;272(33):20313-6.
136. Stadtman ER, Berlett BS. Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Drug Metab Rev* 1998;30(2):225-43.

137. Uchida K, Toyokuni S, Nishikawa K, Kawakishi S, Oda H, Hiai H, et al. Michael addition-type 4-hydroxy-2-nonenal adducts in modified low-density lipoproteins: markers for atherosclerosis. *Biochemistry* 1994;33(41):12487-94.
138. Leeuwenburgh C, Hardy MM, Hazen SL, Wagner P, Oh-ishi S, Steinbrecher UP, et al. Reactive nitrogen intermediates promote low density lipoprotein oxidation in human atherosclerotic intima. *J Biol Chem* 1997;272(3):1433-6.
139. Levine RL, Williams JA, Stadtman ER, Shacter E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 1994;233:346-57.
140. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. *Kidney Int Suppl* 2001;78:S108-13.
141. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol* 1994;233:357-63.
142. Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI, Aldini G. Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Arch Biochem Biophys* 2004;430(1):97-103.
143. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Torzewski M, Hafner G, Tiret L, et al. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2003;349(17):1605-13.
144. Lissi E, Pascual C, Del Castillo MD. Luminol luminescence induced by 2,2'-Azo-bis(2-amidinopropane) thermolysis. *Free Radic Res Commun* 1992;17(5):299-311.
145. Evelson P, Travacio M, Repetto M, Escobar J, Llesuy S, Lissi EA. Evaluation of total reactive antioxidant potential (TRAP) of tissue homogenates and their cytosols. *Arch Biochem Biophys* 2001;388(2):261-6.
146. Galle J, Quaschnig T, Seibold S, Wanner C. Endothelial dysfunction and inflammation: what is the link? *Kidney Int Suppl* 2003(84):S45-9.

147. Liao JK, Bettmann MA, Sandor T, Tucker JI, Coleman SM, Creager MA. Differential impairment of vasodilator responsiveness of peripheral resistance and conduit vessels in humans with atherosclerosis. *Circ Res* 1991;68(4):1027-34.
148. Libby P, Sukhova G, Lee RT, Liao JK. Molecular biology of atherosclerosis. *Int J Cardiol* 1997;62 Suppl 2:S23-9.
149. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84(24):9265-9.
150. Radomski MW, Rees DD, Dutra A, Moncada S. S-nitroso-glutathione inhibits platelet activation in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol* 1992;107(3):745-9.
151. Gauthier TW, Scalia R, Murohara T, Guo JP, Lefler AM. Nitric oxide protects against leukocyte-endothelium interactions in the early stages of hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15(10):1652-9.
152. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88(11):4651-5.
153. Harrison DG. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *J Clin Invest* 1997;100(9):2153-7.
154. Munzel T, Sayegh H, Freeman BA, Tarpey MM, Harrison DG. Evidence for enhanced vascular superoxide anion production in nitrate tolerance. A novel mechanism underlying tolerance and cross-tolerance. *J Clin Invest* 1995;95(1):187-94.
155. Laursen JB, Rajagopalan S, Galis Z, Tarpey M, Freeman BA, Harrison DG. Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine-induced hypertension. *Circulation* 1997;95(3):588-93.
156. Lodha S, Dani D, Mehta R, Bhaskaran M, Reddy K, Ding G, et al. Angiotensin II-induced mesangial cell apoptosis: role of oxidative stress. *Mol Med* 2002;8(12):830-40.

157. Stenvinkel P. Endothelial dysfunction and inflammation-is there a link? *Nephrol Dial Transplant* 2001;16(10):1968-71.
158. Miyazaki H, Matsuoka H, Itabe H, Usui M, Ueda S, Okuda S, et al. Hemodialysis impairs endothelial function via oxidative stress: effects of vitamin E-coated dialyzer. *Circulation* 2000;101(9):1002-6.
159. Blanco-Colio LM, Tunon J, Martin-Ventura JL, Egido J. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of statins. *Kidney Int* 2003;63(1):12-23.
160. Shah S, Paparello J, Danesh FR. Effects of statin therapy on the progression of chronic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis* 2005;12(2):187-95.
161. Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21(11):1712-9.
162. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994;344(8934):1383-9.
163. Seliger SL, Weiss NS, Gillen DL, Kestenbaum B, Ball A, Sherrard DJ, et al. HMG-CoA reductase inhibitors are associated with reduced mortality in ESRD patients. *Kidney Int* 2002;61(1):297-304.
164. Schwartz GG, Olsson AG, Ezekowitz MD, Ganz P, Oliver MF, Waters D, et al. Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes: the MIRACL study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001;285(13):1711-8.
165. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med* 1995;333(20):1301-7.
166. Downs JR, Clearfield M, Weis S, Whitney E, Shapiro DR, Beere PA, et al. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average

- cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA* 1998;279(20):1615-22.
167. Freeman DJ, Norrie J, Sattar N, Neely RD, Cobbe SM, Ford I, et al. Pravastatin and the development of diabetes mellitus: evidence for a protective treatment effect in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation* 2001;103(3):357-62.
168. Tonolo G, Melis MG, Formato M, Angius MF, Carboni A, Brizzi P, et al. Additive effects of Simvastatin beyond its effects on LDL cholesterol in hypertensive type 2 diabetic patients. *Eur J Clin Invest* 2000;30(11):980-7.
169. Meier CR, Schlienger RG, Kraenzlin ME, Schlegel B, Jick H. HMG-CoA reductase inhibitors and the risk of fractures. *JAMA* 2000;283(24):3205-10.
170. Brown BG, Zhao XQ, Sacco DE, Albers JJ. Lipid lowering and plaque regression. New insights into prevention of plaque disruption and clinical events in coronary disease. *Circulation* 1993;87(6):1781-91.
171. Brown BG, Hillger L, Zhao XQ, Poulin D, Albers JJ. Types of change in coronary stenosis severity and their relative importance in overall progression and regression of coronary disease. Observations from the FATS Trial. Familial Atherosclerosis Treatment Study. *Ann N Y Acad Sci* 1995;748:407-17; discussion 17-8.
172. Bellosta S, Ferri N, Bernini F, Paoletti R, Corsini A. Non-lipid-related effects of statins. *Ann Med* 2000;32(3):164-76.
173. Bellosta S, Ferri N, Arnaboldi L, Bernini F, Paoletti R, Corsini A. Pleiotropic effects of statins in atherosclerosis and diabetes. *Diabetes Care* 2000;23 Suppl 2:B72-8.
174. Pierre-Paul D, Gahtan V. Noncholesterol-lowering effects of statins. *Vasc Endovascular Surg* 2003;37(5):301-13.

175. Guzik TJ, Kapelak B, Guzik B, Jopek A, Kapelak B, Przybylowski P, et al. Mechanisms of increased vascular superoxide generation in human coronary arteries from patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 2002;4(Suppl):297.
176. Wassmann S, Laufs U, Muller K, Konkol C, Ahlbory K, Baumer AT, et al. Cellular antioxidant effects of atorvastatin in vitro and in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22(2):300-5.
177. Wassmann S, Laufs U, Baumer AT, Muller K, Ahlbory K, Linz W, et al. HMG-CoA reductase inhibitors improve endothelial dysfunction in normocholesterolemic hypertension via reduced production of reactive oxygen species. *Hypertension* 2001;37(6):1450-7.
178. Delbosc S, Morena M, Djouad F, Ledoucen C, Descomps B, Cristol JP. Statins, 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors, are able to reduce superoxide anion production by NADPH oxidase in THP-1-derived monocytes. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002;40(4):611-7.
179. Giroux LM, Davignon J, Naruszewicz M. Simvastatin inhibits the oxidation of low-density lipoproteins by activated human monocyte-derived macrophages. *Biochim Biophys Acta* 1993;1165(3):335-8.
180. Paumelle R, Blanquart C, Briand O, Barbier O, Duhem C, Woerly G, et al. Acute antiinflammatory properties of statins involve peroxisome proliferator-activated receptor-alpha via inhibition of the protein kinase C signaling pathway. *Circ Res* 2006;98(3):361-9.
181. Staels B, Dallongeville J, Auwerx J, Schoonjans K, Leitersdorf E, Fruchart JC. Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. *Circulation* 1998;98(19):2088-93.

182. Marx N, Duez H, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors and atherogenesis: regulators of gene expression in vascular cells. *Circ Res* 2004;94(9):1168-78.
183. Niwa S, Totsuka T, Hayashi S. Inhibitory effect of fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, on the expression of adhesion molecules on human monocyte cell line. *Int J Immunopharmacol* 1996;18(11):669-75.
184. Weber C, Erl W, Weber KS, Weber PC. HMG-CoA reductase inhibitors decrease CD11b expression and CD11b-dependent adhesion of monocytes to endothelium and reduce increased adhesiveness of monocytes isolated from patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 1997;30(5):1212-7.
185. Weitz-Schmidt G, Welzenbach K, Brinkmann V, Kamata T, Kallen J, Bruns C, et al. Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site. *Nat Med* 2001;7(6):687-92.
186. Seljeflot I, Tonstad S, Hjermann I, Arnesen H. Reduced expression of endothelial cell markers after 1 year treatment with simvastatin and atorvastatin in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2002;162(1):179-85.
187. Bustos C, Hernandez-Presa MA, Ortego M, Tunon J, Ortega L, Perez F, et al. HMG-CoA reductase inhibition by atorvastatin reduces neointimal inflammation in a rabbit model of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1998;32(7):2057-64.
188. Massy ZA, Guijarro C. Statins: effects beyond cholesterol lowering. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16(9):1738-41.
189. Riessen R, Axel DI, Fenchel M, Herzog UU, Rossmann H, Karsch KR. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on extracellular matrix expression in human vascular smooth muscle cells. *Basic Res Cardiol* 1999;94(5):322-32.

190. Li JJ, Chen XJ. Simvastatin inhibits interleukin-6 release in human monocytes stimulated by C-reactive protein and lipopolysaccharide. *Coron Artery Dis* 2003;14(4):329-34.
191. Aikawa M, Voglic SJ, Sugiyama S, Rabkin E, Taubman MB, Fallon JT, et al. Dietary lipid lowering reduces tissue factor expression in rabbit atheroma. *Circulation* 1999;100(11):1215-22.
192. van den Akker JM, Bredie SJ, Diepenveen SH, van Tits LJ, Stalenhoef AF, van Leusen R. Atorvastatin and simvastatin in patients on hemodialysis: effects on lipoproteins, C-reactive protein and in vivo oxidized LDL. *J Nephrol* 2003;16(2):238-44.
193. Van Aelst L, D'Souza-Schorey C. Rho GTPases and signaling networks. *Genes Dev* 1997;11(18):2295-322.
194. Laufs U, Endres M, Stagliano N, Amin-Hanjani S, Chui DS, Yang SX, et al. Neuroprotection mediated by changes in the endothelial actin cytoskeleton. *J Clin Invest* 2000;106(1):15-24.
195. Singh R, Wang B, Shirvaikar A, Khan S, Kamat S, Schelling JR, et al. The IL-1 receptor and Rho directly associate to drive cell activation in inflammation. *J Clin Invest* 1999;103(11):1561-70.
196. Mundy G, Garrett R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G, et al. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science* 1999;286(5446):1946-9.
197. Ortego M, Bustos C, Hernandez-Presa MA, Tunon J, Diaz C, Hernandez G, et al. Atorvastatin reduces NF-kappaB activation and chemokine expression in vascular smooth muscle cells and mononuclear cells. *Atherosclerosis* 1999;147(2):253-61.
198. Inoue I, Goto S, Mizotani K, Awata T, Mastunaga T, Kawai S, et al. Lipophilic HMG-CoA reductase inhibitor has an anti-inflammatory effect: reduction of mRNA levels for interleukin-1beta, interleukin-6, cyclooxygenase-2, and p22phox by regulation of

- peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) in primary endothelial cells. *Life Sci* 2000;67(8):863-76.
199. Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC, Frei B, Selwyn AP, Ganz P. The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 1995;332(8):488-93.
 200. O'Driscoll G, Green D, Taylor RR. Simvastatin, an HMG-coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation* 1997;95(5):1126-31.
 201. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS, Talley JD, Stillabower ME, Kosinski AS, et al. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1995;332(8):481-7.
 202. Laufs U, La Fata V, Plutzky J, Liao JK. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation* 1998;97(12):1129-35.
 203. Kureishi Y, Luo Z, Shiojima I, Bialik A, Fulton D, Lefler DJ, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nat Med* 2000;6(9):1004-10.
 204. Rikitake Y, Kawashima S, Takeshita S, Yamashita T, Azumi H, Yasuhara M, et al. Anti-oxidative properties of fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, contribute to prevention of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 2001;154(1):87-96.
 205. Crouse JR, 3rd, Byington RP, Furberg CD. HMG-CoA reductase inhibitor therapy and stroke risk reduction: an analysis of clinical trials data. *Atherosclerosis* 1998;138(1):11-24.
 206. Essig M, Nguyen G, Prie D, Escoubet B, Sraer JD, Friedlander G. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors increase fibrinolytic activity in rat

- aortic endothelial cells. Role of geranylgeranylation and Rho proteins. *Circ Res* 1998;83(7):683-90.
207. Hernandez-Perera O, Perez-Sala D, Navarro-Antolin J, Sanchez-Pascuala R, Hernandez G, Diaz C, et al. Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1998;101(12):2711-9.
208. Rosenson RS, Tangney CC. Antiatherothrombotic properties of statins: implications for cardiovascular event reduction. *JAMA* 1998;279(20):1643-50.
209. Mayer J, Eller T, Brauer P, Solleder EM, Schafer RM, Keller F, et al. Effects of long-term treatment with lovastatin on the clotting system and blood platelets. *Ann Hematol* 1992;64(4):196-201.
210. McFarlane SI, Banerji M, Sowers JR. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(2):713-8.
211. Wada H, Mori Y, Kaneko T, Wakita Y, Minamikawa K, Ohiwa M, et al. Hypercoagulable state in patients with hypercholesterolemia: effects of pravastatin. *Clin Ther* 1992;14(6):829-34.
212. Llevadot J, Murasawa S, Kureishi Y, Uchida S, Masuda H, Kawamoto A, et al. HMG-CoA reductase inhibitor mobilizes bone marrow--derived endothelial progenitor cells. *J Clin Invest* 2001;108(3):399-405.
213. Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K, Aicher A, Martin H, Zeiher AM, et al. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation* 2001;103(24):2885-90.
214. Le Roith D, Zick Y. Recent advances in our understanding of insulin action and insulin resistance. *Diabetes Care* 2001;24(3):588-97.

215. Fisher JE, Rogers MJ, Halasy JM, Luckman SP, Hughes DE, Masarachia PJ, et al. Alendronate mechanism of action: geranylgeraniol, an intermediate in the mevalonate pathway, prevents inhibition of osteoclast formation, bone resorption, and kinase activation in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(1):133-8.
216. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med* 2000;6(12):1399-402.
217. Fried LF, Orchard TJ, Kasiske BL. Effect of lipid reduction on the progression of renal disease: a meta-analysis. *Kidney Int* 2001;59(1):260-9.
218. Chang JW, Yang WS, Min WK, Lee SK, Park JS, Kim SB. Effects of simvastatin on high-sensitivity C-reactive protein and serum albumin in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2002;39(6):1213-7.
219. Vernaglione L, Cristofano C, Muscogiuri P, Chimienti S. Does atorvastatin influence serum C-reactive protein levels in patients on long-term hemodialysis? *Am J Kidney Dis* 2004;43(3):471-8.
220. Ikejiri A, Hirano T, Murayama S, , Yoshino G, Gushiken N, Hyodo T, et al. Effects of atorvastatin on triglyceride-rich lipoproteins, low-density lipoprotein subclass, and C-reactive protein in hemodialysis patients. *Metabolism* 2004;53(9):1113-7.
221. Navarro JF, Mora C, Muros M, Garcia-Idoate G. Effects of atorvastatin on lipid profile and non-traditional cardiovascular risk factors in diabetic patients on hemodialysis. *Nephron Clin Pract* 2003;95(4):c128-35.
222. Zoja C, Corna D, Rottoli D, Cattaneo D, Zanchi C, Tomasoni S, et al. Effect of combining ACE inhibitor and statin in severe experimental nephropathy. *Kidney Int* 2002;61(5):1635-45.

223. Qin J, Zhang Z, Liu J, Sun L, Hu L, Cooper ME, et al. Effects of the combination of an angiotensin II antagonist with an HMG-CoA reductase inhibitor in experimental diabetes. *Kidney Int* 2003;64(2):565-71.

5 ARTIGO EM PORTUGUÊS: EFEITO AGUDO DA SINVASTATINA EM MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA: UM ESTUDO RANDOMIZADO, DUPLO CEGO E CRUZADO

Claus Dieter Dummer¹, Fernando Saldanha Thomé², Bianca Zingano³, Alberto Lindoso³, Francisco José Veríssimo Veronese^{1,2}

¹ Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

² Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

³ Acadêmico de Medicina, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Apoio: Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Endereço para correspondência:

Francisco José Veríssimo Veronese

Rua Ramiro Barcelos, 2350, Sala 2030. CEP 90035-003

Hospital de Clínicas de Porto Alegre Porto Alegre, RS, Brasil

Fone +55.51. 21018121

E-mail: franvero@via-rs.net

Unitermos: Doença renal crônica, vastatina, inflamação, estresse oxidativo, estado nutricional.

Título resumido: Efeito da sinvastatina na inflamação e estresse oxidativo

RESUMO

Introdução: O estado inflamatório e o estresse oxidativo (EO) são considerados fatores de risco para doenças cardiovasculares e estão aumentados na doença renal crônica (DRC). As vastatinas podem modificar marcadores séricos de inflamação e de EO. Este estudo avaliou o efeito agudo da sinvastatina sobre marcadores inflamatórios e de EO, em pacientes com DRC, estágios 3 e 4.

Pacientes e Métodos: Estudo randomizado e controlado com placebo, duplo cego, cruzado, com 66 pacientes portadores de DRC, estágios 3 e 4. Os pacientes foram randomizados para sinvastatina (20 mg/dia) ou placebo por oito semanas (P1), e após *wash out* os tratamentos foram cruzados por mais oito semanas (P2). Foram medidos no período basal, P1 e P2: filtração glomerular (FG), perfil lipídico, proteína C reativa (PcR), fibrinogênio, carbonilas e capacidade antioxidante total (TRAP). As interações entre diabetes melito, desnutrição, uso de I-ECA ou BRA-II e hipercolesterolemia, foram avaliadas sobre a resposta ao tratamento, considerando a evolução dos parâmetros inflamatórios e de EO nos grupos sinvastatina e placebo.

Resultados: Trinta e três pacientes foram randomizados para sinvastatina/placebo (S-P), e trinta e três, para placebo/sinvastatina (P-S). Não houve diferença significativa entre as variáveis clínicas e laboratoriais basais, exceto maior nível de carbonilas no P-S ($11,6 \pm 2,74$ vs. $10,61 \pm 2,88$ nmol/mg prot, $p=0,019$). Não houve diferença, também, nos valores de PcR, fibrinogênio, carbonilas ou TRAP entre os dois grupos e nos dois períodos do estudo. A sinvastatina reduziu, significativamente, o colesterol total e o LDL colesterol (pré vs. pós: $p=0,0001$ e $p=0,0001$, respectivamente). O nível de TFG foi semelhante entre os grupos e nos três períodos, correlacionando-se, negativamente, com o fibrinogênio ($r=-0,25$, $p=0,04$) e com o TRAP ($r=-0,27$, $p=0,03$). Na análise de interação entre resposta ao tratamento e DM,

observou-se que os níveis de fibrinogênio nos diabéticos foram significativamente maiores do que nos não diabéticos, independente do tipo de intervenção, sinvastatina ou placebo ($p=0,039$). Além do efeito significativo do tratamento no perfil lipídico (colesterol total, $p=0,0001$ e LDL colesterol, $p=0,0003$), não foram observadas interações de tratamento, de período ou de *carry-over* na resposta dos parâmetros de inflamação e de EO.

Conclusões: O uso da sinvastatina modificou, agudamente, apenas o perfil lipídico desses pacientes com doença renal crônica. Não reduziu, porém, os níveis séricos dos marcadores de inflamação e de estresse oxidativo. Assim, é possível, que seja necessária dose e/ou tempo maior de uso da vastastina para que ocorram os efeitos pleotrópicos da droga em pacientes com DRC não dialítica.

INTRODUÇÃO

A doença cardiovascular (DCV) é a maior causa de morte em pacientes com doença renal crônica (DRC) (1-3), com prevalência dez a vinte vezes maior, se comparada à população geral, mesmo se ajustada para outros fatores de risco, como idade, raça, sexo e presença de diabetes melito (DM) (4). Esse elevado índice de mortalidade sugere que pacientes com DRC desenvolvem aterogênese acelerada já nas fases iniciais da DRC que se agrava durante o tratamento dialítico (5-9).

Os riscos tradicionalmente conhecidos para DCV, como dislipidemia, hipertensão, DM e tabagismo, são prevalentes em pacientes com DRC (10). Contudo, o excesso de DCV e da morbimortalidade a ela associada não pode ser explicado somente por esses fatores. Assim, recentemente, fatores denominados não-tradicionais, como inflamação persistente e estresse oxidativo (EO), têm sido envolvidos nesse contexto (11,12). Estímulos inflamatórios locais, como proteínas e lipídios modificados por oxidação, podem lesar a parede vascular e estimular a produção de moléculas de adesão e fatores de crescimento pró aterogênicos. A proteína C reativa (PcR) e as espécies reativas do metabolismo do oxigênio (ERMO), além de refletirem o estado inflamatório e EO, respectivamente, poderiam mediar aterosclerose e doença vascular (12-14).

A desnutrição também é prevalente em pacientes com DRC na fase pré-dialítica (15-17) e após o início da diálise (18), sendo fator preditivo de mortalidade (9,15). Esta tríade - inflamação, desnutrição e mortalidade - foi integrada na síndrome MIA (Má Nutrição, Inflamação e Aterosclerose) (19,20) ou MICS (Síndrome do Complexo Desnutrição-Inflamação) (21).

Estudos recentes têm demonstrado que as vastatinas, além de sua ação hipolipemiante, apresentam efeitos denominados pleotrópicos, como redução da inflamação, do EO, da

trombogênese e melhora da disfunção endotelial (22-29). O impacto clínico das vastatinas na prevenção primária e secundária de eventos cardiovasculares está bem documentado em pacientes de alto risco, entre os quais se incluem urêmicos em diálise (30) e no período pré-diálise (31). Independentemente dos níveis séricos dos lipídios, o uso de vastatinas poderia contribuir para a redução da mortalidade cardiovascular. Especula-se como mecanismos inibição de citocinas e de outros mediadores pró-inflamatórios (23, 24, 32, 33), redução da matriz extracelular em células musculares lisas dos vasos (22) e da inibição da trombogênese (25).

Não existem estudos clínicos conclusivos sobre as vastatinas no tratamento do estresse oxidativo e inflamatório em pacientes com DRC. Também não existem definições que apontem qual a melhor vastatina, qual a dose ideal a ser empregada e a fase da DRC a partir do qual traria impacto clínico. Este estudo teve, como objetivo, avaliar o efeito agudo da sinvastatina nos níveis séricos de marcadores inflamatórios e de EO em pacientes com DRC.

PACIENTES E MÉTODOS

Delineamento

Ensaio clínico randomizado e cruzado, duplo cego controlado com placebo, em pacientes adultos com doença renal crônica.

Pacientes

Foram incluídos 68 pacientes do Ambulatório de Uremia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Os critérios de inclusão utilizados foram, idade acima de dezesseis anos e DRC classificada nos estágios 3 e 4 do K-DOQI (filtração glomerular entre 15-59 ml/min). Excluíram-se pacientes com doença inflamatória ou infecciosa aguda ou crônica,

qualquer evento cardiovascular ou cerebrovascular nos últimos três meses, início de método de substituição de função renal no período do estudo e pacientes em uso de vastatinas para prevenção secundária de eventos cardiovasculares. Também foram excluídos os pacientes que não concordaram com a assinatura do consentimento informado. Oito (12%) pacientes estavam em uso de uma vastatina e estavam em tratamento dietético para dislipidemia como medida de prevenção primária para eventos cardiovasculares. Estes pacientes não foram excluídos do estudo.

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, com registro no Comitê Revisor Institucional (IRB), número 00000921.

Randomização e intervenção

Os pacientes foram randomizados por programa específico (PEPI versão 3.0) para um dos dois grupos, sinvastatina ou placebo. Inicialmente, foram submetidos a um período de *wash out* de quatro semanas (WO-1), para eliminar efeitos de qualquer terapia hipolipemiante prévia (vastatina ou fibrato). Foi utilizada sinvastatina, na dose de vinte mg/dia, ou placebo, em esquema duplo cego, por um período de oito semanas (P1). Comprimidos idênticos de sinvastatina e placebo foram fornecidos pelo laboratório BIOLAB. Foi feito novo *wash out* (WO-2) por quatro semanas, seguido de cruzamento da intervenção, em que pacientes que receberam sinvastatina passaram a receber placebo e vice-versa, por mais um período de oito semanas (P2).

Após o primeiro período de *wash out* e após as oito semanas do P1 e do P2, foram coletadas amostras de sangue e de urina (C1, C2 e C3) para as dosagens laboratoriais (Figura 1).

Foi feito o controle das cartelas de comprimidos após cada período de intervenção.

Parâmetros demográficos e clínicos

Foram avaliados idade, sexo, raça, etiologia da doença renal crônica, presença de diabetes melito, hipertensão arterial sistêmica, cardiopatia isquêmica e doença pulmonar obstrutiva crônica. Como inibidores da enzima conversora da angiotensina (I-ECA) e do receptor da angiotensina II (BRA-II) podem interferir na resposta inflamatória, o seu uso foi registrado para posterior análise secundária.

Dosagens laboratoriais

Foram realizados hemograma e dosagens de creatinina (método de Jaffé modificado, em aparelho automatizado ADVIA 1650/Mega Bayer®), uréia, cálcio, fósforo, albumina, colesterol total, HDL colesterol e LDL colesterol, triglicerídeos (método colorimétrico, cinético/automação). A proteinúria foi avaliada através do índice proteína/creatinina em amostra de urina (Pr/Pc), sendo determinada pelo método colorimétrico em aparelho automatizado ADVIA 1650/Cobas Mira Plus®.

A filtração glomerular foi estimada através da fórmula simplificada da Modificação da Dieta na Doença Renal (MDRD) (34).

Para controle dos efeitos coleterais da sinvastatina, foram feitas dosagens de alanino aminotransferase (ALT <35 U/l), de aspartato aminotransferase (AST <35 U/l) e de creatinofosfoquinase (CK <190 U/l). Todas as dosagens foram realizadas pelo método colorimétrico, cinético/automação.

Avaliação do estado inflamatório

O estado inflamatório foi medido pela dosagem sérica de proteína C reativa ultrasensível (PcR) pelo método de nefelometria, e de fibrinogênio pelo método coagulométrico

(cinético/automação). Inflamação foi diagnosticada por valor de Pcr superior a 5 mg/l, associado ou não a fibrinogênio > 400 mg/dl.

Medidas de estresse oxidativo

Oxidação de proteínas

A oxidação protéica foi medida pelo método das carbonilas, que consiste na reação da dinitrofenilhidrazina (DNPH) com as carbonilas das proteínas, formando hidrazonas que são medidas espectrofotometricamente (35). O limite superior estabelecido para indivíduos normais é menor ou igual a 3,8 nmol/mg de proteína, que correspondem a dois desvios padrão acima da média de $3,3 \pm 0,25$ nmol/mg de proteína (36). As dosagens foram feitas em duplicata.

Capacidade antioxidante total (TRAP)

A mensuração da capacidade antioxidante total - parâmetro antioxidante de captura de radicais totais (TRAP) foi realizada pelo protocolo descrito por Lissi et al. (37), baseado na formação de radicais livres que emitem luz pela decomposição do 2,2'Azo-bis (2-amidino-propano ABAP) diidrocloreto, e que são detectados por contador beta (LKB Rack Beta Liquid Scintillation Spectrometer 1215; LKB Produkter AB, Bromma, Sweden), com o circuito de coincidência desconectado e utilizando o canal de trítio (37). O limite superior descrito em indivíduos normais é 337 U Trolox/ μ l, que correspondem a dois desvios padrão acima do valor médio de $279,84 \pm 28,38$ U Trolox/ μ l (36). As dosagens foram feitas em duplicata.

Avaliação nutricional

A classificação do estado nutricional foi realizada com base em dois parâmetros, a Avaliação Subjetiva Global (ASG) (38) e a antropometria, considerando-se nesta a prega

cutânea do tríceps (PCT), a circunferência do braço (CB) e a circunferência muscular do braço (CMB) (39). A ASG com pontuação ≤ 7 classificou os pacientes em eutróficos e, com >7 , em desnutridos, associada a outro critério de antropometria: PCT $<12,5$ mm (homens) e $<16,5$ mm (mulheres), ou CB $<29,3$ cm (homens) e $<28,5$ cm (mulheres), ou CMB $<25,3$ cm² (homens) e $<23,2$ cm² (mulheres).

Análise estatística

As estatísticas descritivas são apresentadas como porcentagens para dados qualitativos e como média \pm DP ou mediana e intervalos interquartis para dados quantitativos. Foram empregados o teste do Qui quadrado (variáveis categóricas) e o teste t independente (variáveis contínuas) na comparação dos dois grupos. Para variáveis com distribuição assimétrica, foram utilizados os testes não-paramétricos de Mann-Whitney e de Kolmogorov-Smirnov. Na análise de correlações, foram utilizados os coeficientes de Pearson e o não-paramétrico, de Spearman. As interações entre diabetes melito, desnutrição, uso de I-ECA ou BRA-II e hipercolesterolemia, sobre a resposta ao tratamento, foram avaliadas pelo Modelo Geral Linear (GLM) para Medidas Repetidas, considerando-se a evolução dos parâmetros inflamatórios e de EO nos grupos sinvastatina e placebo. Os dados foram processados e analisados através dos programas SPSS para *Windows*, versão 13.0.

Considerando-se no delineamento do estudo cruzado, a interferência dos efeitos relacionados ao período (efeito de prática), e da interação de período e tratamento (efeito *carry-over*), sobre o efeito real do tratamento sobre cada variável foi medida através de análise de variância (ANOVA) para Quadrado Latino (40), programa *STATA*, versão 7.0.

O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

RESULTADOS

Características demográficas e clínicas

Sessenta e oito pacientes foram incluídos inicialmente no estudo, mas dois pacientes do grupo P-S foram perdidos do acompanhamento durante o primeiro período de *wash out*. Foram, então, estudados 66 pacientes, sendo 32 (48,5%) homens e 34 (51,5%) mulheres, com média de idade de $54,12 \pm 15,5$ anos. Trinta e três pacientes foram randomizados para o grupo sinvastatina no P1 seguido de placebo no P2 (S-P), e 33 pacientes, para placebo no P1 seguido de sinvastatina no P2 (P-S).

Cinquenta (75,7%) pacientes eram brancos. Dezesete (25%) pacientes apresentavam diabetes melito, e 52 (78,8%) faziam uso de I-ECA e/ou BRA-II. No período basal, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação às variáveis demográficas (Tabela 1).

Controle metabólico

O colesterol total e o colesterol LDL basais diferiram entre os grupos, com maiores valores no grupo S-P ($216,9 \pm 51,5$ vs $195,1 \pm 30,3$ mg/dl, $p=0,04$ e $133,7 \pm 39,4$ vs. $114,1 \pm 29,4$ mg/dl, $p=0,02$) (Tabela 2). Nos dois períodos do estudo, a sinvastatina foi eficaz na redução do colesterol total e do colesterol LDL (pré vs. pós: $p<0,001$ e $p<0,001$, respectivamente), o que demonstra que os pacientes aderiram ao tratamento (Figura 2). Comparando-se os grupos S-P e P-S no P1 e P2, os níveis de colesterol total e de LDL colesterol foram, respectivamente: P1: $159,1 \pm 35,7$ vs. $194,2 \pm 44,9$ mg/dl, $p=0,001$; P2: $206,2 \pm 49,3$ vs. $158,8 \pm 37,8$ mg/dl, $p<0,001$ e P1: $77,1 \pm 28,3$ vs $111,1 \pm 39,4$ mg/dl, $p<0,001$; P2: $114,2 \pm 48,6$ vs $80,3 \pm 26,9$ mg/dl, $p=0,002$.

A média da glicemia basal foi 178 ± 88 mg/dl. No final do primeiro e segundo período a média da glicemia foi 150 ± 66 mg/dl ($p=0,24$ vs. basal) e 154 ± 64 mg/dl ($p=0,19$ vs. basal), respectivamente.

Medidas de inflamação e estresse oxidativo

Os valores da PcR, do fibrinogênio e do TRAP não diferiram entre os grupos na inclusão do estudo. Mas, as carbonilas mostraram-se mais elevadas no grupo S-P do que no grupo P-S ($11,6\pm 2,74$ vs. $10,61\pm 2,88$ nmol/mg prot, $p=0,019$), como se verifica na Tabela 3. Os níveis de TRAP e de carbonilas, por sua vez, mostraram-se elevados em todos os pacientes de ambos os grupos, quando comparados aos valores de referência para indivíduos normais. A primeira dosagem de PcR foi maior que 5 mg/l em 34% e 36% dos pacientes no grupo S-P e no grupo P-S ($p=0,34$), assim como 33% e 37% tinham o fibrinogênio acima de 400 mg/dl ($p=0,47$), respectivamente.

Não foi detectada nenhuma diferença nas medianas da PcR e nas médias de fibrinogênio, de carbonilas ou de TRAP, entre os grupos sinvastatina e placebo, ao final dos dois períodos de intervenção, como apresentado na Tabela 4 e nas Figuras 3 e 4.

A proporção de pacientes com elevação de transaminases e de creatinofosfoquinase, ao final dos dois períodos de intervenção, foi semelhante entre os grupos (Tabela 5).

Análise de subgrupos para interação com inflamação e estresse oxidativo

Através da análise secundária não foram identificadas interações entre resposta ao tratamento e diabetes, desnutrição, hipercolesterolemia ou uso de I-ECA ou BRA-II, sobre os desfechos inflamação e EO. Na análise de interação entre resposta ao tratamento e DM, observou-se que os níveis de fibrinogênio nos diabéticos foram significativamente maiores do que nos não diabéticos, independente do tipo de intervenção, sinvastatina ou placebo

($p=0,039$). Após o uso de sinvastatina, houve um aumento dos níveis de fibrinogênio nos dois grupos, diabéticos e não-diabéticos. Mas, o cálculo do delta do fibrinogênio (diferença entre período placebo e sinvastatina) mostrou não haver diferença estatística na magnitude de variação ($p=0,48$).

Também, através da análise secundária, avaliando-se a correlação entre nível de função renal e marcadores de estado inflamatório e oxidativo, observou-se uma correlação negativa fraca, mas significativa, entre a filtração glomerular, o fibrinogênio ($r=-0,25$, $p=0,04$) e o TRAP ($r=-0,27$, $p=0,03$), mas não com a PcR. Não houve correlação entre filtração glomerular e nível sérico de carbonilas.

DISCUSSÃO

A doença cardiovascular é responsável pela elevada morbimortalidade de pacientes com doença renal crônica (1-3) e está associada a fatores atualmente considerados etiopatogênicos de aterosclerose, como estado inflamatório e estresse oxidativo exacerbados de forma persistente (11,12).

Evidências se acumulam sugerindo que a inflamação crônica tem um papel crucial na aterogênese, tanto na população geral quanto em pacientes renais crônicos em diálise (6,7). A proteína C reativa tem se mostrado um forte preditor de eventos cardiovasculares, como infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (41), mesmo em uma dosagem sérica isolada (42). O fibrinogênio também é um marcador independente de DCV (43). Alguns estudos mediram esses biomarcadores de inflamação em indivíduos com doença renal crônica menos avançada, correlacionando-os com a função renal residual e com o índice de progressão da DRC (44).

Proteínas plasmáticas e aminoácidos modificados pelo EO desempenham um importante papel na aterogênese acelerada e em muitas doenças degenerativas (45,46). O “estresse carbonílico” representa os produtos finais de diversas reações oxidativas e o seu acúmulo no plasma e tecidos, tanto na pré diálise como na fase dialítica (47).

Existem poucos dados sobre os potenciais benefícios das vastatinas na DRC, sendo que a maioria dos estudos realizados envolveu pacientes em diálise. Chang et al. (48), avaliando pacientes em hemodiálise, mostraram que a sinvastatina reduziu em 48% a PcR sérica, embora não tenha modificado o nível de lipoperoxidação medido pelo malondialdeído. Ao contrário, van den Akker et al (49) não observaram diferenças na PcR pós-tratamento com atorvastatina ou sinvastatina, mas houve uma redução significativa do LDL oxidado. Em outro estudo, o tratamento com atorvastatina, mas não com α -tocoferol, reduziu o LDL oxidado na ordem de 29% (50). Vernaglione et al. (51) também mostraram redução da PcR, de 9 mg/l para 5 mg/l ($P=0,004$) após seis meses de uso de atorvastatina em pacientes hemodialisados. Os resultados de estudos clínicos com vastatinas em pacientes na pré-diálise – estágios 3 e 4 da DRC - mostram resultados semelhantes (52-54). Contudo, é importante reconhecer que esses efeitos foram de pequena magnitude e que sua duração não foi determinada.

No presente estudo, observamos que os níveis basais de PcR foram mais elevados nos renais crônicos do que os descritos para indivíduos normais. Entretanto, não houve redução da PcR após oito semanas de sinvastatina quando comparada a placebo. Este achado difere do descrito por Panichi et al. (52), que, em estudo randomizado duplo-cego controlado com placebo, mostraram uma diminuição de 23% nos níveis de PcR com o uso de sinvastatina em renais crônicos, estágios 3 e 4, embora empregando-a em dose maior (40 mg) e por período de tempo mais prolongado (6 meses). Em estudo randomizado e aberto, Verma et al. (53) descrevem uma redução de 47% da PcR em relação ao valores basais com o uso de

rosuvastatina 10 mg/dia, durante 20 semanas, em renais crônicos pré diálise. Em outro estudo aberto com fluvastatina 80 mg/dia (54), o nível de Pcr reduziu em 34% após seis meses de tratamento. Diferenças no delineamento e na metodologia desses três estudos que também avaliaram pacientes com DRC pré-dialítica com níveis heterogêneos de filtração glomerular, podem explicar, em parte, esses resultados discrepantes. Talvez o fator mais importante esteja relacionado com a maior dose e período de uso da vastatina que foram empregados, produzindo uma redução significativa no nível de inflamação.

Assim como a Pcr, os níveis de fibrinogênio também foram mais elevados do que em indivíduos normais no período basal, mas não apresentaram redução significativa após o uso da sinvastatina. O único estudo que avaliou o fibrinogênio na DRC foi o de Raj et al. (55), que observaram maiores níveis em pacientes em hemodiálise e com DRC pré-dialítica em comparação a controles normais, mas não foi testado o efeito das vastatinas sobre esse marcador de inflamação. Trip et al. (56), estudando pacientes dislipidêmicos, mostraram um aumento do fibrinogênio dose dependente com o uso crônico de sinvastatina ou atorvastatina, achado que também foi descrito por outros autores (57). É possível que o efeito das vastatinas sobre o fibrinogênio seja mais complexo, e não restrito ao componente inflamatório, envolvendo outras vias como a cascata de coagulação.

No presente estudo, a sinvastatina não modificou, a curto prazo, os marcadores de estado inflamatório. Foi uma droga segura, sem efeitos adversos significativos, e eficaz por reduzir, significativamente, os níveis de colesterol nos dois períodos do estudo, o que pressupõe aderência dos pacientes ao tratamento. Para explicar diferenças em relação aos estudos citados, especula-se que a dose e o período de tempo empregados foram insuficientes, visto que outros autores observaram uma redução significativa dos marcadores, utilizando tratamentos mais agressivos e prolongados (52-54). Li e Chen (23), em estudo in vitro com cultura de monócitos humanos, mostraram que a sinvastatina inibe a liberação de citocinas

pró-inflamatórias de forma dose dependente. Outra possibilidade a ser considerada é que pacientes em estágios mais iniciais da DRC apresentem inflamação em níveis mais baixos do que pacientes em tratamento dialítico, uma vez que esses estão submetidos a estímulos pró-inflamatórios diversos. As medianas e os intervalos interquartis da Pcr, descritos para pacientes em diálise, por exemplo, são maiores do que o observado em nossos estudo: 14,8[3,2-57,9] mg/l (49), 9[5-22] mg/l (51), 3,6[3,2 – 82] mg/l (58) versus 3,12[0,89-6,86] mg/l, respectivamente. Deve-se considerar, também, o efeito de interações entre doença de base, estado nutricional e uso de drogas que interferem na resposta inflamatória, como o uso de I-ECA e BRA-II, que a reduzem (59). Em acordo com essa hipótese, observamos que, no subgrupo de pacientes diabéticos, os níveis de fibrinogênio foram sempre mais elevados do que nos não-diabéticos; além disso, durante o uso de sinvastatina, esses níveis foram significativamente menores do que quando do uso de placebo, sugerindo um efeito protetor da vastatina em relação a esse marcador de inflamação.

O estresse oxidativo, medido pelas carbonilas e pela capacidade antioxidante, não se modificou com o uso de sinvastatina no presente estudo. Não encontramos estudos que tenham testado o efeito das vastatinas sobre a oxidação protéica ou lipídica, ou modificação na defesa antioxidante na população de pacientes com DRC em fase pré-dialítica. É importante observar que os níveis basais de carbonilas e de TRAP nesses pacientes com DRC estiveram sempre mais elevados em comparação a indivíduos sadios, dado descrito também em outros estudos, mas com urêmicos em diálise (55,60,61). A capacidade antioxidante do plasma, que expressa a combinação do efeito de grupos tióis (especialmente glutathiona), ácido úrico e ascorbato como sistemas de defesa, reduz-se inicialmente, diante de um estímulo oxidativo, pela depleção desses elementos. Com a persistência do estímulo, como, por exemplo, intoxicações por metais pesados (62) ou uso terapêutico de ferro endovenoso (36,58,63), o TRAP se eleva na tentativa de recuperar o estado antioxidante prévio antes que

ocorra dano tecidual. Bianchi et al. (36) demonstraram níveis aumentados pré-sessão de hemodiálise de carbonilas ($5,62 \pm 0,46$ nmol/mg prot) e de TRAP ($1476,5 \pm 119,4$ U Trolox/ μ l) em pacientes hemodialisados quando comparados a controles normais ($3,3 \pm 0,25$ nmol/mg prot e $279,8 \pm 28,3$ U Trolox/ μ l, respectivamente), o que sugere a influência do ambiente urêmico na modificação das defesas anti-oxidantes.

As vastatinas parecem melhorar o EO na DRC terminal, como demonstrado em estudos clínicos com pacientes renais crônicos em diálise. No estudo de Diepeveen et al. (50), a atorvastatina, na dose de 40 mg por doze semanas, reduziu o LDL oxidado em pacientes dialisados estáveis. Da mesma forma, Nishikawa et al. (63), empregando sinvastatina 5 mg/dia por 24 semanas, mostraram uma redução significativa do malondialdeído, um índice de peroxidação lipídica. No estudo de Chang et al. (48), entretanto, a sinvastatina não modificou os níveis plasmáticos de malondialdeído. Novamente, a dose e o tempo de uso da vastatina empregados em nosso estudo podem ter sido insuficientes para modificar o estresse oxidativo de forma consistente, a ponto de essa mudança poder ser detectada no limite dos métodos de dosagem das carbonilas e do TRAP.

É importante considerar que múltiplos fatores, de forma isolada ou combinada, modulam a inflamação crônica e o estresse oxidativo ao longo do tempo e que diferentes estímulos podem modificar mediadores pró-inflamatórios e seus produtos. São exemplos as infecções ocultas, a doença de base, como diabetes melito, a insuficiência cardíaca, a atividade do sistema renina angiotensina aldosterona e o nível de função renal residual. Como exemplo, o uso de I-ECA em pacientes com DRC terminal reduziu os níveis de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e de PcR (59), e, em outro estudo, o inibidor do receptor da angiotensina II diminuiu o TNF- α , a interleucina 6 e moléculas de adesão plasmáticas (64). Não encontramos diferenças nos marcadores inflamatórios e de EO após o tratamento com sinvastatina quando comparou-se pacientes com ou sem uso de I-ECA ou BRA-II, diabéticos ou não diabéticos,

hipercolesterolêmicos ou não hipercolesterolêmicos e eutróficos ou desnutridos. A presença de diabetes melito parece interagir com inflamação, aumentando os níveis de fibrinogênio. Deve-se ressaltar que o nível de filtração glomerular não deve ter influenciado esses resultados, pois a sua medida manteve-se estável até o final do seguimento e não diferiu entre os grupos sinvastatina e placebo.

O uso de vastatinas tem se difundido como medida cardioprotetora e, possivelmente, nefroprotetora, em combinação com outros tratamentos como antiadesivos plaquetários, vasodilatadores e antioxidantes. Pacientes dislipidêmicos com DRC devem receber uma vastatina para prevenção primária e secundária de eventos cardiovasculares, mas essas drogas ainda não têm o seu efeito comprovado sobre inflamação e EO em ensaios clínicos randomizados de longa duração.

No presente estudo, concluímos que o uso de vastatina, na dose de 20 mg/dia, por oito semanas, não modificou, agudamente, os marcadores de inflamação e de estresse oxidativo em pacientes com doença renal crônica estágios, 3 e 4. É possível que sejam necessárias doses maiores e/ou tempo mais prolongado de uso dessas drogas para que ocorram seus potenciais efeitos pleotrópicos nessa população de pacientes.

AGRADECIMENTOS

À professora Adriane Belló Klein e equipe do Departamento de Fisiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela assistência técnica e disponibilidade na análise do estresse oxidativo.

Ao laboratório BIOLAB pelo fornecimento da sinvastatina e do placebo.

REFERÊNCIAS

1. Culeton BF, Larson MG, Wilson PW, Evans JC, Parfrey PS, Levy D. Cardiovascular disease and mortality in a community-based cohort with mild renal insufficiency. *Kidney Int* 1999;56(6):2214-9.
2. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004;351(13):1296-305.
3. Henry RM, Kostense PJ, Bos G, Dekker JM, Nijpels G, Heine RJ, et al. Mild renal insufficiency is associated with increased cardiovascular mortality: The Hoorn Study. *Kidney Int* 2002;62(4):1402-7.
4. United States Renal Data Systems, USRDS 2006 Annual Data Report: Atlas of end-stage renal disease in the United States, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. http://www.usrds.org/2006/ref/H_morte_06.pdf (acessado em julho de 2006).
5. 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.
6. Rattazzi M, Puato M, Faggin E, Bertipaglia B, Grego F, Pauletto P. New markers of accelerated atherosclerosis in end-stage renal disease. *J Nephrol* 2003;16(1):11-20.
7. Stenvinkel P, Pecoits-Filho R, Lindholm B. Coronary artery disease in end-stage renal disease: no longer a simple plumbing problem. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(7):1927-39.
8. Lindner A, Charra B, Sherrard DJ, Scribner BH. Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 1974;290(13):697-701.

9. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paulter F, Diczfalussy U, Wang T, Berglund L, et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999;55(5):1899-911.
10. Shlipak MG, Fried LF, Cushman M, Manolio TA, Peterson D, Stehman-Breen C, et al. Cardiovascular mortality risk in chronic kidney disease: comparison of traditional and novel risk factors. *JAMA* 2005;293(14):1737-45.
11. Yeun JY, Kaysen GA. C-Reactive protein, oxidative stress, homocysteine, and troponin as inflammatory and metabolic predictors of atherosclerosis in ESRD. *Cur Opin Nephrol Hypert* 2000; 9:621-630.
12. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340(2):115-26.
13. Torzewski J, Torzewski M, Bowyer DE, Frohlich M, Koenig W, Waltenberger J, et al. C-reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 1998; 18:1386-1392.
14. Papagianni A, Kalovoulos M, Kirmizis D, Vainas A, Belechri AM, Alexopoulos E, et al. Carotid atherosclerosis is associated with inflammation and endothelial cell adhesion molecules in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(1):113-9.
15. Lawson JA, Lazarus R, Kelly JJ. Prevalence and prognostic significance of malnutrition in chronic renal insufficiency. *J Ren Nutr* 2001;11(1):16-22.
16. Stenvinkel P, Barany P, Chung SH, Lindholm B, Heimbürger O. A comparative analysis of nutritional parameters as predictors of outcome in male and female ESRD patients. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(7):1266-74.
17. Heimbürger O, Qureshi AR, Blaner WS, Berglund L, Stenvinkel P. Hand-grip muscle strength, lean body mass, and plasma proteins as markers of nutritional status in patients

- with chronic renal failure close to start of dialysis therapy. *Am J Kidney Dis* 2000;36(6):1213-25.
18. Bergstrom J., Lindholm B. Nutrition and adequacy of dialysis. How do hemodialysis and CAPD compare? *Kidney Int.* 1993; 43: 439-550.
 19. Bergstrom J, Lindholm B. Malnutrition, cardiac disease, and mortality: an integrated point of view. *Am J Kidney Dis* 1998;32(5):834-41.
 20. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergstrom J. 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.
 21. Kalantar-Zadeh K, Ikizler TA, Block G, Avram MM, Kopple JD. Malnutrition-inflammation complex syndrome in dialysis patients: causes and consequences. *Am J Kidney Dis* 2003;42(5):864-81.
 22. Riessen R, Axel DI, Fenchel M, Herzog UU, Rossmann H, Karsch KR. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on extracellular matrix expression in human vascular smooth muscle cells. *Basic Res Cardiol* 1999;94(5):322-32.
 23. Li JJ, Chen XJ. Simvastatin inhibits interleukin-6 release in human monocytes stimulated by C-reactive protein and lipopolysaccharide. *Coron Artery Dis* 2003;14(4):329-34.
 24. Ferro D, Parrotto S, Basili S, Alessandri C, Violi F. Simvastatin inhibits the monocyte expression of proinflammatory cytokines in patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(2):427-31.
 25. Rosenson RS, Tangney CC. Antiatherothrombotic properties of statins: implications for cardiovascular event reduction. *JAMA* 1998;279(20):1643-50.

26. Mayer J, Eller T, Brauer P, Solleder EM, Schafer RM, Keller F, et al. Effects of long-term treatment with lovastatin on the clotting system and blood platelets. *Ann Hematol* 1992;64(4):196-201.
27. Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC, Frei B, Selwyn AP, Ganz P. The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 1995;332(8):488-93.
28. O'Driscoll G, Green D, Taylor RR. Simvastatin, an HMG-coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation* 1997;95(5):1126-31.
29. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS, Talley JD, Stillabower ME, Kosinski AS, et al. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1995;332(8):481-7.
30. Seliger SL, Weiss NS, Gillen DL, Kestenbaum B, Ball A, Sherrard DJ, et al. HMG-CoA reductase inhibitors are associated with reduced mortality in ESRD patients. *Kidney Int* 2002;61(1):297-304.
31. Tonelli M, Isles C, Curhan GC, Tonkin A, Pfeffer MA, Shepherd J, et al. Effect of pravastatin on cardiovascular events in people with chronic kidney disease. *Circulation* 2004;110(12):1557-63.
32. Blanco-Colio LM, Tunon J, Martin-Ventura JL, Egido J. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of statins. *Kidney Int* 2003;63(1):12-23.
33. Massy ZA, Guijarro C. Statins: effects beyond cholesterol lowering. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16(9):1738-41.
34. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation.

- Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999; 130(6): 461-70.
35. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol* 1994;233:357-63.
 36. Bianchi PD, Barp J, Belló-Klein A, Menna Barreto SS, Thomé FS. Avaliação de antioxidantes em doentes renais crônicos em hemodiálise. In Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental 2003, 18^a, Pinhais. Programa e Resumos, São Paulo: FESBE, 2003 no. 07.001 - CD-ROM.
 37. Lissi E, Pascual C, Del Castillo MD. Luminol luminescence induced by 2,2'-Azo-bis(2-amidinopropane) thermolysis. *Free Radic Res Commun* 1992;17(5):299-311.
 38. Baker JP, Detsky AS, Wesson DE, Wolman SL, Stewart S, Whitewell J, et al. Nutritional assessment: a comparison of clinical judgment and objective measurements. *N Engl J Med* 1982; 306:967-972.
 39. Waitzberg DL. Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica. – 3^a ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2001.
 40. Montgomery, DC. Design and analysis of experiments. 3^a edição, John Wiley & sons, Nova Yorque, USA, 1976. Pag. 134-75.
 41. Koenig W. Update on C-reactive protein as a risk marker in cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl* 2003(84):S58-61.
 42. Wang AY, Woo J, Lam CW, Wang M, Sea MM, Lui SF, et al. Is a single time point C-reactive protein predictive of outcome in peritoneal dialysis patients? *J Am Soc Nephrol* 2003;14(7):1871-9.
 43. Danesh J, Lewington S, Thompson SG, Lowe GD, Collins R, Kostis JB, et al. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA* 2005;294(14):1799-809.

44. Tonelli M, Sacks F, Pfeffer M, Jhangri GS, Curhan G. Biomarkers of inflammation and progression of chronic kidney disease. *Kidney Int* 2005;68(1):237-45.
45. Berlett BS, Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J Biol Chem* 1997;272(33):20313-6.
46. Stadtman ER, Berlett BS. Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Drug Metab Rev* 1998;30(2):225-43.
47. Miyata T, Sugiyama S, Saito A, Kurokawa K. Reactive carbonyl compounds related uremic toxicity ("carbonyl stress"). *Kidney Int Suppl* 2001;78:S25-31.
48. Chang JW, Yang WS, Min WK, Lee SK, Park JS, Kim SB. Effects of simvastatin on high-sensitivity C-reactive protein and serum albumin in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2002;39(6):1213-7.
49. van den Akker JM, Bredie SJ, Diepenveen SH, van Tits LJ, Stalenhoef AF, van Leusen R. Atorvastatin and simvastatin in patients on hemodialysis: effects on lipoproteins, C-reactive protein and in vivo oxidized LDL. *J Nephrol* 2003;16(2):238-44.
50. Diepeveen SH, Verhoeven GW, Van Der Palen J, Dikkeschei LD, Van Tits LJ, Kolsters G, et al. Effects of atorvastatin and vitamin E on lipoproteins and oxidative stress in dialysis patients: a randomised-controlled trial. *J Intern Med* 2005;257(5):438-45.
51. Vernaglione L, Cristofano C, Muscogiuri P, Chimienti S. Does atorvastatin influence serum C-reactive protein levels in patients on long-term hemodialysis? *Am J Kidney Dis* 2004;43(3):471-8.
52. Panichi V, Paoletti S, Mantuano E, Manca-Rizza G, Filippi C, Santi S, et al. In vivo and in vitro effects of simvastatin on inflammatory markers in pre-dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21(2):337-44.

53. Verma A, Ranganna KM, Reddy RS, Verma M, Gordon NF. Effect of rosuvastatin on C-reactive protein and renal function in patients with chronic kidney disease. *Am J Cardiol* 2005;96(9):1290-2.
54. Di Lullo L, Addesse R, Comegna C, Firmi G, Galderisi C, Iannacci GR, et al. Effects of fluvastatin treatment on lipid profile, C-reactive protein trend, and renal function in dyslipidemic patients with chronic renal failure. *Adv Ther* 2005;22(6):601-12.
55. Raj DS, Dominic EA, Pai A, Osman F, Morgan M, Pickett G, et al. Skeletal muscle, cytokines, and oxidative stress in end-stage renal disease. *Kidney Int* 2005;68(5):2338-44.
56. Trip MD, van Wissen S, Smilde TJ, Hutten BA, Stalenhoef AF, Kastelein JJ. Effect of atorvastatin (80 mg) and simvastatin (40 mg) on plasma fibrinogen levels and on carotid intima media thickness in patients with familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2003;91(5):604-6.
57. Rosenson RS, Tangney CC, Schaefer EJ. Comparative study of HMG-CoA reductase inhibitors on fibrinogen. *Atherosclerosis* 2001;155(2):463-6.
58. Nascimento MM, Suliman ME, Bruchfeld A, Hayashi SY, Manfro RC, Qureshi AR et al. The influence of hepatitis C and iron replacement therapy on plasma pentosidine levels in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(12):3112-6.
59. Stenvinkel P, Andersson P, Wang T, Lindholm B, Bergstrom J, Palmblad J, et al. Do ACE-inhibitors suppress tumour necrosis factor-alpha production in advanced chronic renal failure? *J Intern Med* 1999;246(5):503-7.
60. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt JP, Kebede M, Salama L, Lambrey G, et al. Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16(2):335-40.

61. Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, McMonagle E, Morrow J, Ikizler TA, et al. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int* 2004;65(3):1009-16.
62. Gutierrez LL, Mazzotti NG, Araujo AS, Klipel RB, Fernandes TR, Llesuy SF, et al. Peripheral markers of oxidative stress in chronic mercuric chloride intoxication. *Braz J Med Biol Res* 2006;39(6):767-72.
63. Nishikawa O, Mune M, Miyano M, Nishide T, Nishide I, Maeda A, et al. Effect of simvastatin on the lipid profile of hemodialysis patients. *Kidney Int Suppl* 1999;71:S219-21.
64. Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, Mabuchi N, Hayashi M, Tsutsui T, et al. Angiotensin II type 1 receptor antagonist decreases plasma levels of tumor necrosis factor alpha, interleukin-6 and soluble adhesion molecules in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000;35(3):714-21.

Tabela 1 - Características clínicas e demográficas dos grupos

	Grupo 1 (S-P) (N=33)	Grupo 2 (P-S) (N=33)	P
Idade (anos)	55,8±15,3 ¹	52,4±15,7	0,36
Sexo masculino	15 (45,5%) ²	17 (51,5%)	0,62
Caucasianos	23 (69,7%)	27 (81,8%)	0,32
Etiologia DRC			
DM	8 (24,2%)	9 (25,7%)	1,00
HAS	5 (14,7%)	9 (26,4%)	1,00
GNC	6 (17,6%)	5 (14,7%)	1,00
Outras	15 (44,2%)	11 (32,5%)	0,98
Comorbidades	2,06±0,50	2,17±0,86	0,51
Desnutrição	19%	22%	1,00
ASG	4,7±2,9	4,2±2,4	0,73
I-ECA e/ou BRA-II	23 (69,6%)	29 (87,8%)	0,71
TFG (ml/min/1,73m²)	31,6±9,7	32,4±11,0	0,74

¹média±DP; ²N(%); S=sinvastatina; P=placebo; DRC=doença renal crônica; DM=diabete melito; HAS=hipertensão arterial sistêmica; GNC=glomerulonefrite crônica; ASG=avaliação subjetiva global; I-ECA=inibidor da enzima de conversão da angiotensina; BRA-II=bloqueador do receptor da angiotensina II; TFG=taxa de filtração glomerular (MDRD)

Tabela 2 - Parâmetros laboratoriais dos grupos no período basal

	Grupo 1 (S-P) (N=33)	Grupo 2 (P-S) (N=33)	p
Albumina (g/dl)	4,2±0,3 ¹	4,3±0,3	0,45
Hemoglobina (g/dl)	12,4±1,7	12,6±1,4	0,66
Glicemia (mg/dl)	113,3±60,2	119,3±61,6	0,68
Colesterol Total (mg/dl)	216,9±51,5	195,1±30,3	0,03
Colesterol HDL (mg/dl)	49,0±13,0	48,1±15,5	0,79
Colesterol LDL (mg/dl)	133,7±39,4	114,1±29,3	0,02
Triglicerídeos (mg/dl)	181,5±108,3	195,2±165,0	0,68
Pr/Cr	0,72±1,0	0,85±0,9	0,59

¹média±DP; Pr/Cr=índice proteinúria/creatininúria; S=sinvastatina; P=placebo.

Tabela 3 - Valores basais dos marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo

	N	Grupo 1 (S-P)	Grupo 2 (P-S)	p
PcR (mg/l)	65	2,31 (0,97-7,10) ¹	3,40 (0,51-6,85)	0,57
Fibrinogênio (mg/dl)	66	369±74 ²	372±70	0,83
Carbonilas (nmol/mg prot)	61	11,6±2,74	10,6±2,88	0,019
TRAP (U Trolox/μl)	57	2014,3±929,4	1885,5±911,6	0,18

¹Mediana e intervalo interquartil; ²média±DP; S=sinvastatina; P=placebo;
PcR=proteína C reativa; TRAP= parâmetro antioxidante de captura de radicais totais;
Valores de referencia em indivíduos normais: Carbonilas <3,8 nmol/mg prot; TRAP <337 U Trolox/μl.

Tabela 4 - Evolução dos parâmetros inflamatórios e de estresse oxidativo nos grupos S-P e P-S

	Basal	Medida 1	Medida 2
PcR			
S-P	2,31 ¹ (0,97-7,11)	2,67 (1,01-4,77)	3,20 (1,42-6,63)
P-S	3,40 (0,59-6,85)	3,79 (1,48-6,46)	2,92 (0,93-5,62)
Fibr			
S-P	369±74 ²	403±99	409±86
P-S	373±70	386±104	401±100
Carb			
S-P	11,6±2,7*	11,4±3,4	10,9±3,5
P-S	10,6±2,8	11,0±3,4	11,7±3,8
TRAP			
S-P	2014,3±929,4	2255,6±906,7	2008,1±902,0
P-S	1885,5±911,6	2056,5±797,7	2162,8±987,4
TFG			
S-P	31,6±9,7	30,6±10,4	30,9±12,6
P-S	32,4±11,0	31,0±11,8	31,4±10,2

S=sinvastatina; P=placebo; PcR=proteína C reativa (mg/l); Fibr=fibrinogênio (mg/dl); Carb=carbonilas (nmol/mg prot); TRAP= parâmetro antioxidante de captura de radicais totais (U Trolox/ μ l); TFG=taxa de filtração glomerular, MDRD (ml/min/1,73m²); ¹Mediana e intervalo interquartil; ²Média±DP; *p=0,019 (G1 vs. G2)

Tabela 5 - Efeitos adversos do tratamento sobre o nível de transaminases e de creatinofosfoquinase

	Medida 1		p	Medida 2		p
	G1 (N=33)	G2 (N=33)		G1 (N=33)	G2 (N=33)	
ALT (U/l), n(%)	1(3)	2(6,3)	0,23	0(0)	3(9,1)	1,0
AST (U/l), n(%)	0(0)	2(6,5)	0,61	2(6,1)	2(6,1)	0,07
CPK (U/l), n(%)	7(21,2)	6(18,8)	0,8	6(18,2)	10(30,3)	0,25

ALT=alanino aminotransferase; AST=aspartato aminotransferase; CPK=creatinofosfoquinase

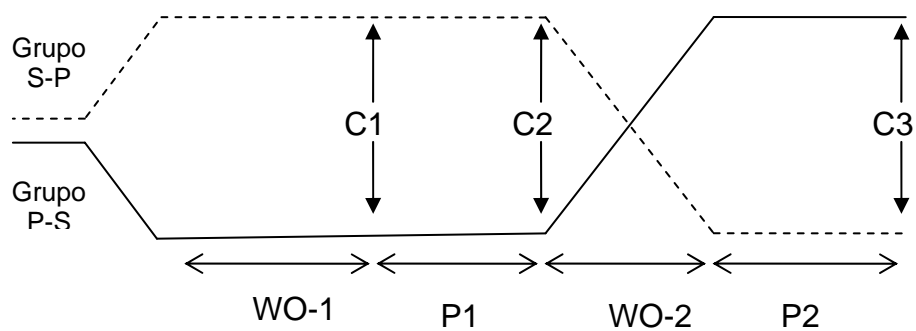


Figura 1 - Protocolo de randomização, wash out e intervenções
S=sinvastatina; P=placebo; WO= wash out (4 semanas);
P= período (8 semanas); C=coleta de exames.

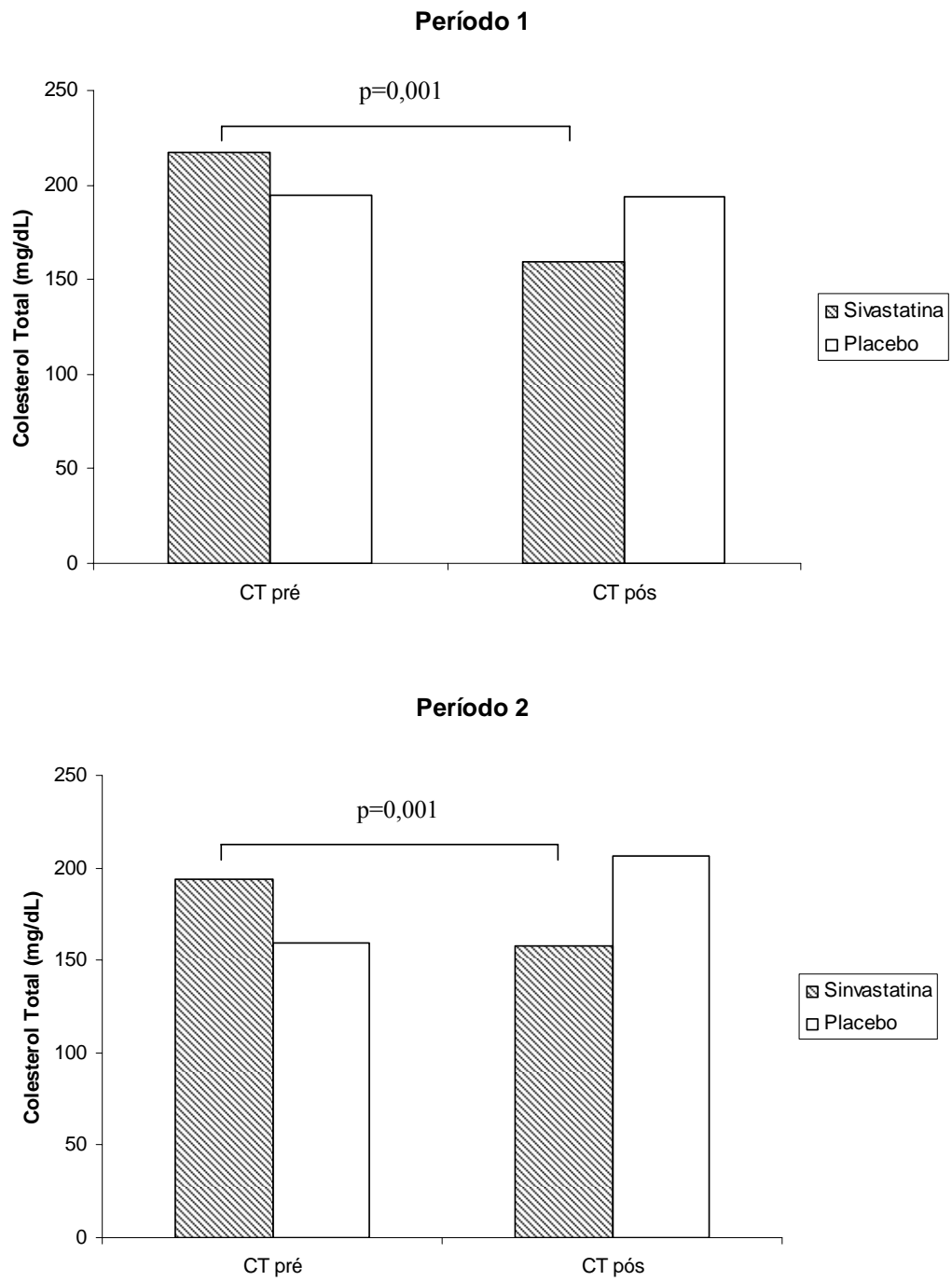


Figura 2 - Variação dos níveis de colesterol total por grupo de randomização e por período. CT: Colesterol total

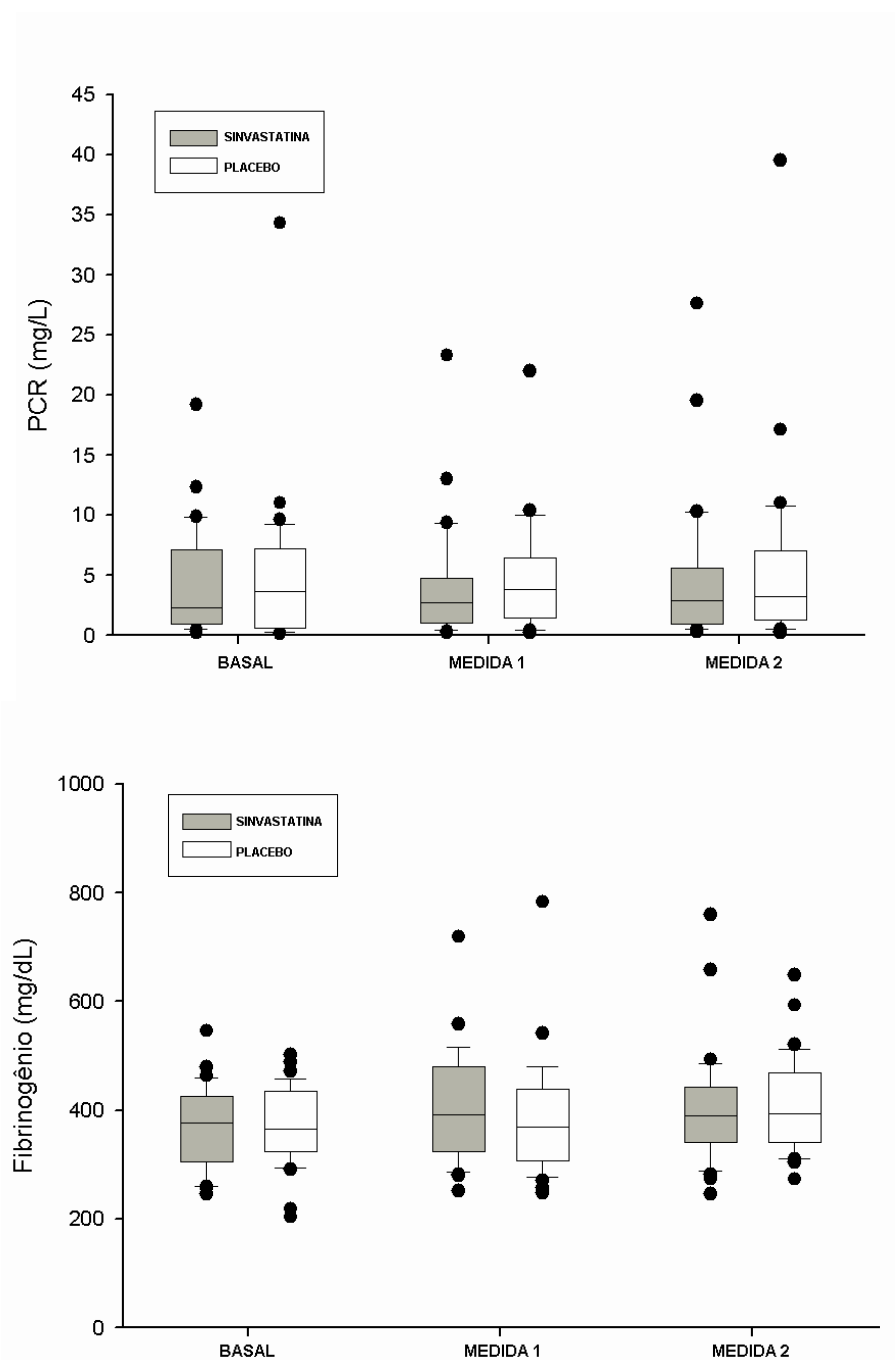


Figura 3 - Variação das medidas dos marcadores inflamatórios por grupo e por período. Pcr e fibrinogênio (S-P vs. P-S): p=NS (não significativo) para medida basal, 1 e 2

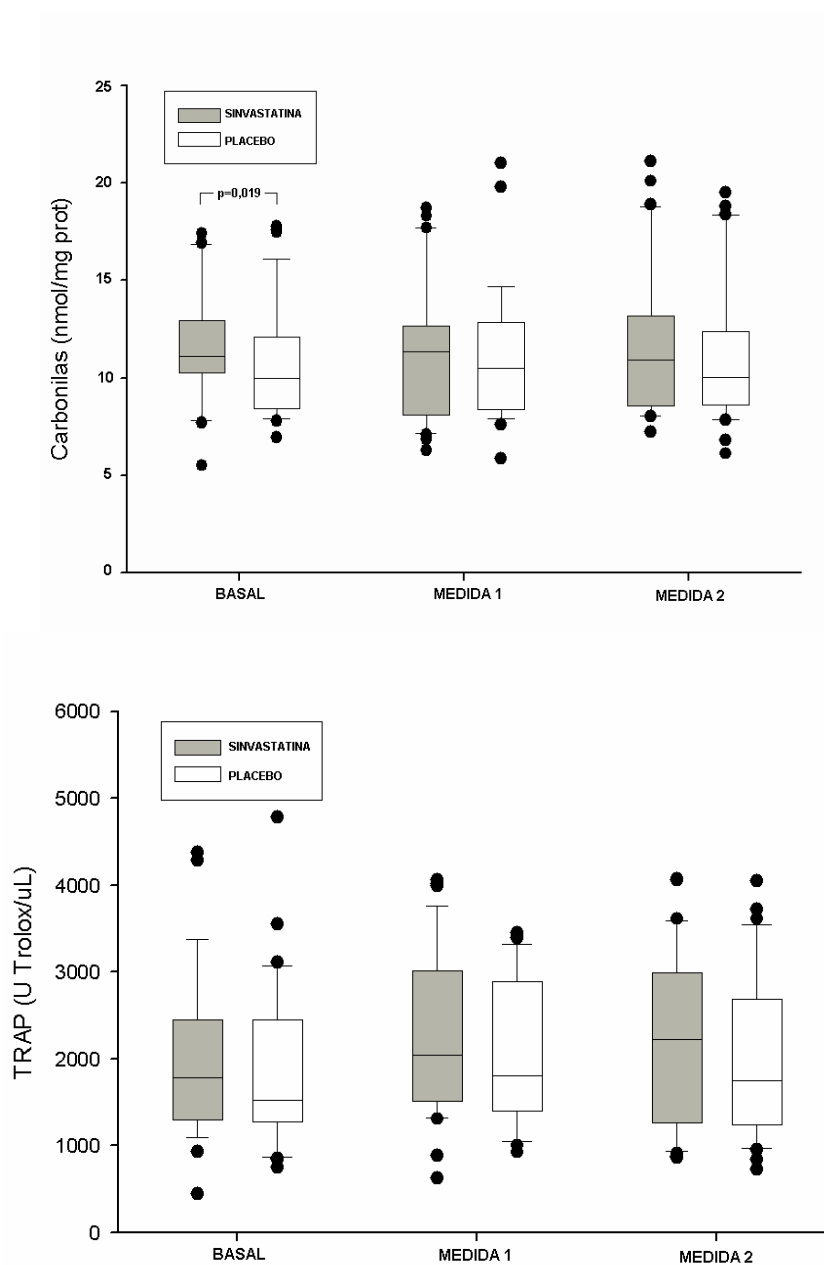


Figura 4 - Variação das medidas de estresse oxidativo por grupo e por período. TRAP= parâmetro antioxidante de captura de radicais totais; Carbonilas (S-P vs. P-S): $p=NS$ (não significativo), medida 1 e 2; TRAP (S-P vs. P-S): $p=NS$, medida basal, 1 e 2

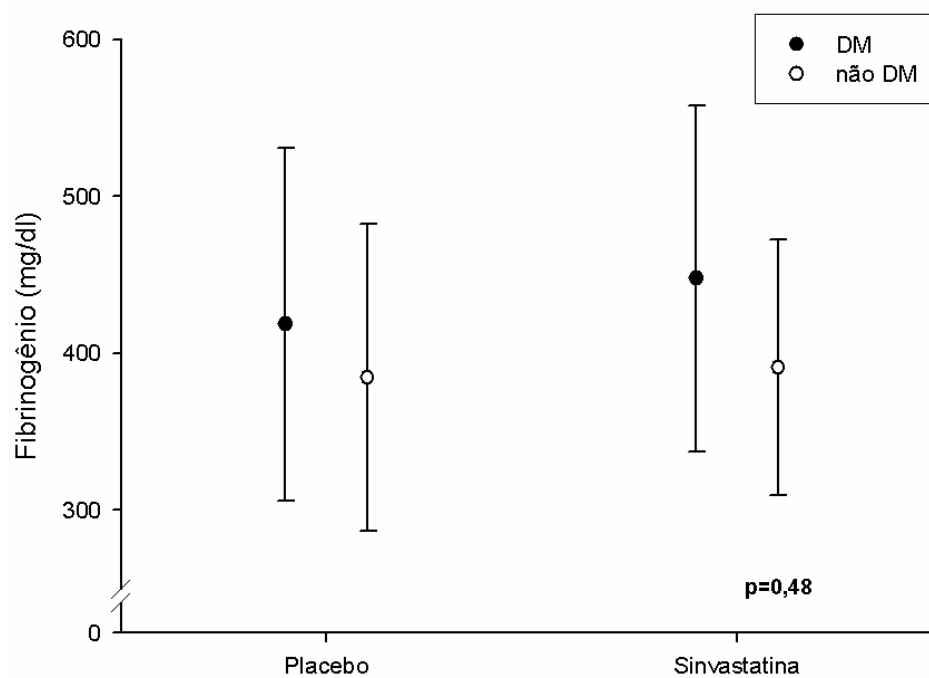


Figura 5 – Análise de variância para medidas de repetição (GLM) para avaliação de interação entre diabetes melito e a resposta ao tratamento sobre os níveis de fibrinogênio. Os níveis de fibrinogênio foram significativamente mais elevados nos diabéticos, nos dois períodos ($p=0,039$).

6 CONCLUSÃO

Os inibidores da HMG-CoA redutase são uma classe de drogas que apresentam múltiplos efeitos além da redução do colesterol, influenciando o estado inflamatório crônico e o estresse oxidativo de pacientes com doença renal crônica (DRC). Neste estudo randomizado e controlado com placebo, a sinvastatina não modificou, agudamente, os marcadores de inflamação e de estresse oxidativo em pacientes com DRC, estágios 3 e 4. Não foram constatadas, também, diferenças nos marcadores inflamatórios e de EO em resposta à sinvastatina, comparando pacientes com ou sem uso de I-ECA e/ou BRA-II, desnutridos ou eutróficos, hipercolesterolêmicos ou normocolesterolêmicos. Não foram identificadas interações entre resposta ao tratamento e diabetes, desnutrição, hipercolesterolemia ou uso de I-ECA ou BRA-II, sobre os desfechos inflamação e EO.

A possibilidade de que a sinvastatina, no presente estudo, tenha sido empregada em dose e por tempo insuficientes para produzir efeitos detectáveis, isto é, redução de inflamação e de estresse oxidativo nesses pacientes com doença renal crônica em fase não-dialítica, deve ser considerada. Outra hipótese explicativa pode residir no fato de que, na população de urêmicos em diálise, exposta a potentes estímulos pró-inflamatórios e pró-oxidantes, os efeitos pleotrópicos das vastatinas possam ser mais facilmente detectados em estudos com esse delineamento.

ANEXOS

ANEXO 1 – Termo de Consentimento

Título da Pesquisa: Efeito da sinvastatina sobre os níveis séricos de Interleucina-6, Proteína C Reativa e estresse oxidativo em pacientes urêmicos com insuficiência renal crônica terminal em fase pré-dialítica, Consentimento Informado.

Você está sendo convidado a participar de um estudo científico. Este estudo que será conduzido por um grupo de pesquisadores pelo Serviço de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Tem como objetivo avaliar uma medicação chamada Sinvastatina em pacientes que apresentam mau funcionamento dos rins por longo tempo, o que é chamado de Insuficiência Renal Crônica.

Você foi selecionado como possível participante, por apresentar esta doença, estar em tratamento com medicamentos e dieta e por ser paciente do ambulatório do Serviço de Nefrologia.

A Sinvastatina é usada para o tratamento do colesterol alto. Porém, em nosso estudo, será usada com outra finalidade. Nas doenças crônicas, como a insuficiência renal, algumas substâncias no sangue, chamadas inflamatórias, estão em taxas elevadas e podem piorar a evolução da doença.

Portanto, nosso objetivo principal é saber se a Sinvastatina pode diminuir estas substâncias no sangue e assim ajudar a proteger os seus rins.

Procedimento:

O início desta pesquisa está previsto para março de 2004. Deve ocupar um período de dois anos. Sua participação será de 20 semanas. Serão utilizados dois grupos de pacientes (exemplo: grupo 1 e grupo 2) e dois tipos de diferentes de medicamentos, a Sinvastatina (medicamento A) e outras substâncias que não tem efeito medicamentoso nenhum chamado placebo (medicamento B).

Este processo inclui uma avaliação do seu estado de nutrição por uma nutricionista (entrevista e exame músculos e gordura do seu corpo), três coletas de sangue para exames de laboratório onde serão dosados diversos elementos do sangue (proteínas, colesterol, função dos rins, cálcio, fósforo, glicose) e uma coleta de uma amostra de urina para dosar proteínas.

A distribuição dos grupos (1 e 2) e dos remédios (A e B) que cada grupo usará, será feita por acaso (exemplo: previamente por um programa de computador). Com isso, tanto os pacientes quanto a equipe de pesquisa, não saberão que tipo de remédio cada um estará usando, pois não será possível diferenciar os remédios entre si. Isso aumenta muito a confiabilidade dos dados que serão coletados na pesquisa.

Inicialmente os participantes ficarão 4 semanas sem o uso de remédios que baixem o colesterol e/ou triglicérides. Ao final destas 4 semanas, será feita a primeira coleta do sangue para exames laboratoriais.

Após, um grupo receberá o remédio Sinvastatina (A) na dose de 20mg à noite e o outro grupo receberá a outra substância (B), na mesma hora. Os remédios serão mantidos por um período de 8 semanas. Então, nova coleta de sangue será feita para exames.

Depois das 8 semanas de tratamento, haverá a troca dos remédios entre os grupos. Quem usou a medicação A passará a usar a B. E quem usou a medicação B passará a usar a A, por mais 8 semanas. Ao final, a última coleta de sangue para exames laboratoriais será feita. Os resultados finais serão submetidos à análise.

Riscos e Benefícios de estar neste estudo:

1. Este estudo apresenta os seguintes riscos:

1.1. Relacionado ao uso da medicação: dores musculares (15%) e câibras (5%).

Com menor frequência pode ocorrer hepatite (1%) e lesão das células dos músculos (0,1%). Estes efeitos colaterais serão controlados rigorosamente, através do exame que os médicos farão nos pacientes periodicamente e pela realização de exames de laboratório para averiguar se algum teste está alterado.

1.2. Relacionado a coleta de sangue: dor e manchas roxas no local da coleta.

2. Este estudo apresenta os seguintes benefícios:

2.1. A medicação Sinvastatina há muito tempo é usada de forma segura para o tratamento da dislipidemia, isto é, do colesterol elevado, prevenindo assim doenças cardiovasculares, principalmente a aterosclerose. Também pode levar a uma redução das substâncias inflamatórias no sangue. Desta forma, outros pacientes com insuficiência renal poderão usar esta medicação como parte do seu tratamento como forma de proteção aos rins.

Acompanhamento:

Durante a realização do estudo haverá acompanhamento dos médicos pesquisadores no ambulatório do Serviço de Nefrologia, em datas a serem determinadas. No caso do paciente apresentar alguma urgência relacionadas ao estudo e/ou ao uso do remédio, deverá deslocar-se até a Emergência do HCPA para receber o primeiro atendimento. O esclarecimento de dúvidas pode ser feito pelo telefones 0(xx)51 – 3715-2965.

Confidencialidade:

Suas informações pessoais e os resultados dos exames obtidos nesta pesquisa serão mantidos em sigilo. Caso os resultados forem divulgados (exemplo: revistas, livros médicos) sua identidade segue preservada. Isso inclui a não divulgação de nome, iniciais, registros ou outras formas de cadastro.

A pesquisa terá um patrocinador externo (Indústria Farmacêutica). Caso este patrocinador queira acompanhar e fiscalizar o andamento da pesquisa, ainda assim, manteremos suas informações em sigilo.

Logo após a análise do sangue coletado, ele será descartado no laboratório, não podendo assim ser usado para outra finalidade.

Identificação dos Pesquisadores:

Pesquisador responsável: Dr. Francisco Veronese

Telefone para contato: 0 (xx)51 3316-8295 ou 3316-8121

Pesquisador associado: Dr. Claus Dieter Dummer

Telefone para contato: 0(xx)51 3715-2965

É importante ressaltar que o senhor (a), não terá nenhum benefício direto ou auxílio financeiro pela participação no estudo.

Você pode fazer qualquer pergunta neste momento.

O esclarecimento de dúvidas poderá ser feito posteriormente pelos telefones acima indicados.

Você receberá uma cópia deste formulário para ser guardada

Eu, _____, declaro que fui informado da finalidade do estudo, assim como dos procedimentos propostos e concordo em participar do mesmo. Estou ciente de que a qualquer momento posso mudar de opinião e abandonar esta pesquisa sem prejuízo algum para o meu tratamento no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

_____ Local: _____ Data: ____/____/____
Participante

_____ Local: _____ Data: ____/____/____
Responsável

_____ Local: _____ Data: ____/____/____
Investigador

ANEXO 2 – Formulário de Pesquisa

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia Projeto 04-086

1. Identificação:	
Nome: _____	
Nome Responsável: _____	
DN: ___/___/___	Idade: ____ Sexo: <input type="checkbox"/> Masc.(1) <input type="checkbox"/> Fem. (2)
Cor: <input type="checkbox"/> Branco (1) <input type="checkbox"/> Negro (2) <input type="checkbox"/> Oriental (3)	Peso: ____ kg Altura: ____ m
Prontuário nº: _____	Protocolo nº: _____ Randomização: <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> B

2. Endereço:	
Rua: _____	nº _____ Apto _____
Bairro: _____	Cidade: _____
CEP: _____	e-mail: _____
Telefones: (____) _____; (____) _____	

3. Doença de Base:	
<input type="checkbox"/> DM (1)	<input type="checkbox"/> NSH (2)
<input type="checkbox"/> Glomerulopatia Crônica (3)	<input type="checkbox"/> Rins Policísticos (4)
<input type="checkbox"/> Uropatia Obstrutiva (5)	<input type="checkbox"/> Outras (6)

4. Comorbidades:	
<input type="checkbox"/> DM (1)	<input type="checkbox"/> DCV (2)*
<input type="checkbox"/> HAS (3)	<input type="checkbox"/> Neoplasia (4)
<input type="checkbox"/> DBPOC (5)	<input type="checkbox"/> Tabagismo, nº cigarros/dia: _____
* IAM, AVC, angina, doença vascular periférica	

11. Fluxograma:

Medicação (A/B)			
Exame	1º ;data: / /	2º; data: / /	3º; data: / /
DCE calculada			
IL6			
LPO			
TRAP			
PCR			
Fibrinogênio			
Albumina			
Triglicerídeos			
Colest. Total			
Colest. HDL			
Colest. LDL			
Uréia			
Creatinina			
Htc			
Hb			
Leucócitos			
Glicose			
Cálcio			
Fósforo			
Ptn/Creatininúria			
TGO			
TGP			
CPK			

5. Medicações em uso:

1. _____ 2. _____
 3. _____ 4. _____
 5. _____ 6. _____

6. Avaliação nutricional:

Eutrófico (1) Desnutrição leve/moderada (2) Desnutrição grave (3)

7. Avaliação função renal:

MDRD: _____ ml/min TFG: _____ ml/min

8. Cronograma:

Entrevista, início 1º WA	Fim WA, 1ª coleta, início 1º medicamento	Fim 1º medicamento, 2ª coleta, início 2º WA	Fim 2º WA, início 2º medicamento	Fim 2º medicamento, 3ª coleta
___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___	___/___/___

9. Paciente retirado do projeto

Efeito colateral (1) Desistência (2)
 Início programa diálise (3) Má aderência (4)
 Morte (5) Outros (6)

10. Outras observações:

