

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

**IMPACTO PROGNÓSTICO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE
ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES EM HEMODIÁLISE CRÔNICA**

**Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre em Ciências
Médicas: Nefrologia.**

Autor: Maria Aparecida Pachaly

Orientador: Prof. Dr. Roberto C. Manfro

**Porto Alegre
2006**

"Se realmente entendemos o problema, a resposta virá dele, porque a resposta não está separada do problema"

Jiddu Krishnamurti, filósofo (1895-1986)

Dedico este trabalho a meus pais, pelos princípios que me guiam e pelo amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

Ao amigo, Dr Marcelo Mazza do Nascimento, por todo o apoio e confiança durante a realização deste trabalho, e pela integridade de seu caráter e de seus propósitos, possibilitando meu crescimento profissional, o meu mais sincero agradecimento.

Ao Dr Miguel Carlos Riella, pela oportunidade de trabalhar em sua equipe no Setor de Nefrologia do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba e Fundação Pró-Renal, locais onde encontro constante estímulo em conhecer mais intensamente a Nefrologia, minha gratidão.

Ao Dr Roberto C. Manfro, pelo auxílio na elaboração desta tese e por possibilitar que dificuldades não se tornassem obstáculos à conclusão deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

À colega e amiga, Dra Margarete Mara da Silva, por possibilitar que eu concluísse esta etapa de minha formação, por sua paciência e compreensão.

Aos coordenadores, professores e funcionários do IPEM, pela possibilidade de cumprir créditos necessários a esta etapa de minha formação.

À secretária Elizete Pazello Voluz, pela amizade e pelo auxílio na obtenção dos relatórios clínicos e dos pacientes analisados.

Às secretárias das Clínicas Evangélico, CDR e Cajuru, pelos relatórios clínicos de cada unidade.

Às equipes de enfermagem e todos os serviços auxiliares das clínicas onde obtive os dados dos pacientes.

À Dra Cristina Martins, pela avaliação nutricional dos pacientes analisados.

À amiga Melissa Nihi, pelo contínuo apoio e companheirismo, inclusive nas viagens a Porto Alegre, e por compartilhar parte do caminho deste trabalho.

À Enfermeira Ana Paula Modesto e Dr Paulo H. Fraxino, pelo auxílio na coleta de amostras e dados clínicos.

Às bioquímicas Ann-Christin Bragfors Helin e Mônica Eriksson, pela análise do material enviado à Suécia.

Ao Laboratório GR, pelo suporte técnico na coleta das amostras no Brasil.

A todos os pacientes renais crônicos (não só os que participaram deste trabalho), que me estimulam a me atualizar e aprender mais.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	v
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS	viii
1. INTRODUÇÃO	1
Referências	31
2. OBJETIVOS.....	52
3. ARTIGO EM PORTUGUÊS	53
Resumo.....	54
Palavras Chave	55
Título de Cabeçalho	56
Introdução	57
Pacientes e Métodos.....	57
Resultados	59
Discussão.....	61
Agradecimentos	64
Referências	65
Tabela 1	69
Tabela 2	70
Tabela 3	71
Tabela 4	72
Legenda das figuras.....	73
Figura 1	74
4. ARTIGO EM INGLÊS.....	75
Abstract.....	76
Key words.....	77
Heading title	78
Introduction.....	79
Subjects and methods.....	79
Results	81
Discussion	83
Acknowledgements	86
References	87
Table 1	91
Table 2	92
Table 3	93
Table 4	94
Legends to figures.....	95
Figure 1	96

LISTA DE ABREVIATURAS

8-OHDG: 8-hidroxidoxiguanosina
Alb-S: albumina sérica
ALES: produtos avançados da oxidação lipídica
APO-a1: apolipoproteína-a1
APO-e: apolipoproteína-e
ASG: avaliação subjetiva global
CANUSA, estudo: estudo Canadá-EUA
CHS, estudo: Cardiovascular Health Study
Cl⁻: cloreto
ClCr: *clearance* de creatinina
CML: carboximetil-lisina
Cu²⁺: cobre
CV: cardiovascular
DAC: doença arterial coronariana
DCV: doença cardiovascular
DIA, síndrome: desnutrição, inflamação e aterosclerose
DNA: ácido desoxiribonucléico
DP: diálise peritoneal
DRC: doença renal crônica
DRCT: doença renal crônica terminal
EO: estresse oxidativo
ERO: espécies reativas de oxigênio
Fe²⁺: íon ferroso
Fe³⁺: íon férrico
GSH: glutationa
GSH-Px: glutationa-peroxidase
H⁺: hidrogênio
H₂O₂: peróxido de hidrogênio
HCV: hepatite C
HD: hemodiálise

HDL: lipoproteína de alta densidade
HPLC: cromatografia líquida de alta *performance*
ICAM-1: moléculas de adesão intercelular
ICC: insuficiência cardíaca congestiva
IL-1: interleucina 1
IL-1 β : interleucina-1-beta
IL-6: interleucina-6
LDL: lipoproteína de baixa densidade
LDL-ox: lipoproteína de baixa densidade oxidada
MDA: malondialdeído
MDRD, estudo: modificação da dieta na doença rena
MTHFR: metiltetrahidrofolato-redutase
NADPH: nicotinamida-adenina dinucleotídeo-fosfato-oxidase
NF- κ B: fator de transcrição nuclear κ B
O₂: oxigênio molecular
O₂⁻: superóxido
OCl⁻: ácido hipocloroso
OH⁻: hidroxila
ON: óxido nítrico
PAG: produtos avançados da glicoxidação
PAOP: produto avançado da oxidação protéica
PCR: proteína C-reativa
PMN: polimorfonucleares
RNH-Cl: cloramina
rsIL-6: receptor solúvel de interleucina-6
SAA: amilóide sérico A
SOD: superóxido-dismutase
TFG: taxa de filtração glomerular
TNF- α : fator de necrose tumoral alfa
TRS: terapia renal substitutiva
VCAM-1: molécula de adesão vascular

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO EM PORTUGUÊS	53
Figura 1: Curvas de sobrevida de acordo com os níveis de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo	74
ARTIGO EM INGLÊS.....	75
Figure 1. Survival curves according to inflammatory and oxidative stress markers tertiles.....	96

LISTA DE TABELAS

ARTIGO EM PORTUGUÊS	53
Tabela 1: Características clínicas e bioquímicas em 116 pacientes em HD crônica	69
Tabela 2: Características clínicas e bioquímicas de acordo com a ASG	70
Tabela 3: Análise multivariada de risco proporcional de Cox de fatores preditivos de mortalidade	71
Tabela 4: Dados clínicos e laboratoriais basais em sobreviventes e não sobreviventes	72
ARTIGO EM INGLÊS	75
Table 1: Clinical and biochemical characteristics of 116 chronic HD patients ...	91
Table 2: Clinical and biochemical characteristics according to SGA	92
Table 3: Cox proportional hazard multivariate analysis of factors predicting mortality	93
Table 4: Clinical and laboratory characteristics in survivors and non-survivors	94

INTRODUÇÃO

Apesar de todo o esforço preventivo e terapêutico para interferir com os mecanismos que levam à doença renal, a nefrologia moderna confronta-se com dois importantes dilemas (1). Primeiramente, o número de pacientes com doença renal crônica terminal (DRCT) continua a aumentar. A DRCT atingiu proporções epidêmicas, e mais de um milhão de pacientes no mundo todo necessitam de diálise ou transplante (2). Porém, a incidência de doença renal crônica (DRC) em fase não dialítica é pelo menos 30 vezes maior que a da DRCT (3), e estes números alarmantes podem representar apenas uma pequena fração do problema real. Em segundo lugar, muitos pacientes com DRCT, sobretudo os que apresentam desnutrição, inflamação e aterosclerose têm sobrevida semelhante à de pacientes com neoplasias metastáticas (4). Apesar das melhorias na tecnologia de diálise, o prognóstico dos pacientes portadores de DRCT é muito reservado, principalmente pela presença de doença cardiovascular (DCV), que é responsável por cerca de 50% das mortes prematuras nesta população (5, 6). Então, como as conexões entre DRC e DCV são numerosas (7), a taxa de crescimento da DRC poderia conduzir a uma futura epidemia de DCV relacionada à DRC. Obviamente isto traria enormes conseqüências econômicas e de saúde pública para a sociedade.

1. DOENÇA CARDIOVASCULAR NA DRC

A DCV é a principal causa de morte na população geral e em pacientes portadores de DRC (6). Porém, entre os portadores de DRC, a gravidade e extensão das complicações cardiovasculares (CV) são alarmantes (8, 9). A mortalidade de causa cardíaca em pacientes em diálise com menos de 45 anos de idade é 100 vezes maior que na população geral. Mesmo nos idosos com DRC, a mortalidade cardiovascular é pelo menos cinco vezes maior que na população geral (5). O risco de DCV em um portador de DRC de 30 anos é semelhante ao risco de um indivíduo de 70-80 anos da população geral (9). Dados recentes sugerem que as complicações cardiovasculares se intensificam com a piora da função renal, e que grande número de pacientes já

apresenta doença cardiovascular ao iniciar tratamento dialítico (5, 10). Estes achados levaram à investigação de aspectos específicos da DRC que se relacionem com uma aceleração do processo aterogênico.

Vários estudos epidemiológicos procuraram determinar os fatores causadores ou associados que contribuem para a elevada mortalidade cardiovascular nos pacientes com DRC. Estes estudos demonstraram que nos pacientes urêmicos as causas para DCV são múltiplas, mas o perfil de fatores de risco tradicionais para mortalidade cardiovascular (idade, história familiar, hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, dislipidemia, obesidade e sedentarismo) parece estar em desproporção com a intensidade da DCV e o impacto de suas complicações (11-14). Fatores não tradicionalmente relacionados à doença cardiovascular (desnutrição, inflamação, EO, sobrecarga de volume, anemia, anormalidades do metabolismo do cálcio e fósforo) parecem complementar a teoria aterogênica em pacientes portadores de DRC e devem ser analisados (15, 16). Assim como os diabéticos, os pacientes renais crônicos devem ser considerados como parte de um grupo de alto risco para DCV (15). A própria redução crônica da função renal parece ser um fator predisponente à DCV, e a prevalência de eventos CV fatais é maior em pacientes com taxa de filtração glomerular (TFG) reduzida em relação a indivíduos com função renal normal (17, 18). Levin et al (19) demonstraram uma incidência de 20% de novos eventos cardiovasculares num grupo de 244 pacientes pré-diálise.

A utilização de parâmetros clínicos de diagnóstico subestima a real prevalência de doença cardiovascular na DRC. Neste contexto, a doença arterial coronariana (DAC) e a insuficiência cardíaca congestiva (ICC) estão presentes em cerca de 40% dos pacientes em HD (20, 21). Porém, ao serem utilizados métodos complementares como a angiografia e a avaliação ultrasonográfica da espessura da íntima-média das carótidas, a real prevalência de DAC se mostra bem mais elevada (22-24).

2. ATEROSCLEROSE E INFLAMAÇÃO NA DRC

De acordo com a teoria inflamatória da aterosclerose, estímulos locais sobre a parede arterial desencadeiam uma resposta inflamatória, mediada por macrófagos e linfócitos T (25). Em resposta à inflamação local, o endotélio vascular produz substâncias que aumentam sua permeabilidade, a adesividade dos leucócitos e plaquetas, e também sua capacidade pró-coagulante. Se o estímulo agressor não for eliminado, permanece o estímulo à migração celular e proliferação das células musculares lisas do vaso sanguíneo, macrófagos e linfócitos, causando espessamento da parede arterial. Ciclos repetidos destes eventos culminam com lesões arteriais avançadas, que são instáveis e podem interromper o fluxo arterial (25). Desta forma, a disfunção do endotélio inicia e perpetua o processo inflamatório associado à aterosclerose, facilitando a seqüência evolutiva de formação de uma placa aterosclerótica, erosão, fissura e ruptura, com suas devastadoras conseqüências (25).

O processo inflamatório em desenvolvimento induz também à oxidação de lipoproteínas (26). Com o aumento local na expressão de moléculas de adesão endotelial são ativadas células mononucleares e neutrófilos (26). Proteínas de fase aguda produzidas pelo fígado, como o amilóide sérico-A (SAA) deslocam a apolipoproteína A-1 (APO-A1, que é uma proteína de fase aguda) da molécula de lipoproteínas de alta densidade (HDL), tornando esta molécula aderente ao endotélio vascular (25). Concomitantemente, há um aumento do conteúdo de triglicérides do HDL, e o HDL modificado não é mais capaz de reduzir as lipoproteínas de baixa densidade oxidadas (LDL-ox), que são fundamentais na aterogênese (27, 28). Outra alteração significativa ocasionada pela presença de inflamação é que a mieloperoxidase (MPO), uma potente enzima leucocitária, pode causar a oxidação da LDL. O resultado final deste processo é que macrófagos endoteliais fagocitam a LDL oxidada, tornando-se macrófagos carregados de lipídeos, que iniciam e propagam o processo aterosclerótico (26, 29). Independente da causa que desencadeia inicialmente a disfunção endotelial, após ter ocorrido o dano ao endotélio, inicia-se um aumento na adesividade de leucócitos e plaquetas, estimulando a atividade pró-coagulante, com conseqüente síntese de citocinas, fatores de crescimento e moléculas vasoativas pelo endotélio lesado (30).

A partir desta etapa, com a aceleração do processo inflamatório, ocorre proliferação de células musculares lisas, aumento da espessura e acúmulo de macrófagos e linfócitos na parede arterial, além de ativação das células musculares lisas e liberação de enzimas hidrolíticas, citocinas e conseqüente necrose focal (31). Uma camada fibrosa é organizada sobre o núcleo de gordura e área de necrose, dando início a um ciclo vicioso de infiltração mononuclear, migração e proliferação de células musculares lisas, alterações fibróticas e espessamento e reestruturação da parede arterial levando a uma redução da luz do vaso lesado (30, 32).

A lesão arterial altera o fluxo sanguíneo e, dependendo do grau de estenose, pode produzir lesão isquêmica do órgão afetado (30). O processo de erosão e ruptura da camada fibrosa frequentemente acontece nos locais mais frágeis desta capa, e dão entrada a macrófagos que se acumulam e são ativados, liberando metaloproteinases (colagenases e elastases) que geram instabilidade da placa aterosclerótica, fatores tissulares pró-coagulantes e outros fatores hemostáticos que ativam o processo de trombose arterial (30, 33).

2.1 CAUSAS DE INFLAMAÇÃO NA DRC

A inflamação é um processo multifatorial, e entre suas causas incluem-se fatores relacionados à diálise e fatores não relacionados ao procedimento dialítico, como idade, sexo, raça e função renal residual (34).

2.1.1 Fatores não relacionados à diálise

2.1.1.1 Idade, sexo, gordura corporal e função renal residual

Um estudo recente demonstrou que a produção de IL-6 não se eleva com o aumento na idade *per se* (35), mas a presença de co-morbidades associadas à idade poderia ser uma importante causa para o aumento da inflamação e de seus marcadores. Em idosos, eleva-se a prevalência de

fatores de risco tradicionais e não tradicionais de DCV, tais como hipertensão arterial, aumento da gordura corporal, dislipidemia, hiperhomocisteinemia, níveis de produtos da glicoxidação avançada (PAG) e EO (36). A idade avançada e o maior número de co-morbidades em pacientes com DRCT aumentam o impacto da DCV nesta população (36).

Os níveis de marcadores inflamatórios encontram-se elevados em ambos os sexos (37, 38), porém, há evidências de que a terapia hormonal pós-menopausa possa modular a resposta inflamatória aguda, quando avaliada através da PCR e moléculas de adesão (39). No estudo de Stenvinkel et al (40), mulheres recebendo reposição hormonal com estrógenos apresentaram melhor evolução clínica que os homens com perfil semelhante de marcadores inflamatórios. Estes autores assinalam que os hormônios femininos podem ter um efeito cardioprotetor que limita o efeito da inflamação sobre a lesão vascular progressiva.

O aumento na quantidade de gordura corporal é uma causa de elevação nos níveis de IL-6, pois a produção desta interleucina também ocorre no tecido adiposo (41). A obesidade é comumente associada com resistência à insulina, e existe uma correlação inversa entre a sensibilidade à insulina e os níveis de IL-6 (42). Fleischmann et al (43) demonstraram que o excesso de peso se associou com melhor sobrevida em pacientes norte-americanos. No entanto, Stenvinkel et al (40) não observaram diferenças ao comparar pacientes renais crônicos em diferentes estratos de índice de massa corporal.

A função renal residual é outro fator que modifica o perfil inflamatório, e há evidências que sugerem sua participação neste processo. Nakanishi et al (44) verificaram que a perda de função renal associa-se com a elevação nos níveis de marcadores inflamatórios. Dados recentes demonstram que grande parte (entre 30 e 70%) dos pacientes portadores de DRC em fase pré-dialítica (45) e em hemodiálise (HD) (6, 46-49) apresentam um estado de inflamação crônica, evidenciado principalmente por níveis elevados de proteína C-reativa (PCR). O estudo de Panichi et al (50) demonstrou que em 25% de 102 pacientes em pré-diálise havia elevação da PCR acima de 5mg/L. Quando estratificados de acordo com o nível de função renal, mais da metade dos pacientes com *clearance* de creatinina (CICr) inferior a 20ml/min apresentavam PCR maior que 5mg/L, o que ocorreu com apenas 10% daqueles com CICr

superior a 20ml/min. Os mesmos autores verificaram que tanto os níveis de PCR como os de IL-6 se relacionaram com a função renal em pacientes em fase pré-dialítica (51). Os achados de outros autores são similares, e demonstram também que em pacientes em pré-diálise existe correlação positiva entre o ClCr e os níveis de citocinas (52-56) e de seus receptores solúveis (57).

2.1.1.2 Infecções crônicas e periodontais

Algumas infecções podem estar associadas com a aterosclerose. Netea et al (58) demonstraram que componentes da *Chlamydia pneumoniae* estimulam a produção de IL-6, e este pode ser um dos mecanismos pelos quais as infecções por este agente podem contribuir para a aterosclerose. Esta hipótese é fundamentada também com o recente estudo de Stenvinkel et al (59), no qual foi demonstrada a associação entre evidências sorológicas de infecção persistente por *Chlamydia*, aterosclerose de carótidas e níveis elevados de IL-6 em pacientes com DRCT.

A doença periodontal, altamente prevalente em nosso meio mesmo em indivíduos sem doença renal (60), é outra fonte de inflamação crônica, e já foi demonstrado que pacientes em HD com níveis mais elevados de anticorpos contra patógenos comuns na doença periodontal, apresentam elevações na PCR (61).

2.1.1.3 Resistência à insulina

A resistência à insulina é uma condição associada à aterosclerose e que também apresenta alta prevalência em pacientes portadores de DRC (62). Estudos com grupos de pacientes com DRC demonstram correlação entre resistência insulínica e níveis elevados de PCR (63-65), de forma que a inflamação pode ser parte da síndrome de resistência à insulina (66). Uma explicação para este fato é que resistência à insulina aumente a expressão de

PCR por antagonizar no fígado os efeitos fisiológicos da insulina na resposta de fase aguda (67).

2.1.2 Infamação associada a fatores relacionados à diálise

Vários autores encontraram níveis mais elevados de IL-6 em pacientes com DRCT em diálise do que em pacientes pré-diálise (68, 69), ao contrário de Herbelin et al (70). Isto sugere que o procedimento de diálise *per se* induz a uma reação inflamatória aguda e à produção de IL-6. Takahashi et al (71) demonstraram que tanto a HD como a diálise peritoneal (DP) geram um aumento nos níveis de IL-6 no plasma. Vários fatores relacionados à diálise podem contribuir para o potencial inflamatório da HD, como o uso de membranas bioincompatíveis (57), uso de dialisato não estéril (72) e a retrofiltração (73).

2.1.2.1 Diálise e qualidade do dialisato

A exposição do sangue dos pacientes em HD à membrana de diálise causa ativação das células mononucleares e estimula a inflamação (26). Membranas de celulose, menos biocompatíveis, ativam os linfócitos e o sistema complemento, porém mesmo membranas biocompatíveis podem ativar a resposta inflamatória durante a HD. Honkanen et al (74) detectaram aumento dos níveis circulantes de interleucina-1 β (IL-1 β) e outros marcadores inflamatórios de fase aguda durante a diálise utilizando diferentes tipos de membranas de celulose, acetato de celulose e polimetilmetacrilato. Estes resultados sugerem que, independentemente do tipo de membrana utilizada, o procedimento dialítico é uma fonte potencial de inflamação nos pacientes urêmicos.

A qualidade da água usada na HD também é capaz de estimular a inflamação nestes pacientes. O uso de soluções não estéreis e a passagem de lipopolissacárides bacterianos através da membrana dialítica podem propiciar o desencadeamento do processo inflamatório (75). Também tem sido relatada a

redução na produção de citocinas plasmáticas com o uso de água livre de endotoxinas, obtida por filtração do líquido de diálise (75). Este fato sugere que a ativação monocitária pode ser desencadeada por endotoxinas que estejam no dialisato ou que atravessem a membrana de diálise em direção àquele compartimento (76). Porém, a inflamação está presente mesmo na DP, onde não existe a exposição do sangue a membranas sintéticas (57). Yeun et al (77) verificaram que pacientes em DP apresentavam processo inflamatório mais acentuado quando comparados a pacientes em HD. Na verdade, alguns fatores específicos da DP tais como a exposição da membrana peritoneal a substâncias presentes no líquido de diálise não estéril e o próprio acesso transperitoneal para a diálise são potenciais fontes de estímulo à inflamação (78).

2.2 MARCADORES DE INFLAMAÇÃO NA DRC

A resposta de fase aguda compreende as respostas bioquímicas e fisiológicas inespecíficas ao dano tecidual, infecção, inflamação e neoplasia (79). Em particular, a síntese de determinadas proteínas é rapidamente ativada, principalmente nos hepatócitos, sob a ação de uma cascata de citocinas que se originam no local da agressão, incluindo a interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6) (79). A IL-6 é a principal indutora do gen da PCR, porém, a IL-1, os glicocorticóides e os produtos originários da ativação do complemento agem sinergicamente com a IL-6 na geração de PCR (80).

Além da PCR e da IL-6, outras proteínas de fase aguda estão diretamente associadas com a doença vascular, como o fibrinogênio (81), a lipoproteína-a (82), moléculas solúveis de adesão à célula vascular (VCAM-1) e de moléculas solúveis de adesão intercelular (ICAM-1) (83, 84).

2.2.1 Proteína C-reativa (PCR)

A PCR, assim chamada por sua capacidade em precipitar um polissacarídeo-C do *Streptococcus pneumoniae* (79), foi a primeira proteína de fase aguda a ser descrita, e tornou-se um importante e sensível marcador

sistêmico de inflamação e dano tecidual (85). Faz parte da família das pentraxinas, assim chamadas devido à conformação de sua molécula, que possui 5 cadeias idênticas de polipeptídeos dispostas em configuração anular (86). Uma das principais funções da PCR é o reconhecimento e mediação da eliminação, por meio do sistema complemento e fagócitos (87, 88), de patógenos e células danificadas do próprio hospedeiro, incluindo antígenos nucleares e a fosfocolina oxidada presente na LDL e em membranas de células apoptóticas (86). Seus efeitos fisiopatológicos possivelmente são mediados por suas ligações com aquelas substâncias (79). A PCR é de grande interesse na compreensão e terapêutica da doença cardiovascular, não só por sua utilidade como marcadora de inflamação. A PCR apresenta propriedades pró-inflamatórias por ligar-se seletivamente à LDL, especialmente a LDL oxidada, encontrada nas placas ateromatosas (89, 90), e também exerce suas propriedades inflamatórias no interior das placas, através da ativação do sistema complemento (91), contribuindo para a patogênese, progressão e complicações dos ateromas (79). O fato de que os níveis de PCR elevam-se após o infarto agudo do miocárdio e durante a angina instável reforça a hipótese de que o processo inflamatório é um fator patogênico relevante na formação da placa aterosclerótica (92). Em 1985 Vlaicu et al (93) demonstraram a presença de PCR no interior da camada íntima arterial de aorta aterosclerótica. Em 1998, Torzewski et al (90), investigando lesões ateroscleróticas coronarianas, notaram que a maioria das células espumosas subendoteliais apresentavam a presença de PCR, além de frações do complemento, como C5b-9.

A disponibilidade comercial de testes de alta sensibilidade para a PCR, permitiu a realização de inúmeros estudos que demonstraram uma relação preditiva consistente entre níveis elevados de PCR e eventos aterotrombóticos (38, 94-97). Porém, a elevação da PCR pode também refletir inflamação em qualquer parte do organismo, aguda ou crônica, índice de massa corporal elevado (a PCR pode ser produzida pelos adipócitos), resistência à insulina e síndrome pluri-metabólica (64, 98). Por este motivo, seus resultados devem ser avaliados com cuidado. Até recentemente os valores máximos de referência para a PCR eram estabelecidos entre 5-10 mg/L, porém a partir de 2003 a

Associação Americana de Cardiologia recomendou que o nível de corte da PCR para análise de DCV seja 3,0 mg/L (99).

Em qualquer uma das modalidades dialíticas, grande parte dos pacientes apresentam evidências de ativação da resposta inflamatória. Um fato interessante a se notar é que o padrão da resposta inflamatória em pacientes em HD, avaliado pela PCR, pode se modificar ao longo do tempo, conforme demonstrado por Kaysen et al (100) e Nascimento et al (101). A relação entre a variabilidade da resposta inflamatória aguda nos pacientes em HD e a presença de doença vascular permanece obscura. Muitas possibilidades têm sido aventadas, porém até o momento, de forma especulativa. Não se sabe, por exemplo, se a inflamação que ocorre por um curto espaço de tempo pode resultar em eventos cardiovasculares. A inflamação claramente altera a composição protéica plasmática e as estruturas protéicas e lipoprotéicas também são afetadas pelo processo inflamatório (89, 90). Não existe relação temporal imediata entre o desencadeamento destas alterações e o desenvolvimento de doença oclusiva aterosclerótica, e pode ocorrer a perpetuação do processo de agressão vascular pelos monócitos, que contribuem para o aumento crônico dos níveis das proteínas de fase aguda e a partir daí estabelecendo-se um ciclo vicioso (102).

2.2.2 Interleucina-6 (IL-6)

A IL-6 pertence a uma família de citocinas polipeptídicas de 20 kD que são secretadas por diferentes células, incluindo os fibroblastos, adipócitos, monócitos e células endoteliais. Enquanto a maioria das outras citocinas exerce suas funções através de mecanismos parácrinos ou autócrinos, os principais efeitos da IL-6 são consequência de sua concentração na circulação, e podem ser realizados em locais distantes de sua origem (103). A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória e estimula a produção de PCR (104). Esta citocina reflete a ativação monocitária, processo que é parte do descontrole imunológico próprio da uremia, que se desenvolve precocemente na DRC e piora progressivamente com o declínio da função renal (53). Os níveis de IL-6 estão aumentados em pacientes em pré-diálise e diálise, comparados aos indivíduos normais (55, 105-110).

A importância da participação da IL-6 no processo aterosclerótico foi evidenciada no estudo recente de Huber et al (111), que demonstrou exacerbação da aterosclerose em camundongos deficientes em apolipoproteína-E (apo-E) após a administração de IL-6. Outros estudos demonstram os efeitos pró-aterogênicos da IL-6. Pigott et al (112) evidenciaram que os níveis de IL-6 estimulam a produção de ICAM, que são mediadoras da adesividade e migração de leucócitos através da superfície endotelial. A IL-6 também contribui para o desenvolvimento da aterosclerose através de mecanismos metabólicos, endoteliais e pró-coagulantes (103). A IL-6 inibe a produção da lipase de lipoproteínas nos adipócitos (113), mediando o aparecimento de dislipidemia (114). O estudo de Elhage et al (115), que demonstrou um aumento na expressão de IL-6 em placas ateroscleróticas em estágio fibroso reforça o conceito de que a IL-6 não é apenas um marcador de aterosclerose, mas que está diretamente envolvida em seu processo. Além disso, um estudo clínico de Stenvinkel et al demonstrou que os níveis de IL-6 estavam independentemente associados com aterosclerose progressiva de carótidas em pacientes em HD (59).

2.2.3 Marcadores inflamatórios e mortalidade na DRC

Inflamação crônica, evidenciada por níveis elevados de reagentes de fase aguda tais como a PCR, tem sido demonstrada como característica comum e também previsora de prognóstico e DCV em pacientes portadores de DRC (34). Há vários estudos evidenciando que níveis elevados de PCR são preditores de mortalidade geral e CV em pacientes em HD (6, 48, 116, 117). Dados do estudo de Modificação da Dieta em Doença Renal (MDRD) (118) mostram que o risco de DCV foi 1,7 vezes maior em pacientes com DRC que apresentavam PCR elevada.

Em seu estudo preliminar, Bergström et al (117) foram os primeiros autores a demonstrar que a PCR foi forte preditora de morte em pacientes em HD, e a PCR parecia ser um preditor independente de mortalidade mesmo após o ajuste para outras variáveis. Owen e Lowrie (46) não encontraram relação entre níveis de PCR e o risco de morte. Ikizler et al (119) demonstraram que entre os pacientes que apresentavam os níveis mais baixos

de PCR, a taxa de hospitalizações era bem mais baixa que a de pacientes com níveis elevados de PCR.

Zimmermann et al (6) demonstraram que a mortalidade geral e cardiovascular foi mais elevada em pacientes com níveis mais altos de PCR. Além disso, verificaram que pacientes no quartil mais elevado de PCR apresentavam mortalidade 5,5 vezes maior que os pacientes do quartil mais baixo. Iseki et al (116) demonstraram pior sobrevida em pacientes com PCR elevada (sobrevida em 5 anos de 44%) comparados aos pacientes com PCR normal (sobrevida de 82,5%) no seguimento de 7 anos de 163 pacientes em HD. Yeun et al (48) identificaram a PCR como sendo o preditor mais forte de mortalidade geral e cardiovascular em 91 pacientes em HD acompanhados por 34 meses. Naquele estudo, os pacientes com PCR no quartil mais elevado apresentavam a menor sobrevida.

Apesar de ser evidente que citocinas pró e antiinflamatórias, assim como receptores solúveis de citocinas sejam responsáveis pela resposta inflamatória (120), os dados disponíveis sugerem que a IL-6 exerce um papel central nestes eventos. Como a síntese hepática de PCR está sob a regulação da IL-6, não é surpreendente o fato de que a atividade desta citocina também esteja supra-regulada em pacientes portadores de DRC em diálise (68, 70, 121). Há evidências de que a elevação do nível de outros marcadores inflamatórios, como a IL-6 (IL-6) apresenta correlação com a diminuição da função renal residual (44, 50). Porém, os níveis destes marcadores também podem sofrer a influência de fatores individuais, como por exemplo, a presença de obstrução de enxertos vasculares (122) e o próprio processo aterosclerótico (123). Porém, apesar de que a maioria dos pacientes com DRT tem níveis elevados de IL-6, níveis normais ou mesmo reduzidos desta interleucina podem ser encontrados em pacientes em diálise, sugerindo que fatores genéticos possam ter alguma importância (124). Estudos recentes sugerem que certos polimorfismos genéticos relacionados a IL-6 podem estar associados com níveis mais baixos de IL-6 em indivíduos saudáveis (125).

Após o primeiro relato de Bergström et al (117) de uma associação entre PCR elevada e prognóstico, vários outros grupos têm relatado evidências semelhantes em pacientes em HD (6) e DP (126). Em vista da forte associação entre PCR e IL-6, não é surpreendente que níveis elevados de IL-6 sejam

previsões de morbidade (127) e mortalidade (128) cardiovascular em pacientes não renais. Um estudo de Bióloga et al (129) demonstrou que níveis elevados de IL-6 são previsões de prognóstico também em pacientes em diálise. Da mesma forma, Kim mel et al (121) demonstraram que níveis mais elevados de citocinas pró-inflamatórias como a IL-6 são associados com mortalidade, enquanto as citocinas relacionadas a uma melhora na função das células T estão associadas com uma melhor sobrevida.

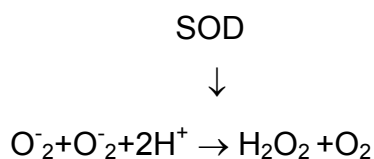
A IL-6 tem um papel fundamental na inflamação, sendo o mais potente indutor da resposta de fase aguda no fígado. Os modelos desta resposta são a PCR e a albumina, e ambas são importantes previsora de mortalidade em pacientes com DRCT em DP (126) e HD (6). No estudo de Bióloga et al (129) com 90 pacientes acompanhados por cerca de 2 anos, os níveis de IL-6 foram mais elevados no grupo de pacientes desnutridos, e a correlação negativa entre os níveis de IL-6 e colesterol total e HDL colesterol aponta para uma conexão causal entre inflamação e estado nutricional na DRCT. A IL-6 foi a mais forte previsora de morte. A mortalidade foi mais baixa nos pacientes com níveis mais baixos de IL-6, após correção para os outros correlatos de mortalidade (idade, IMC e nível de albumina). As taxas ajustadas de mortalidade anual para pacientes no tercil mais elevado e mais baixo de IL-6 foram de 58% e 33%, respectivamente, e em pacientes em HD a IL-6 foi previsora de mortalidade (129).

A IL-6 também foi previsora de mortalidade em indivíduos com função renal normal, conforme demonstrado por Ridker et al (127). Pecoits et al (130) demonstraram que em pacientes que estão iniciando diálise, maior mortalidade é verificada entre os indivíduos que apresentam níveis mais elevados de IL-6 e de seu receptor solúvel (rsIL-6). O rsIL-6 surge da clivagem do receptor de IL-6 de membrana, e é um importante regulador da atividade da IL-6, pois liga-se à IL-6 na circulação, estendendo a atividade do complexo IL-6/rsIL-6 para os órgãos que contêm o sítio de ligação gp130, como o coração, rins, fígado e cérebro (131). Aparentemente o rsIL-6 é uma importante via de sinalização envolvida na transição entre as fases aguda e crônica da resposta inflamatória (120, 132).

3. ESTRESSE OXIDATIVO

Estresse oxidativo é definido como o dano tecidual provocado pelo desequilíbrio entre a quantidade de agentes pró-oxidantes e a capacidade de defesa anti-oxidante do indivíduo (133). A formação de compostos oxidantes é de importância fisiológica no processo de inflamação e reparo tecidual. Representa uma forma de mecanismo de defesa contra microorganismos invasores e células malignas, assim como de cicatrização e remodelação dos tecidos. Porém, em algumas doenças, como a insuficiência renal crônica, pode ocorrer ativação imprópria e crônica do mecanismo oxidativo, resultando em dano e morte celular (134). Em condições normais os oxidantes são contidos por um elaborado sistema antioxidante constituído de numerosas enzimas de origem endógena, bem como por compostos oriundos da dieta que formam um sistema protetor contra a toxicidade mediada pelas espécies reativas de oxigênio (ERO) (135-137).

A cadeia respiratória mitocondrial é a principal fonte celular de oxidantes no organismo. Os oxidantes mitocondriais podem exercer efeitos deletérios, e acredita-se que contribuam para o envelhecimento celular e doenças degenerativas. O sistema de produção de oxidantes pelos macrófagos é baseado na indução da produção de ERO através da redução do oxigênio molecular (O_2): após a exposição ao estímulo apropriado, tanto os neutrófilos polimorfonucleares (PMN) como os monócitos-macrófagos são ativados e aumentam seu consumo de O_2 (o chamado “burst” de oxigênio) (135). O sistema enzimático nicotinamida-adenina dinucleotídeo-fosfato-oxidase (NADPH-oxidase), que está ligado às membranas celulares, reduz o O_2 para ânion superóxido (O_2^-), que é muito instável e, assim que é formado, é convertido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2).



As ERO incluem principalmente dois compostos: o ânion O_2^- e o radical hidroxila (OH^-), ambos caracterizados por apresentarem um único elétron não

pareado. Da reação química acima é possível observar que pela ação da superóxido-dismutase (SOD) as ERO podem ser convertidas a H_2O_2 , e este é por sua vez convertido em água pela catalase ou pela glutathione-peroxidase (GSH-peroxidase) (137). O H_2O_2 não é um radical livre, mas na ausência de catalase ou na presença de um potencial doador de elétrons (íon ferroso (Fe^{2+}) e cobre (Cu^{2+})) é convertido a radical OH^{\cdot} , que é a ERO de maior poder citotóxico (108). Tanto o $O_2^{\cdot-}$, quanto o H_2O_2 são precursores para a produção de oxidantes mais poderosos. O $O_2^{\cdot-}$ interage com o ON para formar espécies altamente reativas de nitrogênio (estresse nitrosativo), enquanto o H_2O_2 reage com o ferro intracelular para formar radicais OH^{\cdot} , que estão implicados na degradação da membrana lipídica celular, agregação protéica e dano ao ácido desoxirribonucléico (DNA) (135). Além disto, o H_2O_2 é o substrato para a MPO para a produção de oxidantes clorados. Na presença de ânion cloreto (Cl^-), a mieloperoxidase (MPO) converte o H_2O_2 em ácido hipocloroso (OCl^{\cdot}), composto capaz de oxidar um grande número de moléculas como os lipídios, proteoglicanos intracelulares e os grupos tiol das proteínas de membrana (estresse clorativo). Também pode reagir com aminas endógenas ($R-NH_2$) para produzir cloraminas ($RNH-Cl$) (135). As ERO são liberadas juntamente com citocinas pró-inflamatórias, que por sua vez amplificam a geração de oxidantes (138).

O EO que decorre da produção excessiva de radicais livres de oxigênio ou níveis baixos de antioxidantes tem sido considerado um importante fator de desenvolvimento da disfunção endotelial e aterogênese (139). Radicais livres estão envolvidos no desenvolvimento de aterosclerose por gerar LDL-ox, que através de vários mecanismos danificam a parede vascular e causam lesões ateroscleróticas.

Hoje parece ser claro que o EO originado pela formação de ERO a partir de leucócitos e de reações inflamatórias, pode causar danos ao DNA celular, à respiração mitocondrial e ao parênquima de órgãos (108).

3.1 ESTRESSE OXIDATIVO NA DRC

Em pacientes em pré-diálise e em diálise foram relatados níveis elevados de marcadores de EO e níveis reduzidos de anti-oxidantes (108, 109,

140-142). O estresse oxidativo é comum em todas as fases da DRC e em diálise a perda de antioxidantes durante o tratamento dialítico, como as vitaminas C e E, pode agravar o processo (143). Dando suporte a esta hipótese, um estudo com uso de capilares recobertos com vitamina E durante 3 meses, mostrou não só um aumento nos níveis plasmáticos de vitamina E, mas também elevação na HDL e redução da LDL, apontando para benefícios com o tratamento antioxidante nesta população (144).

3.1.1 Estresse oxidativo e ferro parenteral

Mesmo algumas formas de tratamento que são essenciais aos pacientes portadores de DRCT em diálise podem vir a determinar aumento no processo de estresse oxidativo. Um exemplo disso é a utilização de ferro parenteral, em complementação à administração de eritropoietina. Evidências recentes sugerem que a administração parenteral de ferro induz à produção de oxidantes, através do aumento na peroxidação lipídica tanto no plasma como nas paredes vasculares (145). Drueke et al (145) demonstraram uma estreita correlação entre produtos avançados de oxidação de proteínas (PAOP) e a dose anual de ferro. Adicionalmente, o aumento do estoque de ferro corporal se relaciona a uma deficiência de licopeno, que é um anti-oxidante (146).

Sob a influência do EO, através do ânion O_2^- produzido pelos monócitos e PMN, o ferro livre é convertido em seu íon férrico (Fe^{3+}). Tanto o ferro livre como o íon férrico podem converter o H_2O_2 em outro potente oxidante, que é o radical OH^- (147, 148).

3.1.2 Estresse oxidativo e hepatite C

Qualquer infecção viral, bacteriana ou fúngica pode causar EO (149, 150). Uma infecção de alta prevalência em pacientes em HD no Brasil é a hepatite C (HCV), e cerca de 30-65% dos pacientes apresentam evidências sorológicas de infecção pelo HCV, conforme a região do país (151). Na verdade, esta prevalência pode ser bem maior, pois a maioria dos estudos

baseia-se em diagnósticos sorológicos e não na identificação de partículas virais.

Com a infecção pelo HCV, é ativada a resposta inflamatória do hospedeiro, que através das linfocinas como o TNF- α , gera grandes quantidades de ERO na tentativa de eliminar o agente invasor. As ERO produzidas na hepatite crônica podem provocar lesão tecidual, evidenciada pelo aumento na produção de marcadores de dano ao DNA (como a 8-hidroxidioxiguanosina, a 8-OHDG) (136), oxidação lipídica e protéica e perturbação da produção de glutathiona (GSH) (152). O dano celular resultante pode estar relacionado com a fibrose e o câncer hepáticos (153).

As infecções virais também podem contribuir para o início do processo aterosclerótico. Ishizaka et al (154) verificaram que a presença do HCV foi relacionada a um aumento da prevalência de placas ateroscleróticas e espessamento da íntima arterial, sendo que este fator de risco foi independente de qualquer outro relacionado ao desenvolvimento de aterosclerose. Por outro lado, Kiechl et al (155) não confirmaram estes achados, não encontrando associação significativa entre hepatite crônica e o desenvolvimento de novas placas ateroscleróticas.

3.2 MECANISMOS DE DEFESA ANTI-OXIDANTE

Para evitar os efeitos prejudiciais dos ERO, sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos estão presentes e neutralizam os radicais livres. A SOD acelera a taxa de conversão do O_2^- para H_2O_2 como a primeira linha de defesa anti-oxidante. A catalase reduz o H_2O_2 para água. A GSH-peroxidase contendo selênio (GSH-Px) reduz todos os peróxidos lipídicos orgânicos e necessita de GSH como doador de hidrogênio (156). O mais ativo anti-oxidante é representado pela própria GSH, que é um “scavenger” de H_2O_2 e OH^- e oxidantes clorados. A vitamina E protege a membrana celular da peroxidação lipídica através da formação de um radical tocoferoxil de baixa reatividade. A vitamina C faz o “scavenging” direto do O_2^- e OH^- . As proteínas inflamatórias, tais como a ferritina, transferrina e até mesmo a albumina, exercem um efeito

anti-oxidante não enzimático através da captação de íons metálicos de transição (156).

Na DRC, o equilíbrio entre a capacidade pró-oxidante e anti-oxidante está desviado na direção do aumento de estresse oxidativo (EO). Várias deficiências de diversos componentes dos mecanismos de defesa anti-oxidante têm sido demonstradas, incluindo níveis reduzidos de vitamina C (primariamente pela restrição dietética de frutas e vegetais frescos para evitar hipercalemia, e perda da vitamina durante a diálise), redução nos níveis intracelulares de vitamina E, redução nas concentrações de selênio e deficiência no sistema de “scavenging” pela GSH (138, 156). Ao mesmo tempo, a atividade pró-oxidante está aumentada. Fatores que contribuem para o aumento da atividade oxidante incluem características da população de portadores de DRC, como idade avançada e diabetes, a uremia per se, inflamação crônica e fatores associados à terapia renal substitutiva (TRS). A HD pode induzir episódios repetitivos de EO, primariamente pela biocompatibilidade de membranas e exposição à endotoxinas (157, 158). Apesar de estas alterações ocorrerem nos pacientes na fase pré-diálise, são mais pronunciadas nos pacientes que estão em diálise. Além do mais, existe certa controvérsia se o início da HD melhora ou acelera o processo do EO.

Devido à desproporção entre os sistemas pró e anti-oxidantes, os indicadores de EO estão aumentados nos pacientes com DRC. Durante a HD, já foi demonstrado haver um aumento direto nas ERO (158). Os neutrófilos de pacientes urêmicos demonstram produção exagerada de ERO em resposta aos estímulos ativadores. Os níveis sanguíneos de vários produtos de oxidação protéica e lipídica estão aumentados em pacientes com DRC.

A medida da reserva anti-oxidante total de um indivíduo portador de DRC seria útil, mas, em contraste com outras doenças, a determinação desta capacidade não se mostrou um parâmetro relevante na insuficiência renal crônica (159).

3.3 MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO E SOBREVIDA

Os oxidantes são compostos altamente reativos que possuem meia vida de apenas alguns segundos. Por este motivo, sua determinação *in vivo* é

geralmente impossível. Porém, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos, após serem modificados pelos ERO, têm meias-vidas que variam de horas a semanas, os que os torna marcadores ideais do estresse oxidante (160).

Durante a peroxidação lipídica, formam-se produtos relativamente estáveis (como o malondialdeído (MDA)), que podem avaliar o ataque aos fosfolipídios da membrana celular. Também podem ser usados como marcadores do dano oxidativo os anticorpos dirigidos contra as LDL-ox e produtos avançados da oxidação lipídica (ALEs) (156).

As proteínas são alvos preferenciais no dano oxidativo, levando à formação de produtos de “cross-linking” e agregação, que podem ser resistentes à proteólise. Entretanto, apenas recentemente Witko-Sarsat et al (161) caracterizaram os chamados produtos avançados da oxidação protéica (PAOPs). Os PAOPs estão intimamente ligados aos marcadores de ativação monocitária e se correlacionam positivamente com os níveis dos PAG, principalmente a pentosidina. A existência desta forte relação entre PAOPs e PAGs levou ao surgimento do conceito de estresse carbonil, onde a oxidação age juntamente com a glicação na formação dos PAGs (156).

Finalmente, os compostos oxidantes podem interagir com os ácidos nucleicos e contribuir para a mutagênese e a oncogênese. O dano oxidativo aos ácidos nucleicos dos leucócitos foi recentemente descrito em insuficiência renal crônica (162), através da determinação do conteúdo de 8-hidroxi-2-deoxiguanosina (8-OHDG) por cromatografia líquida de alta performance (HPLC).

3.3.1 Produtos avançados da oxidação protéica (PAOPs)

Modificações bioquímicas e estruturais de proteínas e aminoácidos, induzidas pelo dano oxidativo podem levar a alterações funcionais, com perda de suas propriedades metabólicas, enzimáticas ou imunológicas (163). Além disto, graus variados de oxidação de proteínas podem induzir a uma facilitação de seu catabolismo ou produzir compostos insolúveis que resistem à proteólise (163).

Os PAOPs podem ser detectados em pacientes em pré-diálise e pacientes em TRS com HD, o que leva a crer que a uremia *per se* é um importante fator determinante em sua formação (161).

Alguns estudos têm evidenciado associação de doença cardiovascular com inflamação e níveis de marcadores de EO em pacientes com DRC (108, 109, 161, 164, 165). Entretanto, a maioria dos estudos foram transversais e não puderam estabelecer associações entre estes marcadores e eventos cardiovasculares em pacientes pré-diálise. Descamps-Latscha et al (166) publicaram um estudo em 2005 em que PCR e PAOPs foram fatores previsores independentes de eventos cardiovasculares ateroscleróticos oclusivos incidentes em pacientes na fase pré-dialítica, concluindo que a dosagem destes marcadores seria útil como parte do rastreamento de pacientes portadores de DRC em risco para o desenvolvimento de DCV. Drueke et al (145) observaram uma relação entre os níveis de PAOPs e a espessura da camada íntima-média de carótidas de pacientes em diálise. Witko-Sarsat et al (167) demonstraram que os níveis de PAOPs não só refletem a gravidade do EO, mas também agem como mediadores da inflamação, através do desencadeamento da ativação de monócitos.

3.3.2 Produtos avançados da glicoxidação (PAGs)

Os PAGs são formados pela redução não enzimática ou glicoxidação de carboidratos ou outros compostos que contêm grupos amino de proteínas (135). Estes produtos se acumulam no plasma lentamente durante o processo de envelhecimento e em algumas doenças degenerativas, e acentuadamente em pacientes diabéticos e com DRC (141). Os PAGs mais claramente identificados são a pentosidina e a N ϵ -carboximetil-lisina (CML). Estas substâncias reagem diretamente com receptores específicos que induzem à síntese intracelular de radicais livres e citocinas pró-inflamatórias, que por sua vez aceleram a inflamação crônica (141, 168). Os rins são responsáveis pela eliminação dos PAGs, e o acúmulo destas substâncias na DRC tem sido atribuído à perda progressiva de função renal. Makita et al (169) descreveram níveis bastante elevados de peptídeos modificados por PAGs em pacientes

com DRC. Por outro lado, o aumento da produção devido ao EO aumentado e acúmulo de precursores reativos também parecem estar implicados (141, 170).

A elevada concentração de pentosidina na DRC é totalmente independente da elevação dos níveis de glicose (169, 171). Especula-se que a perda de função renal não seria a única causa do acúmulo destas substâncias, e que elas também seriam geradas na presença de EO (141). Uma vez que a pentosidina e outros PAGs acumulam-se na DRC, sugeriu-se que os PAGs possam contribuir para as complicações a longo prazo da DRC, tais como a aterosclerose e a amiloidose relacionada à diálise. Os PAGs podem contribuir para a aterosclerose acelerada que se desenvolve na diabetes e na DRC, e o sistema cardiovascular poderia ser um alvo potencial para o acúmulo destas substâncias (172). Miyata et al (173) recentemente demonstraram que a pentosidina, bem como os PAGs estão presentes na neointima de artérias carótidas ateroscleróticas. Por outro lado, outros autores (174) não encontraram nenhuma relação entre pentosidina e espessamento da íntima arterial em lesões ateroscleróticas em pacientes em HD. Confirmando estes achados, Schwedler et al (175) recentemente relataram que altos níveis de CML não foram associados a uma piora da sobrevida nos pacientes em HD. Eles promovem o influxo de células mononucleares e estimulam a proliferação celular (176, 177). PAGs ligados ao colágeno dentro de lesões ateroscleróticas ligam-se às proteínas do plasma, interagem com receptores de macrófagos para induzir a liberação de citocinas e fatores de crescimento, e reduzem a atividade do óxido nítrico (ON) (178). Também há evidências de que os PAGs modificam a LDL, tornando-a menos capaz de ser eliminada (174). No entanto, apesar de Zoccali et al (174) terem verificado correlação entre a pentosidina e alterações na geometria e espessura da parede cardíaca, não houve correlação com a espessura da íntima-média ou com o número de placas ateroscleróticas. Além disso, Suliman et al (179) demonstraram que apesar de o conteúdo elevado de pentosidina estar significativamente associado com inflamação e desnutrição, não houve correlação com o prognóstico dos pacientes nem foram verificadas diferenças nos níveis de pentosidina entre os pacientes com ou sem DRC.

As glicotoxinas dietéticas também podem contribuir para os níveis elevados de PAGs em DRC, e pode ser sugerido que a baixa ingestão dietética

e a desnutrição pudessem em parte explicar as relações paradoxais entre PAGs e a evolução dos pacientes (180).

3.3.3 Homocisteína

A homocisteína (Hci) é um aminoácido que contém enxofre e tem sido relacionado à aterosclerose prematura e DCV (181). A hiperhomocisteinemia está presente desde fases precoces da DRC, e na DRCT cerca de 90% dos pacientes apresentam elevação em seus níveis (182-184). Os mecanismos para a elevação nos níveis de Hci não estão totalmente esclarecidos, pois os rins são responsáveis por apenas 1% de sua eliminação. Outras causas incluem a inibição de seu metabolismo por outras toxinas urêmicas e alterações em seu metabolismo, devido à deficiência de vitaminas B6, B12 e folato principalmente (185). Já foi também descrita uma mutação genética na enzima metiltetrahydrofolato-redutase (MTHFR), que agrava a hiperhomocisteinemia em pacientes com DRCT (186). Estudos recentes também demonstraram que pacientes desnutridos apresentam níveis mais baixos de Hci quando comparados a pacientes bem nutridos (182, 183, 187).

A Hci não é propriamente um marcador de EO, porém pode causar disfunção endotelial através da indução de EO (188, 189). Os resultados de estudos que avaliaram a Hci como fator de risco independente para aterosclerose são controversos. Há estudos que demonstraram que os níveis de Hci em pacientes com DCV podem ser similares, mais elevados ou mais baixos que os de pacientes não portadores de DCV (190). Alguns destes resultados paradoxais podem ser explicados pela epidemiologia reversa, como será discutido na seção 9.

4. DESNUTRIÇÃO EM PACIENTES PORTADORES DE DRC

A desnutrição é uma característica comum nos pacientes com DRC, e sua prevalência aumenta de 36% na fase pré-dialítica para cerca de 44% na fase dialítica (20, 191). Em HD sua prevalência está em torno de 10-70% (192).

Dois tipos de desnutrição podem estar presentes em pacientes portadores de DRC (193). O primeiro tipo é relacionado à baixa ingestão protéico-calórica, geralmente não se acompanha de co-morbidades, e a albumina sérica (Alb-S) pode estar normal ou levemente diminuída. O segundo tipo de desnutrição está associado com inflamação, aterosclerose e DCV. Na verdade, estes dois tipos de desnutrição estão frequentemente combinados na prática médica.

A avaliação nutricional da população urêmica pode ser realizada por métodos simples e de baixo custo, como por exemplo a avaliação subjetiva global (ASG), que utiliza dados da história clínica e exame físico (194). Outros métodos objetivos podem ser empregados, como por exemplo, avaliação do peso, altura e pregas cutâneas e taxa de aparecimento de nitrogênio urêmico (192).

O estudo MDRD (195) demonstrou que ocorre piora do estado nutricional à medida que ocorre redução na taxa de filtração glomerular (TFG), principalmente até atingir 60 ml/min.

Na HD, muitos fatores têm sido relacionados com o desenvolvimento de desnutrição. A interação entre o sangue e as membranas de celulose provoca um maior catabolismo protéico (57), pela ativação do sistema complemento e liberação das citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-1) (196). O catabolismo muscular também está aumentado pela presença de outras circunstâncias próprias do paciente urêmico, como a acidose metabólica, resistência insulínica e hiperparatireoidismo secundário (197-199). Outros fatores importantes a serem considerados incluem a redução na ingestão protéica (atribuída à anorexia, náuseas e vômitos causados pela síndrome urêmica), diálise inadequada e doenças crônicas concomitantes, como a insuficiência cardíaca congestiva (200).

5. SÍNDROME DIA E MORTALIDADE NA DRC

Ao estudarem pacientes em fase pré-diálise, Stenvinkel et al (191) observaram que 44% eram malnutridos, 32% tinham sinais de inflamação e que em 72% pôde-se verificar a presença de placas em carótidas. Caravaca et

al (201) analisaram 201 pacientes pré-diálise e verificaram 36% deles apresentavam sinais de desnutrição. O estudo CANUSA (estudo Canadá-EUA) (20) evidenciou que na fase pré dialítica metade dos pacientes já apresentam algum sinal de desnutrição, e quando em diálise, 51% dos pacientes apresentavam sinais de desnutrição, sendo considerada grave em 4% deles.

A prevalência da síndrome DIA (desnutrição, inflamação e aterosclerose) é elevada em pacientes em diálise. Qureshi et al (6) demonstraram que a prevalência de desnutrição em pacientes em HD foi de 65%, e nos casos de mortalidade de origem cardiovascular (52%), evidências de atividade inflamatória estiveram presentes em 55% dos casos. Enquanto nos sobreviventes a desnutrição estava presente em 40%, nos pacientes que evoluíram para óbito, sua prevalência foi de 80%. Zimmerman et al (202) estudaram 280 pacientes em HD e verificaram que a PCR estava elevada em 46% desta população na ausência de infecção clínica aparente, e que a mortalidade por doença cardiovascular foi significativamente mais elevada nos pacientes com hipoalbuminemia, principalmente naqueles com níveis elevados de PCR. Os mesmos autores recentemente descreveram que ao final de 4 anos de acompanhamento, a mortalidade anual foi de 11%, comprovando a observação inicial de que a alta taxa de mortalidade correlaciona-se com elevações séricas da PCR (48). Yeun et al (119) também demonstraram uma forte correlação entre a presença de inflamação, avaliada pela medida da PCR, e a mortalidade cardiovascular de pacientes em HD. Constatou-se neste estudo que pacientes que apresentaram menor sobrevida foram aqueles cujos níveis de PCR encontravam-se mais elevados. Outro achado destes autores foi que a maior causa de mortalidade neste mesmo grupo (41,5%) foi de origem cardiovascular. Ikizler et al (100) acompanharam a sobrevida de 73 pacientes em HD durante 15 meses, e concluíram que o risco de hospitalização foi maior no grupo de pacientes com PCR elevada. Da mesma forma, Kaysen et al, (129) em um estudo longitudinal estabeleceram que os valores da PCR podem variar ao longo do tempo, levando a crer que a resposta inflamatória se dá de forma intermitente e que os níveis de albumina sérica são influenciados diretamente pela presença de inflamação. Finalmente, além da PCR, Bologa et al (203) correlacionaram outros marcadores inflamatórios, como o TNF- α e a IL-6 com o

grau de hipoalbuminemia e constataram que a IL-6 foi o mais significativo fator de risco de mortalidade.

Em pacientes asiáticos, a prevalência de desnutrição e inflamação é menor que em outros continentes, apesar de a principal causa de mortalidade nestes pacientes também ser de origem cardiovascular (126). Noh et al (116) verificaram que, entre 106 pacientes, somente 12% apresentavam sinais de inflamação e 30,8% estavam desnutridos. Ainda assim, apesar de a prevalência de inflamação ser baixa naqueles pacientes, a PCR mostrou-se um fator independente de mortalidade. Em outro estudo asiático, Iseki et al (204-208) analisaram 163 pacientes em HD e observaram que a prevalência de inflamação foi de 27% e que 55% dos óbitos foram de origem cardiovascular. Talvez a presença de influências genéticas, diferenças dietéticas e sócio-econômicas possam modificar a síndrome DIA nesta população, explicando assim a menor prevalência de inflamação embora com a mesma prevalência de DCV.

A hipoalbuminemia é um dos mais consistentes preditores de mortalidade em pacientes com DRCT (209). A hipoalbuminemia é geralmente interpretada como marcador de desnutrição, particularmente calórico-protéica, mas os níveis de albumina sérica (Alb-S) podem também estar reduzidos devido a perdas que ocorrem durante a HD, ou como parte de uma reação de fase aguda a uma inflamação aguda ou crônica (129). As contribuições da desnutrição e perdas externas à hipoalbuminemia estão bem documentadas, mas a contribuição de mediadores inflamatórios é menos conhecida (210).

A IL-6 é produzida por diversos tipos de células, e em resposta a uma variedade de estímulos (74), tais como a uremia, isquemia, EO e em resposta ao TNF- α e IL-1. No fígado, a IL-6 induz a formação de proteínas de fase aguda positiva (SAA, PCR e glicoproteína ácida α -1) (211) e suprime a síntese de proteínas de fase aguda negativa, incluindo a albumina e transferrina. A injeção endovenosa de IL-6 reduz os níveis de albumina, e animais com tumores produtores de IL-6 apresentam uma supra-regulação da via de proteólise mediada pela ubiquitina-proteosoma, resultando numa síndrome de intensa degradação muscular (135).

6. ASSOCIAÇÃO ENTRE INFLAMAÇÃO E ESTRESSE OXIDATIVO

Como o EO e a inflamação são características comuns na DRC, tem sido considerada a possibilidade de haver uma associação entre eles na disfunção endotelial e a aterogênese, contribuindo para um risco aumentado de DCV (108). Por outro lado, o EO pode também estimular a resposta inflamatória. Alguns estudos clínicos sugerem que o EO e a inflamação estejam ligados na DRC. Nguyen-Khoa et al (212) sugeriram que a presença de inflamação e o tempo em diálise fossem importantes determinantes do EO em HD. Mezzano et al (109) encontraram correlação positiva significativa entre as proteínas de fase aguda e marcadores de EO.

No estudo CRIB (Chronic Renal Impairment in Birmingham), foi encontrada associação entre inflamação, disfunção endotelial e ativação plaquetária mesmo em pacientes com disfunção renal moderada. Em um estudo semelhante, Oberg et al (213) demonstraram que múltiplos marcadores de EO e inflamação estão elevados em pacientes com DRC estágio 3-5 comparados a indivíduos normais. Os níveis de PCR e IL-6 estavam significativamente mais elevados em pacientes com DRC comparados a pacientes com função renal normal no relato de Shlipak et al (55, 212, 214, 215) do estudo CHS (Cardiovascular Health Study). Outros investigadores demonstraram que pacientes com DRC apresentam evidências de EO aumentado, incluindo aumento na peroxidação lipídica e PAOPs (216). Então, está se tornando claro que existe uma elevada prevalência de EO e inflamação associados com a progressão da doença renal (6, 34, 48, 59, 119, 121, 129, 130, 217-219).

Há evidências de que as elevações dos níveis de PCR e de citocinas pró-inflamatórias (especialmente a IL-6), estão entre os previsores mais poderosos de subsequente morbidade e mortalidade em pacientes urêmicos (108, 214, 218, 220). Alguns estudos recentes têm demonstrado associação direta entre os níveis de marcadores de inflamação e EO, sugerindo uma ligação sinérgica e bidirecional de inflamação e EO (221, 222).

O EO pode também contribuir para o risco de aterosclerose supra-regulando a produção de citocinas inflamatórias, tais como a IL-6 e proteínas de fase aguda como a PCR, através da ativação do fator de transcrição nuclear

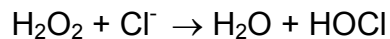
κ B (NF- κ B). O NF- κ B é um fator de rápida resposta envolvido em reações inflamatórias, que exerce suas funções através da expressão de citocinas e moléculas de adesão celular (223). O NF- κ B ativado já foi identificado *in situ* em placas ateroscleróticas humanas, mas está praticamente ausente em vasos sem lesões ateroscleróticas (224). A ativação do NF- κ B é controlada pelo estado de oxidação-redução (redox) da célula e a formação intracelular de ERO parece ser uma etapa comum a todas as vias de sinalização que levam à ativação do NF- κ B (225). A ativação do NF- κ B leva à síntese de IL-1 β , TNF- α , IL-6 e PCR.

O endotélio vascular tem uma importante participação na regulação do tônus arterial, agregação local de plaquetas, e inflamação vascular, em parte através da liberação de ON (216). O ON derivado do endotélio tem potentes propriedades anti-aterogênicas através da inibição das plaquetas, prevenção da proliferação de músculo liso, e redução da expressão de moléculas de adesão endotelial (226, 227). Em estados de EO aumentado, o ânion O_2^- produzido pela via da NADPH-oxidase reage extremamente rápido com o ON, resultando em perda da bioatividade do ON. A relação próxima entre EO aumentado, inativação do ON e eventos CV subsequentes foi recentemente avaliada (228). Em conjunto, estas observações sugerem que o EO, liberação de citocinas e inflamação estão ligados causal e sinergisticamente à patogênese da aterosclerose e DCV.

Além do papel do EO e inflamação na patogênese da aterosclerose, dados recentes sugerem que estes desarranjos metabólicos também contribuem para a patogênese da ICC (229, 230). Estudos demonstram que a sobrecarga crônica de volume aumenta o EO (231-233). Numerosos biomarcadores do EO estão elevados em pacientes com ICC, mesmo na ausência de aterosclerose coronariana (234).

Em pacientes urêmicos, o EO e a inflamação estão ligados através da enzima MPO. Neutrófilos e monócitos geram O_2^- , e sua dismutação produz H_2O_2 e a liberação simultânea da enzima MPO pelo heme (235). A MPO é uma das mais abundantes enzimas nos fagócitos, e tem a propriedade de converter o cloreto na presença de H_2O_2 em OCl^- .

MPO



A MPO pode modular diretamente as respostas inflamatórias vasculares, funcionando como uma óxido-nítrico oxidase vascular, e regulando assim a disponibilidade de ON (216). Como a MPO é liberada durante a inflamação aguda, a lesão oxidativa e a regulação do ON induzidas pela MPO indicam uma ligação entre os mecanismos de EO, inflamação e disfunção endotelial (236).

Já foi demonstrado que a MPO ativa pode ser liberada durante a HD (237). A ativação dos PMNs é uma característica bem reconhecida dos pacientes em diálise, que pode representar uma importante via de dano tissular e oxidação da LDL *in vivo*. A secreção aumentada de MPO poderia contribuir para a DCV através da promoção de disfunção endotelial por atenuar o relaxamento da musculatura lisa vascular promovida pelo ON (238). Tomadas em conjunto, a ativação dos PMNs e secreção da MPO podem ser o importante elo entre inflamação, EO e disfunção endotelial na DRC. Esta hipótese é sustentada por um estudo recente, que demonstrou que elevação na contagem leucocitária e nos níveis de MPO estão associados com a presença de doença DAC em um grupo de indivíduos sem doença renal (239). Além disso, um estudo recente demonstrou que uma variante funcional do gene funcional da MPO está associada com DCV em pacientes com DRC (36).

7. INFLAMAÇÃO E ESTRESSE OXIDATIVO NA DISFUNÇÃO ENDOTELIAL

Estudos recentes demonstram que a aterosclerose precoce está associada à disfunção endotelial, que pode ser mais prevalente naquelas situações associadas à inflamação e desnutrição. O processo inflamatório é associado à redução na biodisponibilidade de ON, e a disfunção endotelial resultante parece ser um dos elos entre a inflamação e a doença cardiovascular (240). Em DRC já foi demonstrada a correlação entre marcadores de disfunção endotelial e inflamação sistêmica (241, 242). Em animais, a injeção de IL-1 β e TNF- α causam disfunção endotelial,

espessamento da camada íntima e vasoespasma (243). Além disso, a infusão de citocinas causa modificação na capacidade de relaxamento vascular (244). A inflamação também pode interferir com a função do endotélio, modificando a expressão de ICAM-1 e VCAM, ativando a ligação de monócitos ao endotélio. Em pacientes portadores de DRC, tanto na fase pré-diálise como na fase dialítica, já foram descritas elevações nas concentrações de moléculas de adesão, sendo que duas das principais causas para estes achados seriam a redução na excreção renal daquelas substâncias (245, 246), e o aumento da expressão e síntese das moléculas de adesão decorrentes do estímulo pelas citocinas inflamatórias (247). A disfunção endotelial avaliada pelas moléculas de adesão parece ser uma importante via a ser considerada no processo aterogênico e suas conseqüências, e Stenvinkel et al demonstraram que as ICAM são preditoras independentes de mortalidade em pacientes em diálise (247).

8. INFLAMAÇÃO, DOENÇA CARDIOVASCULAR E POLIMORFISMOS GENÉTICOS

Estudos recentes demonstram que fatores genéticos, tais como polimorfismos de nucleotídeos do DNA, podem influenciar significativamente a resposta imune, níveis de marcadores inflamatórios e a prevalência de aterosclerose na DRC (1). Fatores étnicos, sociais e ambientais explicam parcialmente a grande variabilidade na incidência e prevalência da DCV na DRC, mas evidências recentes demonstram que há também a influência de diferentes padrões de susceptibilidade genética. Recentemente, foram descritos certos polimorfismos de nucleotídeos isolados, que podem influenciar o fenótipo e evolução neste grupo de pacientes, por exemplo por polimorfismos no gen da IL-6, que modulam os níveis de IL-6 (248), e polimorfismos na enzima conversora de angiotensina, angiotensinogênio, apo-E, TGF- β 1, MPO e fetuína A (248).

9. EPIDEMIOLOGIA REVERSA

Um grande número de estudos tem demonstrado que, além dos PAGs, outros fatores de risco, tais como a hiperhomocisteinemia, obesidade e hipertensão arterial paradoxalmente parecem estar associados com melhor sobrevida em pacientes com DRC (12). Cheung et al (249) demonstraram que, enquanto fatores tradicionais de risco tais como diabetes e tabagismo estavam associados com DCV, nem o colesterol total tampouco a pressão arterial sistólica estavam associados a DAC. De modo semelhante, vários estudos demonstram que níveis reduzidos de colesterol e Hci estão associados com aumento da mortalidade. Em 1990, Lowrie et al (250) analisaram 12.000 pacientes prevalentes em HD e verificaram que o colesterol estava inversamente associado com uma redução na sobrevida. Um recente estudo de Iseki et al (251) confirmou estes achados em um grande grupo de pacientes em HD acompanhados por mais de 10 anos, e demonstraram que os pacientes com hipocolesterolemia e PCR elevada têm uma pior sobrevida.

Na população geral, a Hci total foi estabelecida como um novo fator de risco para morbidade e mortalidade CV (182, 252). Entretanto, como alguns autores demonstraram (36), são os níveis reduzidos de Hci, e não os elevados, que se associam a DCV e mortalidade na DRC. Como a Hci está ligada à albumina, pode se sugerir que a desnutrição ou a inflamação possam contribuir para as relações paradoxais entre a Hci e a evolução dos pacientes. A obesidade, que também é um fator de risco bem estabelecido para DCV e morte prematura na população geral, pode ser protetora para pacientes com DRC terminal (253). Lowrie et al (254-256) verificaram em 43.334 pacientes em HD, que a sobrevida foi maior em pacientes com índice de massa corpórea mais elevado.

As aparentemente contraditórias observações nos pacientes com DRC, em contraste com a reconhecida associação entre hipercolesterolemia, hipertensão, obesidade e pior evolução na população geral representam a chamada epidemiologia reversa (6, 193, 257). A explicação para este fenômeno poderia estar relacionada à presença da síndrome DIA e seu impacto na evolução dos pacientes portadores de DRCT. Como a ativação de citocinas inflamatórias como a IL-6 e o TNF- α pode suprimir o apetite, causar

proteólise muscular e hipoalbuminemia e pode estar envolvida nos processos que levam à aterosclerose (um dos mecanismos para o desenvolvimento de DCV e desnutrição em pacientes em diálise pode ser a ativação de citocinas associada à causas relacionadas ou não à diálise).

10. CONCLUSÃO

A doença cardiovascular permanece como a maior causa de mortalidade entre os pacientes portadores de DRC. Além disso, o impacto da DCV aterosclerótica é agravado nesta população, pela presença de fatores que exacerbam seus mecanismos fisiopatogênicos, através da inflamação e EO, aumentados nos pacientes urêmicos. Estes fatores se interrelacionam de maneira complexa, gerando a permanência de mecanismos que mantêm um estado de agressão ao sistema cardiovascular e culminam com DCV acelerada e suas complicações. As características da população de renais crônicos, com idade avançada e suas várias comorbidades associadas, e a participação de fatores inerentes à diálise ou seu tratamento também afetam a evolução da inflamação e EO.

É praticamente impossível estudar a aterosclerose nos pacientes urêmicos sem abordar a síndrome de desnutrição, inflamação e aterosclerose e sua estreita ligação com o EO. Em nosso país não existem até o momento, trabalhos avaliando a interação e o impacto destes diferentes componentes do processo aterosclerótico. Além disso, seria de grande utilidade um estudo que demonstrasse evidências que permitissem a definição de um marcador mais fidedigno na classificação de pacientes urêmicos em risco para complicações de DCV. A comparação entre os marcadores inflamatórios, como a PCR e a IL-6, e marcadores do EO, como os PAOPs ou PAGs, na previsão de mortalidade de pacientes renais crônicos talvez permita estabelecer um novo parâmetro a ser utilizado na prática nefrológica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nordfors L, Lindholm B, Stenvinkel P. End-stage renal disease--not an equal opportunity disease: the role of genetic polymorphisms. *J Intern Med* 2005; 258(1):1-12.
2. Collins AJ, Kasiske B, Herzog C, Chen SC, Everson S, Constantini E, et al. Excerpts from the United States Renal Data System 2003 Annual Data Report: atlas of end-stage renal disease in the United States. *Am J Kidney Dis* 2003;42(6 Suppl 5):S1-S226.
3. Jones CA, McQuillan GM, Kusek JW, Eberhardt MS, Herman WH, Coresh J, et al. Serum creatinine levels in the US population: third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Kidney Dis* 1998; 32(6):992-9.
4. Yao Q, Lindholm B, Stenvinkel P. Inflammation as a cause of malnutrition, atherosclerotic cardiovascular disease, and poor outcome in hemodialysis patients. *Hemodialysis International* 2004; 8(2):118-129.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Stenvinkel P, Lindholm B. C-reactive protein in end-stage renal disease: are there reasons to measure it? *Blood Purif* 2005;23(1):72-8.
10. Baigent C, Burbury K, Wheeler D. Premature cardiovascular disease in chronic renal failure. *Lancet* 2000;356(9224):147-52.
11. Becker BN, Himmelfarb J, Henrich WL, Hakim RM. Reassessing the cardiac risk profile in chronic hemodialysis patients: a hypothesis on the role of oxidant stress and other non-traditional cardiac risk factors. *J Am Soc Nephrol* 1997;8(3):475-86.
12. Cheung AK, Sarnak MJ, Yan G, Dwyer JT, Heyka RJ, Rocco MV, et al. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000;58(1):353-62.

13. Bergstrom J, Lindholm B. Malnutrition, cardiac disease, and mortality: an integrated point of view. *Am J Kidney Dis* 1998;32(5):834-41.
14. Kim SB, Min WK, Lee SK, Park JS, Hong CD, Yang WS. Persistent elevation of C-reactive protein and ischemic heart disease in patients with continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 2002;39(2):342-6.
15. 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.
16. Sarnak MJ, Levey AS. Cardiovascular disease and chronic renal disease: a new paradigm. *Am J Kidney Dis* 2000;35(4 Suppl 1):S117-31.
17. Manjunath G, Tighiouart H, Ibrahim H, MacLeod B, Salem DN, Griffith JL, et al. Level of kidney function as a risk factor for atherosclerotic cardiovascular outcomes in the community. *J Am Coll Cardiol* 2003;41(1):47-55.
18. 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.
19. Levin A, Djurdjev O, Barrett B, Burgess E, Carlisle E, Ethier J, et al. Cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease: getting to the heart of the matter. *Am J Kidney Dis* 2001;38(6):1398-407.
20. Qureshi AR, Alvestrand A, Divino-Filho JC, Gutierrez A, Heimbürger O, Lindholm B, et al. Inflammation, malnutrition, and cardiac disease as predictors of mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2002;13 Suppl 1:S28-36.
21. Stenvinkel P, Heimbürger O, Wang T, Elinder CG, Bergstrom J, Lindholm B. A syndrome of malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA) is associated with elevated serum hyaluronan and increased mortality in chronic renal failure (CRF). *J Am Soc Nephrol* 1999;10:182-A (abstract).
22. CREED. Cardiovascular risk extended evaluation in dialysis patients (CREED). C-reactive protein and atherosclerosis in dialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1998;13(10):2710-2711.
23. Kato A, Takita T, Maruyama Y, Kumagai H, Hishida A. Impact of carotid atherosclerosis on long-term mortality in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 2003;64(4):1472-9.

24. 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.
25. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340(2):115-26.
26. Kaysen GA. The microinflammatory state in uremia: causes and potential consequences. *J Am Soc Nephrol* 2001;12(7):1549-57.
27. Kronenberg F, Trenkwalder E, Sturm W, Kathrein H, Konig P, Neyer U, et al. LDL-unbound apolipoprotein(a) and carotid atherosclerosis in hemodialysis patients. *Clin Genet* 1997;52(5):377-86.
28. Maggi E, Bellazzi R, Falaschi F, Frattoni A, Perani G, Finardi G, et al. Enhanced LDL oxidation in uremic patients: an additional mechanism for accelerated atherosclerosis? *Kidney Int* 1994;45(3):876-83.
29. Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J* 1999;138(5 Pt 2):S419-20.
30. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. Inflammation and atherosclerosis in end-stage renal disease. *Blood Purif* 2003;21(1):29-36.
31. 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.
32. Zoccali C, Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Cutrupi S, Parlongo S, et al. Fibrinogen, inflammation and concentric left ventricular hypertrophy in chronic renal failure. *Eur J Clin Invest* 2003;33(7):561-6.
33. Prichard SS. Impact of dyslipidemia in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(9 Suppl 4):S315-20.
34. Stenvinkel P. Inflammatory and atherosclerotic interactions in the depleted uremic patient. *Blood Purif* 2001;19(1):53-61.
35. Beharka AA, Meydani M, Wu D, Leka LS, Meydani A, Meydani SN. Interleukin-6 production does not increase with age. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001;56(2):B81-8.
36. Yao Q, Pecoits-Filho R, Lindholm B, Stenvinkel P. Traditional and non-traditional risk factors as contributors to atherosclerotic cardiovascular disease in end-stage renal disease. *Scand J Urol Nephrol* 2004;38(5):405-16.
37. Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation* 1998;98(8):731-3.

38. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;336(14):973-9.
39. Cushman M, Legault C, Barrett-Connor E, Stefanick ML, Kessler C, Judd HL, et al. Effect of postmenopausal hormones on inflammation-sensitive proteins: the Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Study. *Circulation* 1999;100(7):717-22.
40. Stenvinkel P, Wanner C, Metzger T, Heimbürger O, Mallamaci F, Tripepi G, et al. Inflammation and outcome in end-stage renal failure: does female gender constitute a survival advantage? *Kidney Int* 2002;62(5):1791-8.
41. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, et al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- α , in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(12):4196-200.
42. Fernandez-Real JM, Vayreda M, Richart C, Gutierrez C, Broch M, Vendrell J, et al. Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(3):1154-9.
43. Fleischmann E, Teal N, Dudley J, May W, Bower JD, Salahudeen AK. Influence of excess weight on mortality and hospital stay in 1346 hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999;55(4):1560-7.
44. Nakanishi I, Moutabarrak A, Okada N, Kitamura E, Hayashi A, Syouji T, et al. Interleukin-8 in chronic renal failure and dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9(10):1435-42.
45. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre 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.
46. Owen WF, Lowrie EG. C-reactive protein as an outcome predictor for maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998;54(2):627-36.
47. Qureshi AR, Alvestrand A, Danielsson A, Divino-Filho JC, Gutierrez A, Lindholm B, et al. Factors predicting malnutrition in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *Kidney Int* 1998;53(3):773-82.
48. 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.
49. 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.

50. 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.
51. Panichi V, Migliori M, De Pietro S, Taccola D, Bianchi AM, Norpoth M, et al. C reactive protein in patients with chronic renal diseases. *Ren Fail* 2001;23(3-4):551-62.
52. Brockhaus M, Bar-Khayim Y, Gurwicz S, Frensdorff A, Haran N. Plasma tumor necrosis factor soluble receptors in chronic renal failure. *Kidney Int* 1992;42(3):663-7.
53. 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.
54. van Riemsdijk-van Overbeeke IC, Baan CC, Hesse CJ, Loonen EH, Niesters HG, Zietse R, et al. TNF-alpha: mRNA, plasma protein levels and soluble receptors in patients on chronic hemodialysis, on CAPD and with end-stage renal failure. *Clin Nephrol* 2000;53(2):115-23.
55. 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.
56. Pecoits-Filho R, Heimbürger O, Barany P, Suliman M, Fehrman-Ekholm I, Lindholm B, et al. Associations between circulating inflammatory markers and residual renal function in CRF patients. *Am J Kidney Dis* 2003;41(6):1212-8.
57. Memoli B, Postiglione L, Cianciaruso B, Bisesti V, Cimmaruta C, Marzano L, et al. Role of different dialysis membranes in the release of interleukin-6-soluble receptor in uremic patients. *Kidney Int* 2000;58(1):417-24.
58. Netea MG, Selzman CH, Kullberg BJ, Galama JM, Weinberg A, Stalenhoef AF, et al. Acellular components of *Chlamydia pneumoniae* stimulate cytokine production in human blood mononuclear cells. *Eur J Immunol* 2000;30(2):541-9.
59. 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.
60. Mengel R, Flores-de-Jacoby L, Bruchmann S, Zafiropoulos GG. [Periodontal status in Rio de Janeiro city (Brazil)]. *Dtsch Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl* 1991;79(4):285-92.

61. Rahmati MA, Craig RG, Homel P, Kaysen GA, Levin NW. Serum markers of periodontal disease status and inflammation in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2002;40(5):983-9.
62. DeFronzo RA, Alvestrand A, Smith D, Hendler R, Hendler E, Wahren J. Insulin resistance in uremia. *J Clin Invest* 1981;67(2):563-8.
63. 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.
64. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *Jama* 1999;282(22):2131-5.
65. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(4):972-8.
66. Festa A, D'Agostino R, Jr., Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation* 2000;102(1):42-7.
67. Campos SP, Baumann H. Insulin is a prominent modulator of the cytokine-stimulated expression of acute-phase plasma protein genes. *Mol Cell Biol* 1992;12(4):1789-97.
68. Cavaillon JM, Poignet JL, Fitting C, Delons S. Serum interleukin-6 in long-term hemodialyzed patients. *Nephron* 1992;60(3):307-13.
69. Libetta C, De Nicola L, Rampino T, De Simone W, Memoli B. Inflammatory effects of peritoneal dialysis: evidence of systemic monocyte activation. *Kidney Int* 1996;49(2):506-11.
70. 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.
71. Takahashi T, Kubota M, Nakamura T, Ebihara I, Koide H. Interleukin-6 gene expression in peripheral blood mononuclear cells from patients undergoing hemodialysis or continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Ren Fail* 2000;22(3):345-54.
72. Schiffli H, Lang SM, Stratakis D, Fischer R. Effects of ultrapure dialysis fluid on nutritional status and inflammatory parameters. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16(9):1863-9.
73. Panichi V, Tetta C, Rindi P, Palla R, Lonnemann G. Plasma C-reactive protein is linked to backfiltration associated interleukin-6 production. *Asaio J* 1998;44(5):M415-7.

74. Honkanen E, Gronhagen-Riska C, Teppo AM, Maury CP, Meri S. Acute-phase proteins during hemodialysis: correlations with serum interleukin-1 beta levels and different dialysis membranes. *Nephron* 1991;57(3):283-7.
75. Tielemans C, Husson C, Schurmans T, Gastaldello K, Madhoun P, Delville JP, et al. Effects of ultrapure and non-sterile dialysate on the inflammatory response during in vitro hemodialysis. *Kidney Int* 1996;49(1):236-43.
76. Kaysen GA, Kumar V. Inflammation in ESRD: causes and potential consequences. *J Ren Nutr* 2003;13(2):158-60.
77. Yeun JY, Kaysen GA. Acute phase proteins and peritoneal dialysate albumin loss are the main determinants of serum albumin in peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1997;30(6):923-7.
78. Carozzi S, Nasini MG, Ravera M, Sanna A, Tirota A, Lamperi S. Peritoneal dialysis effluent, cytokine levels, and peritoneal mesothelial cell viability in CAPD: a possible relationship. *Adv Perit Dial* 1997;13:7-12.
79. Hirschfield GM, Pepys MB. C-reactive protein and cardiovascular disease: new insights from an old molecule. *QJM* 2003;96(11):793-807.
80. Volanakis JE. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol* 2001;38(2-3):189-97.
81. Irish A. Cardiovascular disease, fibrinogen and the acute phase response: associations with lipids and blood pressure in patients with chronic renal disease. *Atherosclerosis* 1998;137(1):133-9.
82. Rhoads GG, Dahlen G, Berg K, Morton NE, Dannenberg AL. Lp(a) lipoprotein as a risk factor for myocardial infarction. *Jama* 1986;256(18):2540-4.
83. Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM, Jr., et al. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation* 1997;96(12):4219-25.
84. Oertli B, Beck-Schimmer B, Fan X, Wuthrich RP. Mechanisms of hyaluronan-induced up-regulation of ICAM-1 and VCAM-1 expression by murine kidney tubular epithelial cells: hyaluronan triggers cell adhesion molecule expression through a mechanism involving activation of nuclear factor-kappa B and activating protein-1. *J Immunol* 1998;161(7):3431-7.
85. 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.

86. Thompson D, Pepys MB, Wood SP. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure* 1999;7(2):169-77.
87. Du Clos TW. Function of C-reactive protein. *Ann Med* 2000;32(4):274-8.
88. Gershov D, Kim S, Brot N, Elkon KB. C-Reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. *J Exp Med* 2000;192(9):1353-64.
89. de Beer FC, Soutar AK, Baltz ML, Trayner IM, Feinstein A, Pepys MB. Low density lipoprotein and very low density lipoprotein are selectively bound by aggregated C-reactive protein. *J Exp Med* 1982;156(1):230-42.
90. 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.
91. 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.
92. 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.
93. Vlaicu R, Rus HG, Niculescu F, Cristea A. Immunoglobulins and complement components in human aortic atherosclerotic intima. *Atherosclerosis* 1985;55(1):35-50.
94. Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. *Bmj* 2000;321(7255):199-204.
95. Koenig W, Wanner C. C-reactive protein and coronary artery disease-what is the link? *Nephrol Dial Transplant* 1999;14(12):2798-800.
96. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuffi AG, Pepys MB, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994;331(7):417-24.
97. 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.

98. Frohlich M, Imhof A, Berg G, Hutchinson WL, Pepys MB, Boeing H, et al. Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome: a population-based study. *Diabetes Care* 2000;23(12):1835-9.
99. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, 3rd, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107(3):499-511.
100. 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.
101. 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.
102. Folsom AR, Aleksic N, Catellier D, Juneja HS, Wu KK. C-reactive protein and incident coronary heart disease in the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Am Heart J* 2002;144(2):233-8.
103. 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.
104. Calabro P, Willerson JT, Yeh ET. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation* 2003;108(16):1930-2.
105. Jungers P, Massy ZA, Khoa TN, Fumeron C, Labrunie M, Lacour B, et al. Incidence and risk factors of atherosclerotic cardiovascular accidents in predialysis chronic renal failure patients: a prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12(12):2597-602.
106. Landray MJ, Wheeler DC, Lip GY, Newman DJ, Blann AD, McGlynn FJ, et al. Inflammation, endothelial dysfunction, and platelet activation in patients with chronic kidney disease: the chronic renal impairment in Birmingham (CRIB) study. *Am J Kidney Dis* 2004;43(2):244-53.
107. Muntner P, Hamm LL, Kusek JW, Chen J, Whelton PK, He J. The prevalence of nontraditional risk factors for coronary heart disease in patients with chronic kidney disease. *Ann Intern Med* 2004;140(1):9-17.
108. 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.

109. 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.
110. Stuveling EM, Hillege HL, Bakker SJ, Gans RO, De Jong PE, De Zeeuw D. C-reactive protein is associated with renal function abnormalities in a non-diabetic population. *Kidney Int* 2003;63(2):654-61.
111. Huber SA, Sakkinen P, Conze D, Hardin N, Tracy R. Interleukin-6 exacerbates early atherosclerosis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(10):2364-7.
112. Pigott R, Dillon LP, Hemingway IH, Gearing AJ. Soluble forms of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 are present in the supernatants of cytokine activated cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;187(2):584-9.
113. Greenberg AS, Nordan RP, McIntosh J, Calvo JC, Scow RO, Jablons D. Interleukin 6 reduces lipoprotein lipase activity in adipose tissue of mice in vivo and in 3T3-L1 adipocytes: a possible role for interleukin 6 in cancer cachexia. *Cancer Res* 1992;52(15):4113-6.
114. Feingold KR, Grunfeld C. Role of cytokines in inducing hyperlipidemia. *Diabetes* 1992;41 Suppl 2:97-101.
115. Elhage R, Clamens S, Besnard S, Mallat Z, Tedgui A, Arnal J, et al. Involvement of interleukin-6 in atherosclerosis but not in the prevention of fatty streak formation by 17beta-estradiol in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis* 2001;156(2):315-20.
116. Iseki K, Tozawa M, Yoshi S, Fukiyama K. Serum C-reactive protein (CRP) and risk of death in chronic dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14(8):1956-60.
117. Bergstrom J, Heimbürger O, Lindholm B, Qureshi AR. Elevated serum C-reactive protein is a strong predictor of increased mortality and low serum albumin in hemodialysis (HD) patients. *J Am Soc Nephrol* 1995;6:573A (abstract).
118. Menon V, Wang X, Greene T, Beck GJ, Kusek JW, Marcovina SM, et al. Relationship between C-reactive protein, albumin, and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003;42(1):44-52.
119. Ikizler TA, Wingard RL, Harvell J, Shyr Y, Hakim RM. Association of morbidity with markers of nutrition and inflammation in chronic hemodialysis patients: a prospective study. *Kidney Int* 1999;55(5):1945-51.
120. Hurst SM, Wilkinson TS, McLoughlin RM, Jones S, Horiuchi S, Yamamoto N, et al. Il-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal

- switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity* 2001;14(6):705-14.
121. Kimmel PL, Phillips TM, Simmens SJ, Peterson RA, Weihs KL, Alleyne S, et al. Immunologic function and survival in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998;54(1):236-44.
 122. Ayus JC, Sheikh-Hamad D. Silent infection in clotted hemodialysis access grafts. *J Am Soc Nephrol* 1998;9(7):1314-7.
 123. Heinrich J, Schulte H, Schonfeld R, Kohler E, Assmann G. Association of variables of coagulation, fibrinolysis and acute-phase with atherosclerosis in coronary and peripheral arteries and those arteries supplying the brain. *Thromb Haemost* 1995;73(3):374-9.
 124. 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.
 125. Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998;102(7):1369-76.
 126. Noh H, Lee SW, Kang SW, Shin SK, Choi KH, Lee HY, et al. Serum C-reactive protein: a predictor of mortality in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1998;18(4):387-94.
 127. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000;101(15):1767-72.
 128. Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, Corti MC, Wacholder S, Ettinger WH, Jr., et al. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med* 1999;106(5):506-12.
 129. 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.
 130. Pecoits-Filho R, Barany P, Lindholm B, Heimbürger O, Stenvinkel P. Interleukin-6 is an independent predictor of mortality in patients starting dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(9):1684-8.
 131. Jones SA, Horiuchi S, Topley N, Yamamoto N, Fuller GM. The soluble interleukin 6 receptor: mechanisms of production and implications in disease. *Faseb J* 2001;15(1):43-58.
 132. Heinrich PC, Behrmann I, Müller-Newen G, Schaper F, Graeve L. Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/Jak/STAT pathway. *Biochem J* 1998;334 (Pt 2):297-314.

133. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997;82(2):291-5.
134. Handelman GJ. Evaluation of oxidant stress in dialysis patients. *Blood Purif* 2000;18(4):343-9.
135. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(7):1272-80.
136. Loguercio C, Federico A. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. *Free Radic Biol Med* 2003;34(1):1-10.
137. Massy ZA, Nguyen-Khoa T. Oxidative stress and chronic renal failure: markers and management. *J Nephrol* 2002;15(4):336-41.
138. Descamps-Latscha B, Drueke T, Witko-Sarsat V. Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy. *Semin Dial* 2001;14(3):193-9.
139. Halliwell B. The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. *Haemostasis* 1993;23 Suppl 1:118-26.
140. Ceballos-Picot I, Witko-Sarsat V, Merad-Boudia M, Nguyen AT, Thevenin M, Jaudon MC, et al. Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radic Biol Med* 1996;21(6):845-53.
141. Miyata T, Wada Y, Cai Z, Iida Y, Horie K, Yasuda Y, et al. Implication of an increased oxidative stress in the formation of advanced glycation end products in patients with end-stage renal failure. *Kidney Int* 1997;51(4):1170-81.
142. Spittle MA, Hoenich NA, Handelman GJ, Adhikarla R, Homel P, Levin NW. Oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2001;38(6):1408-13.
143. Maggi E, Bellazzi R, Gazo A, Seccia M, Bellomo G. Autoantibodies against oxidatively-modified LDL in uremic patients undergoing dialysis. *Kidney Int* 1994;46(3):869-76.
144. Bonnefont-Rousselot D, Lehmann E, Jaudon MC, Delattre J, Perrone B, Rechke JP. Blood oxidative stress and lipoprotein oxidizability in haemodialysis patients: effect of the use of a vitamin E-coated dialysis membrane. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15(12):2020-8.
145. Drueke T, Witko-Sarsat V, Massy Z, Descamps-Latscha B, Guerin AP, Marchais SJ, et al. Iron therapy, advanced oxidation protein products, and carotid artery intima-media thickness in end-stage renal disease. *Circulation* 2002;106(17):2212-7.

146. Turlin B, Deugnier Y. Iron overload disorders. *Clin Liver Dis* 2002;6(2):481-96, viii.
147. Zager RA, Johnson AC, Hanson SY, Wasse H. Parenteral iron formulations: a comparative toxicologic analysis and mechanisms of cell injury. *Am J Kidney Dis* 2002;40(1):90-103.
148. 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.
149. Westendorp MO, Shatrov VA, Schulze-Osthoff K, Frank R, Kraft M, Los M, et al. HIV-1 Tat potentiates TNF-induced NF-kappa B activation and cytotoxicity by altering the cellular redox state. *Embo J* 1995;14(3):546-54.
150. Nascimento MM, Bruchfeld A, Suliman ME, Hayashi SY, Pecoits-Filho R, Manfro RC, et al. Effect of hepatitis C serology on C-reactive protein in a cohort of Brazilian hemodialysis patients. *Braz J Med Biol Res* 2005;38(5):783-8.
151. Carneiro MA, Martins RM, Teles SA, Silva SA, Lopes CL, Cardoso DD, et al. Hepatitis C prevalence and risk factors in hemodialysis patients in Central Brazil: a survey by polymerase chain reaction and serological methods. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96(6):765-9.
152. Rigamonti C, Andorno S, Maduli E, Morelli S, Pittau S, Nicosia G, et al. Iron, hepatic stellate cells and fibrosis in chronic hepatitis C. *Eur J Clin Invest* 2002;32 Suppl 1:28-35.
153. Jain SK, Pemberton PW, Smith A, McMahon RF, Burrows PC, Aboutwerat A, et al. Oxidative stress in chronic hepatitis C: not just a feature of late stage disease. *J Hepatol* 2002;36(6):805-11.
154. Ishizaka Y, Ishizaka N, Takahashi E, Unuma T, Tooda E, Hashimoto H, et al. Association between hepatitis C virus core protein and carotid atherosclerosis. *Circ J* 2003;67(1):26-30.
155. Kiechl S, Werner P, Egger G, Oberhollenzer F, Mayr M, Xu Q, et al. Active and passive smoking, chronic infections, and the risk of carotid atherosclerosis: prospective results from the Bruneck Study. *Stroke* 2002;33(9):2170-6.
156. Canaud B, Cristol J, Morena M, Leray-Moragues H, Bosc J, Vaussenat F. Imbalance of oxidants and antioxidants in haemodialysis patients. *Blood Purif* 1999;17(2-3):99-106.
157. Descamps-Latscha B, Goldfarb B, Nguyen AT, Landais P, London G, Haeffner-Cavaillon N, et al. Establishing the relationship between complement activation and stimulation of phagocyte oxidative

- metabolism in hemodialyzed patients: a randomized prospective study. *Nephron* 1991;59(2):279-85.
158. Nguyen AT, Lethias C, Zingraff J, Herbelin A, Naret C, Descamps-Latscha B. Hemodialysis membrane-induced activation of phagocyte oxidative metabolism detected in vivo and in vitro within microamounts of whole blood. *Kidney Int* 1985;28(2):158-67.
 159. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, Witko-Sarsat V, Thevenin M, Touam M, Lambrey G, et al. Critical evaluation of plasma and LDL oxidant-trapping potential in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999;56(2):747-53.
 160. Pryor WA. Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes, and reactions. *Annu Rev Physiol* 1986;48:657-67.
 161. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996;49(5):1304-13.
 162. Tarng DC, Huang TP, Wei YH, Liu TY, Chen HW, Wen Chen T, et al. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine of leukocyte DNA as a marker of oxidative stress in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2000;36(5):934-44.
 163. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. *Kidney Int Suppl* 2001;78:S108-13.
 164. Chauveau P, Chadeaux B, Coude M, Aupetit J, Hannedouche T, Kamoun P, et al. Hyperhomocysteinemia, a risk factor for atherosclerosis in chronic uremic patients. *Kidney Int Suppl* 1993;41:S72-7.
 165. Sarnak MJ, Coronado BE, Greene T, Wang SR, Kusek JW, Beck GJ, et al. Cardiovascular disease risk factors in chronic renal insufficiency. *Clin Nephrol* 2002;57(5):327-35.
 166. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Gausson V, Mothu N, et al. Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005;45(1):39-47.
 167. Witko-Sarsat V, Gausson V, Nguyen AT, Touam M, Drueke T, Santangelo F, et al. AOPP-induced activation of human neutrophil and monocyte oxidative metabolism: a potential target for N-acetylcysteine treatment in dialysis patients. *Kidney Int* 2003;64(1):82-91.
 168. Miyata T, Ishiguro N, Yasuda Y, Ito T, Nangaku M, Iwata H, et al. Increased pentosidine, an advanced glycation end product, in plasma and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and its relation with inflammatory markers. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;244(1):45-9.

169. Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ, Yang Z, Skolnik E, Delaney V, et al. Advanced glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 1991;325(12):836-42.
170. Miyata T, van Ypersele de Strihou C, Kurokawa K, Baynes JW. Alterations in nonenzymatic biochemistry in uremia: origin and significance of "carbonyl stress" in long-term uremic complications. *Kidney Int* 1999;55(2):389-99.
171. Miyata T, Ueda Y, Shinzato T, Iida Y, Tanaka S, Kurokawa K, et al. Accumulation of albumin-linked and free-form pentosidine in the circulation of uremic patients with end-stage renal failure: renal implications in the pathophysiology of pentosidine. *J Am Soc Nephrol* 1996;7(8):1198-206.
172. Miyata T, Oda O, Inagi R, Iida Y, Araki N, Yamada N, et al. beta 2-Microglobulin modified with advanced glycation end products is a major component of hemodialysis-associated amyloidosis. *J Clin Invest* 1993;92(3):1243-52.
173. Miyata T, Ishikawa S, Asahi K, Inagi R, Suzuki D, Horie K, et al. 2-Isopropylidenehydrazono-4-oxo-thiazolidin-5-ylacetanilide (OPB-9195) treatment inhibits the development of intimal thickening after balloon injury of rat carotid artery: role of glycooxidation and lipoxidation reactions in vascular tissue damage. *FEBS Lett* 1999;445(1):202-6.
174. Zoccali C, Mallamaci F, Asahia K, Benedetto FA, Tripepi G, Tripepi R, et al. Pentosidine, carotid atherosclerosis and alterations in left ventricular geometry in hemodialysis patients. *J Nephrol* 2001;14(4):293-8.
175. Schwedler SB, Metzger T, Schinzel R, Wanner C. Advanced glycation end products and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002;62(1):301-10.
176. Schleicher ED, Wagner E, Nerlich AG. Increased accumulation of the glycooxidation product N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine in human tissues in diabetes and aging. *J Clin Invest* 1997;99(3):457-68.
177. 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.
178. Schwedler S, Schinzel R, Vaith P, Wanner C. Inflammation and advanced glycation end products in uremia: simple coexistence, potentiation or causal relationship? *Kidney Int Suppl* 2001;78:S32-6.
179. Suliman ME, Heimbürger O, Barany P, Anderstam B, Pecoits-Filho R, Rodriguez Ayala E, et al. Plasma pentosidine is associated with inflammation and malnutrition in end-stage renal disease patients starting on dialysis therapy. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(6):1614-22.

180. Uribarri J, Peppas M, Cai W, Goldberg T, Lu M, He C, et al. Restriction of dietary glycotoxins reduces excessive advanced glycation end products in renal failure patients. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(3):728-31.
181. Suliman ME, Barany P, Kalantar-Zadeh K, Lindholm B, Stenvinkel P. Homocysteine in uraemia--a puzzling and conflicting story. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20(1):16-21.
182. Suliman ME, Qureshi AR, Barany P, Stenvinkel P, Filho JC, Anderstam B, et al. Hyperhomocysteinemia, nutritional status, and cardiovascular disease in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000;57(4):1727-35.
183. Suliman ME, Stenvinkel P, Heimbürger O, Barany P, Lindholm B, Bergström J. Plasma sulfur amino acids in relation to cardiovascular disease, nutritional status, and diabetes mellitus in patients with chronic renal failure at start of dialysis therapy. *Am J Kidney Dis* 2002;40(3):480-8.
184. van Guldener C, Janssen MJ, Lambert J, ter Wee PM, Donker AJ, Stehouwer CD. Folic acid treatment of hyperhomocysteinemia in peritoneal dialysis patients: no change in endothelial function after long-term therapy. *Perit Dial Int* 1998;18(3):282-9.
185. Jennette JC, Goldman ID. Inhibition of the membrane transport of folates by anions retained in uremia. *J Lab Clin Med* 1975;86(5):834-43.
186. Fodinger M, Mannhalter C, Wolf G, Pabinger I, Müller E, Schmid R, et al. Mutation (677 C to T) in the methylenetetrahydrofolate reductase gene aggravates hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1997;52(2):517-23.
187. Kalantar-Zadeh K, Block G, Humphreys MH, McAllister CJ, Kopple JD. A low, rather than a high, total plasma homocysteine is an indicator of poor outcome in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2004;15(2):442-53.
188. Sydow K, Schwedhelm E, Arakawa N, Bode-Boger SM, Tsikas D, Hornig B, et al. ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inemia: effects of L-arginine and B vitamins. *Cardiovasc Res* 2003;57(1):244-52.
189. Viridis A, Ghiadoni L, Cardinal H, Favilla S, Duranti P, Birindelli R, et al. Mechanisms responsible for endothelial dysfunction induced by fasting hyperhomocysteinemia in normotensive subjects and patients with essential hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2001;38(4):1106-15.
190. Suliman ME, Lindholm B, Barany P, Bergström J. Hyperhomocysteinemia in chronic renal failure patients: relation to nutritional status and cardiovascular disease. *Clin Chem Lab Med* 2001;39(8):734-8.

191. Caravaca F, Arrobas M, Pizarro JL, Sanchez-Casado E. Uraemic symptoms, nutritional status and renal function in pre-dialysis end-stage renal failure patients. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16(4):776-82.
192. Riella MC. Malnutrition in dialysis: malnourishment or uremic inflammatory response? *Kidney Int* 2000;57(3):1211-32.
193. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergström 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.
194. Clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. K/DOQI, National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis* 2000;35(6 Suppl 2):S1-140.
195. Coronado B, Beck G, Greene T. Cardiovascular disease risk factors and GFR in the MDRD study. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:135 A (abstract).
196. Ikizler TA, Pupim LB, Brouillette JR, Levenhagen DK, Farmer K, Hakim RM, et al. Hemodialysis stimulates muscle and whole body protein loss and alters substrate oxidation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002;282(1):E107-16.
197. Bergström J. Metabolic acidosis and nutrition in dialysis patients. *Blood Purif* 1995;13(6):361-7.
198. Hakim RM, Levin N. Malnutrition in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1993;21(2):125-37.
199. Heimbürger O, Qureshi AR, Blarer 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.
200. Plata-Salaman CR. Cytokines and anorexia: a brief overview. *Semin Oncol* 1998;25(1 Suppl 1):64-72.
201. Adequacy of dialysis and nutrition in continuous peritoneal dialysis: association with clinical outcomes. Canada-USA (CANUSA) Peritoneal Dialysis Study Group. *J Am Soc Nephrol* 1996;7(2):198-207.
202. Wanner C, Zimmermann J, Schwedler S, Metzger T. Inflammation and cardiovascular risk in dialysis patients. *Kidney Int Suppl* 2002(80):99-102.
203. Shinzato T, Nakai S, Akiba T, Yamagami S, Yamazaki C, Kitaoka T, et al. Report of the annual statistical survey of the Japanese Society for Dialysis Therapy in 1996. *Kidney Int* 1999;55(2):700-12.

204. Avram MM, Mittman N, Bonomini L, Chattopadhyay J, Fein P. Markers for survival in dialysis: a seven-year prospective study. *Am J Kidney Dis* 1995;26(1):209-19.
205. Churchill DN, Taylor DW, Cook RJ, LaPlante P, Barre P, Cartier P, et al. Canadian Hemodialysis Morbidity Study. *Am J Kidney Dis* 1992;19(3):214-34.
206. Collins AJ, Ma JZ, Umen A, Keshaviah P. Urea index and other predictors of hemodialysis patient survival. *Am J Kidney Dis* 1994;23(2):272-82.
207. Iseki K, Kawazoe N, Fukiyama K. Serum albumin is a strong predictor of death in chronic dialysis patients. *Kidney Int* 1993;44(1):115-9.
208. 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.
209. Kaysen GA, Stevenson FT, Depner TA. Determinants of albumin concentration in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1997;29(5):658-68.
210. Kopf M, Baumann H, Freer G, Freudenberg M, Lamers M, Kishimoto T, et al. Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. *Nature* 1994;368(6469):339-42.
211. Mitch WE, Goldberg AL. Mechanisms of muscle wasting. The role of the ubiquitin-proteasome pathway. *N Engl J Med* 1996;335(25):1897-905.
212. Mezzano D, Pais EO, Aranda E, Panes O, Downey P, Ortiz M, et al. Inflammation, not hyperhomocysteinemia, is related to oxidative stress and hemostatic and endothelial dysfunction in uremia. *Kidney Int* 2001;60(5):1844-50.
213. Shlipak MG, Fried LF, Crump C, Bleyer AJ, Manolio TA, Tracy RP, et al. Elevations of inflammatory and procoagulant biomarkers in elderly persons with renal insufficiency. *Circulation* 2003;107(1):87-92.
214. 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.
215. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen Khoa T, Capeillere-Blandin C, Nguyen AT, Canteloup S, et al. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. *J Immunol* 1998;161(5):2524-32.
216. Himmelfarb J. Linking Oxidative Stress and Inflammation in Kidney Disease: Which is the Chicken and Which is the Egg? *Semin Dial* 2004;17(6):449-54.

217. 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.
218. Danielski M, Ikizler TA, McMonagle E, Kane JC, Pupim L, Morrow J, et al. Linkage of hypoalbuminemia, inflammation, and oxidative stress in patients receiving maintenance hemodialysis therapy. *Am J Kidney Dis* 2003;42(2):286-94.
219. Kimmel PL, Chawla LS, Amarasinghe A, Peterson RA, Weihs KL, Simmens SJ, et al. Anthropometric measures, cytokines and survival in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(2):326-32.
220. Handelman GJ, Walter MF, Adhikarla R, Gross J, Dallal GE, Levin NW, et al. Elevated plasma F2-isoprostanes in patients on long-term hemodialysis. *Kidney Int* 2001;59(5):1960-6.
221. Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997;336(15):1066-71.
222. Collins T, Cybulsky MI. NF-kappaB: pivotal mediator or innocent bystander in atherogenesis? *J Clin Invest* 2001;107(3):255-64.
223. Brand K, Page S, Rogler G, Bartsch A, Brandl R, Knuechel R, et al. Activated transcription factor nuclear factor-kappa B is present in the atherosclerotic lesion. *J Clin Invest* 1996;97(7):1715-22.
224. Janssen-Heininger YM, Poynter ME, Baeuerle PA. Recent advances towards understanding redox mechanisms in the activation of nuclear factor kappaB. *Free Radic Biol Med* 2000;28(9):1317-27.
225. Furchgott RF. Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ Res* 1983;53(5):557-73.
226. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res* 2000;87(10):840-4.
227. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Munzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001;104(22):2673-8.
228. Mak S, Newton GE. The oxidative stress hypothesis of congestive heart failure: radical thoughts. *Chest* 2001;120(6):2035-46.
229. Belch JJ, Chopra M, Hutchison S, Lorimer R, Sturrock RD, Forbes CD, et al. Free radical pathology in chronic arterial disease. *Free Radic Biol Med* 1989;6(4):375-8.
230. Prasad K, Gupta JB, Kalra J, Lee P, Mantha SV, Bharadwaj B. Oxidative stress as a mechanism of cardiac failure in chronic volume overload in canine model. *J Mol Cell Cardiol* 1996;28(2):375-85.

231. Khaper N, Kaur K, Li T, Farahmand F, Singal PK. Antioxidant enzyme gene expression in congestive heart failure following myocardial infarction. *Mol Cell Biochem* 2003;251(1-2):9-15.
232. Nonaka-Sarukawa M, Yamamoto K, Aoki H, Takano H, Katsuki T, Ikeda U, et al. Increased urinary 15-F2t-isoprostane concentrations in patients with non-ischaemic congestive heart failure: a marker of oxidative stress. *Heart* 2003;89(8):871-4.
233. Yucel D, Aydogdu S, Senes M, Topkaya BC, Nebioglu S. Evidence of increased oxidative stress by simple measurements in patients with dilated cardiomyopathy. *Scand J Clin Lab Invest* 2002;62(6):463-8.
234. Podrez EA, Abu-Soud HM, Hazen SL. Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 2000;28(12):1717-25.
235. Eiserich JP, Baldus S, Brennan ML, Ma W, Zhang C, Tousson A, et al. Myeloperoxidase, a leukocyte-derived vascular NO oxidase. *Science* 2002;296(5577):2391-4.
236. Himmelfarb J, McMenamin ME, Loseto G, Heinecke JW. Myeloperoxidase-catalyzed 3-chlorotyrosine formation in dialysis patients. *Free Radic Biol Med* 2001;31(10):1163-9.
237. Abu-Soud HM, Khassawneh MY, Sohn JT, Murray P, Haxhiu MA, Hazen SL. Peroxidases inhibit nitric oxide (NO) dependent bronchodilation: development of a model describing NO-peroxidase interactions. *Biochemistry* 2001;40(39):11866-75.
238. Zhang R, Brennan ML, Fu X, Aviles RJ, Pearce GL, Penn MS, et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *Jama* 2001;286(17):2136-42.
239. Pecoits-Filho R, Stenvinkel P, Marchlewska A, Heimbürger O, Barany P, Hoff CM, et al. A functional variant of the myeloperoxidase gene is associated with cardiovascular disease in end-stage renal disease patients. *Kidney Int Suppl* 2003(84):S172-6.
240. Cleland SJ, Sattar N, Petrie JR, Forouhi NG, Elliott HL, Connell JM. Endothelial dysfunction as a possible link between C-reactive protein levels and cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)* 2000;98(5):531-5.
241. Stenvinkel P. Endothelial dysfunction and inflammation-is there a link? *Nephrol Dial Transplant* 2001;16(10):1968-71.
242. Stenvinkel P, Lindholm B, Heimbürger M, Heimbürger O. Elevated serum levels of soluble adhesion molecules predict death in pre-dialysis patients: association with malnutrition, inflammation, and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15(10):1624-30.
243. Shimokawa H, Ito A, Fukumoto Y, Kadokami T, Nakaike R, Sakata M, et al. Chronic treatment with interleukin-1 beta induces coronary intimal

- lesions and vasospastic responses in pigs in vivo. The role of platelet-derived growth factor. *J Clin Invest* 1996;97(3):769-76.
244. Bhagat K, Vallance P. Inflammatory cytokines impair endothelium-dependent dilatation in human veins in vivo. *Circulation* 1997;96(9):3042-7.
 245. Bonomini M, Reale M, Santarelli P, Stuard S, Settefrati N, Albertazzi A. Serum levels of soluble adhesion molecules in chronic renal failure and dialysis patients. *Nephron* 1998;79(4):399-407.
 246. Rabb H, Agosti SJ, Bittle PA, Fernandez M, Ramirez G, Tedder TF. Alterations in soluble and leukocyte surface L-selectin (CD 62L) in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1995;6(5):1445-50.
 247. Pober JS, Cotran RS. Cytokines and endothelial cell biology. *Physiol Rev* 1990;70(2):427-51.
 248. Pankow JS, Folsom AR, Cushman M, Borecki IB, Hopkins PN, Eckfeldt JH, et al. Familial and genetic determinants of systemic markers of inflammation: the NHLBI family heart study. *Atherosclerosis* 2001;154(3):681-9.
 249. Lowrie EG, Lew NL. Death risk in hemodialysis patients: the predictive value of commonly measured variables and an evaluation of death rate differences between facilities. *Am J Kidney Dis* 1990;15(5):458-82.
 250. Iseki K, Yamazato M, Tozawa M, Takishita S. Hypocholesterolemia is a significant predictor of death in a cohort of chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002;61(5):1887-93.
 251. Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997;337(4):230-6.
 252. Wrone EM, Zehnder JL, Hornberger JM, McCann LM, Coplon NS, Fortmann SP. An MTHFR variant, homocysteine, and cardiovascular comorbidity in renal disease. *Kidney Int* 2001;60(3):1106-13.
 253. Lowrie EG, Li Z, Ofsthun N, Lazarus JM. Body size, dialysis dose and death risk relationships among hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002;62(5):1891-7.
 254. Coresh J, Longenecker JC, Miller ER, 3rd, Young HJ, Klag MJ. Epidemiology of cardiovascular risk factors in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1998;9(12 Suppl):S24-30.
 255. Kalantar-Zadeh K, Block G, Humphreys MH, Kopple JD. Reverse epidemiology of cardiovascular risk factors in maintenance dialysis patients. *Kidney Int* 2003;63(3):793-808.

256. Kalantar-Zadeh K, Kopple JD. Relative contributions of nutrition and inflammation to clinical outcome in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2001;38(6):1343-50.
257. Ruilope LM, Salvetti A, Jamerson K, Hansson L, Warnold I, Wedel H, et al. Renal function and intensive lowering of blood pressure in hypertensive participants of the hypertension optimal treatment (HOT) study. *J Am Soc Nephrol* 2001;12(2):218-25.

HIPÓTESE

Os níveis de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo se associam à mortalidade em pacientes em hemodiálise crônica.

OBJETIVOS

1. OBJETIVO PRIMÁRIO

Avaliar o impacto dos níveis de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo na mortalidade de pacientes em hemodiálise crônica.

2. OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

2.1 Estudar os marcadores de inflamação e estresse oxidativo numa população em hemodiálise crônica na Região Sul do Brasil.

2.2 Verificar as correlações entre marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo em pacientes em hemodiálise crônica.

ARTIGO EM PORTUGUÊS

Impacto prognóstico de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo em pacientes em hemodiálise crônica.

Maria A. Pachaly^{1 4}, Marcelo M. do Nascimento^{1 2 4}, Mohamed E. Suliman², Abdul Rashid Qureshi², Shirley Y. Hayashi², Miguel C. Riella³, Roberto C. Manfro⁴, Peter Stenvinkel², Bengt Lindholm².

¹ Faculdade Evangélica de Medicina, Paraná Brasil; ² Divisão de Medicina Renal e Baxter Novum, Departamento de Ciências Clínicas, Instituto Karolinska, Hospital Universitário de Huddinge, Estocolmo, Suécia; ³ Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) – Brasil, e ⁴ Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Nefrologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

Endereço para correspondência:

Bengt Lindholm, MD, PhD

Divisions of Renal Medicine and Baxter Novum,

Department of Clinical Science of Karolinska Institutet

Huddinge University Hospital

Stockholm, Sweden

Tel: +46(8) 5858-3981

Fax: +46(8) 689-7730

E-mail: bengt.lindholm@klinvet.ki.se

Resumo

Introdução: Os marcadores inflamatórios têm impacto prognóstico na evolução clínica de pacientes em hemodiálise crônica (HD), no entanto a possível influência dos marcadores de estresse oxidativo (EO) na sobrevida destes pacientes ainda não foi claramente estabelecida.

Métodos: Para estudar o impacto de níveis basais de marcadores inflamatórios (PCR de alta sensibilidade (PCR-as), interleucina-6 (IL-6) e albumina sérica (Alb-S)) e marcadores de EO (produtos avançados da oxidação protéica (PAOP), pentosidina, homocisteína (Hci)), na sobrevida de pacientes em HD, avaliamos prospectivamente 114 pacientes (45 % homens, 47 ± 13 anos, 11 % diabéticos, 50,4 meses em HD, ao longo de 24,9 meses. O estado nutricional foi verificado pela avaliação subjetiva global (ASG) e os pacientes foram alocados em tercils, de acordo com os níveis de marcadores inflamatórios e de EO. A mortalidade durante o seguimento foi analisada com as curvas de Kaplan Meier, utilizando a mortalidade por todas as causas como desfecho. Além disto, a análise de risco proporcional de Cox foi utilizada para identificar preditores independentes de mortalidade.

Resultados: A mortalidade global foi de 23% e a principal causa de óbito foi doença cardiovascular (44%), seguida por infecção (33%). Os níveis basais de Alb-S (mg/dL), PCR-as (mg/L), IL-6(pg/mL), PAOP ($\mu\text{mol/L}$), pentosidina (pmol/mg) e Hci ($\mu\text{mol/L}$) foram: $3,5 \pm 0,3$; $3,5(0,2-62,7)$; $4,2(0,9-19,6)$; $221(85-1023)$; $949(131-2330)$ e $23,2(7,7-57)$, respectivamente. Foram encontradas correlações significativas entre IL-6 e idade ($Rho=0,38$; $p<0,01$), IL-6 e PCR-as ($Rho=0,48$; $p<0,01$), IL-6 e Alb-S ($Rho=-0,25$; $p<0,01$), PCR-as e Alb-S ($Rho=-0,21$; $p<0,05$). Na análise de Kaplan-Meier, a taxa de sobrevida esteve significativamente reduzida nos pacientes que se encontravam no tercil mais elevado de IL-6 ($IL-6 > 7$ pg/mL) (qui-quadrado 12,63; $p<0,01$). Não houve correlações significativas entre os marcadores inflamatórios e de EO. Além disto, a análise de Cox demonstrou que somente o sexo masculino, hepatite C, PCR-as, Alb-S e IL-6 foram independentemente associados com a mortalidade.

Conclusão: Os marcadores inflamatórios, mas não os de EO, foram melhores preditores de mortalidade nesta população de pacientes em HD.

Palavras-chave: hemodiálise, inflamação, estresse oxidativo, interleucina-6, proteína C-reativa, sobrevida.

Título de cabeçalho: Impacto prognóstico de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo em pacientes em HD crônica.

Introdução

A doença cardiovascular permanece como a principal causa de mortalidade em pacientes com DRC (1). Estudos epidemiológicos em pacientes não renais têm demonstrado que até mesmo discretas elevações nos níveis de PCR são preditores do desenvolvimento de doença cardiovascular (DCV) (2, 3). Já está bem estabelecido que pacientes com DRC apresentam altas concentrações de PCR (4, 5) e de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-6 (6-8). Tem sido extensamente demonstrado que na população urêmica a PCR é um forte preditor de mortalidade por doença cardiovascular (9, 10). Além disto, o impacto de outros marcadores inflamatórios como a interleucina-6 (IL-6) na mortalidade desta população, tem sido relatado (6, 7).

Em pacientes urêmicos existe um aumento da carga oxidativa, evidenciada pelas altas concentrações de múltiplos marcadores biológicos de estresse oxidativo (EO) (11-13). Estes marcadores podem ativar os fagócitos, desencadeando então a lesão tecidual vascular e perpetuando um ciclo de inflamação e de EO. Estas condições poderiam contribuir para a alta prevalência de DCV na uremia (11-13). Além disto, os níveis de marcadores de EO tais como a beta-2 micro-globulina, produtos da glicação avançada (PGA), cisteína, homocisteína (Hci) e produtos da oxidação protéica avançada (PAOP), encontram-se elevados nestes pacientes, e todas estas substâncias são marcadoras de injúria oxidativa (14). Entretanto, não foi ainda elucidado o possível impacto destes marcadores de EO na sobrevida de pacientes em diálise.

Neste estudo, uma coorte de 114 pacientes em hemodiálise crônica foi acompanhada com o objetivo de avaliar o impacto prognóstico, na sobrevida dos pacientes, dos marcadores inflamatórios (PCR-as e IL-6) e de estresse oxidativo (PAOP, pentosidina e Hci).

Pacientes e Métodos

Um total de 350 pacientes em HD em três centros de diálise na cidade de Curitiba (Paraná – Brasil) foi inicialmente selecionado para o estudo. O principal critério para inclusão foi estar em tratamento com HD há pelo menos 6

meses. Pacientes com doença inflamatória crônica (por exemplo, doenças reumáticas), infecção ativa nas últimas 8 semanas, presença de hepatite B e histórico de abuso de álcool foram excluídos do estudo. Após as exclusões, Cento e quatorze pacientes (52 homens; média de idade de 47 ± 15 anos) constituíram a coorte em estudo. As causas de insuficiência renal foram as seguintes: glomerulonefrite crônica (n=52; 47%), nefrosclerose hipertensiva (n=34; 30%); nefropatia diabética (n=13; 11%), e outras causas (n=15; 13%). Todos os pacientes eram hemodialisados 3 vezes por semana com membranas de celulose modificada (acetato de celulose) e utilizavam medicamentos habitualmente prescritos em HD, tais como antihipertensivos, sacarato de ferro, eritropoietina, vitamina D e quelantes de fósforo. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Evangélico de Curitiba.

Métodos Laboratoriais

Amostras de sangue venoso dos pacientes em HD foram colhidas pela manhã, após jejum de 12 horas, antes de uma sessão de diálise de meio de semana. Após a coleta, o sangue total foi centrifugado a 3.000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo e armazenado à -80°C até a análise. A inflamação foi avaliada pela medida da PCR de alta sensibilidade (PCR-as, método nefelométrico) e IL-6 (medida por imunoenensaio enzimático, ELISA, Ortho, Raritan, NJ, EUA). Para avaliar o EO, foram dosados os produtos da oxidação protéica avançada (PAOP), pentosidina e Hci, conforme previamente descrito (15, 16). Uma vez que a pentosidina plasmática encontra-se presente principalmente sob a forma ligada à proteína e a pentosidina livre corresponde a apenas 3-4% da pentosidina circulante total, as concentrações de pentosidina em pmol/L foram então corrigidas pela albumina sérica e expressas em pmol por mg de albumina.

Avaliação nutricional

A ASG foi utilizada para avaliar o estado nutricional basal. A ASG inclui seis parâmetros subjetivos: três baseados no histórico de perda de peso, ocorrência de anorexia e vômitos, e três baseados na classificação feita por

nutricionista quanto ao estado de consumo muscular, presença de edema e perda de gordura subcutânea. Com base nestes critérios, cada paciente recebeu uma classificação que refletiu seu estado nutricional, como se segue: A= estado nutricional normal; B= desnutrição leve a moderada e C= desnutrição grave (17). A ASG basal foi realizada pela mesma nutricionista em todos os pacientes, no início do período de acompanhamento clínico.

Seguimento clínico

Após a investigação basal, os pacientes foram acompanhados prospectivamente pelos 24,9 meses subsequentes para determinar sua evolução clínica, e divididos em tercios de acordo com os níveis plasmáticos de: PCR-as, IL-6, pentosidina, PAOP e Hci. A sobrevida foi registrada do final do período pré-basal de coleção de amostras (Março de 2002 a Maio de 2004), até a ocorrência de morte ou censura por transplante renal (n=8).

Análise estatística

Os dados estão descritos como médias \pm DP e medianas e intervalos. Comparações entre dois grupos foram realizadas usando o teste t de Student para variáveis de distribuição normal, e o teste U de Mann-Whitney foi usado para variáveis de distribuição não normal. Comparações entre três grupos foram realizadas usando o teste ANOVA. As variáveis categóricas foram analisadas em tabelas de contingência. Para variáveis de distribuição não-normal, as correlações foram feitas com o teste de correlação de Spearman. O teste de Kaplan-Meier foi usado para a análise da sobrevida. A análise de risco proporcional de Cox foi usada para determinar preditores independentes de sobrevida. Valor de p_{α} menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados

Dados clínicos

Os dados clínicos e concentrações de PCR, IL-6, PAOP, pentosidina e Hci encontram-se resumidos na Tabela 1. Desnutrição (ASG classe B ou C) esteve presente em 62 (54%) pacientes dos 114 indivíduos investigados; 57 (50%) pacientes eram levemente desnutridos e 5 (4%) estavam gravemente desnutridos. A sorologia para vírus C foi positiva em 60 pacientes (52%). Os níveis basais (média \pm DP e mediana e intervalos) de Alb-S (mg/dl), PCR-as (mg/L), IL-6(pg/mL), PAOP (μ mol/L), pentosidina/alb (pmol/mg) e Hci (μ mol/L) foram: $3,5\pm 0,4$, $3,4(0,2-62,7)$, $4,2(0,9-19,6)$, $221(85-1023)$, $949(131-2330)$, $23,3(7,7-57)$, respectivamente. Correlações significativas foram encontradas entre IL-6 e idade (Rho=0,39; $p<0,001$), IL-6 e PCR-as (Rho=0,48; $p<0,001$), IL-6 e S-Alb (Rho=-0,26; $p<0,01$), PCR-as e Alb-S (Rho=-0,25; $p<0,01$). Por outro lado, não encontramos correlação significativa entre marcadores inflamatórios (PCR e IL-6) e marcadores de EO (PAOP, pentosidina e Hci). Como esperado, os pacientes desnutridos apresentavam níveis significativamente mais baixos de Alb-S (mg/L) ($36(28-45)$ vs. $35(23-44)$; $p<0,05$) comparados aos pacientes bem nutridos. Por outro lado, os pacientes desnutridos não diferiram significativamente dos bem nutridos com relação a uma variedade de marcadores de EO e de inflamação, incluindo os PAOP, pentosidina, Hci, PCR-as e IL-6 (Tabela 2).

Análise da Sobrevida

Durante o seguimento houve 26 óbitos. As causas de óbito foram DCV (52%), infecção (30%) ou outras causas (18%). A análise de Kaplan-Meier para a população total (Figura 1) demonstrou que a taxa de sobrevida foi significativamente diferente entre os grupos, de acordo com o tercil de IL-6 (A) (qui-quadrado=12,63, $p=0,001$). Por outro lado, a taxa de sobrevida não diferiu significativamente de acordo com os tercís de PCR (B) (qui-quadrado=0,66, $p=0,71$), pentosidina/albumina (C) (qui-quadrado=1,24, $p=0,53$), PAOP (D) (qui-quadrado=0,07, $p=0,96$) e Hci (E) (qui-quadrado=0,53, $p=0,76$). A mortalidade também foi mais elevada no grupo de pacientes com albumina inferior a 3,5

mg/L (E) (qui-quadrado=3,84, p=0,05). A análise de risco proporcional de Cox foi aplicada para a população global do estudo para ajustes para idade, sexo, tempo em diálise, ASG, hepatite C, diabetes, PCR, alb-S, PAOP, pentosidina e Hci. A análise de Cox (Tabela 3) demonstrou que apenas o sexo masculino, hepatite C, Alb-S, PCR e IL-6 foram independentemente associados com a mortalidade. Os dados clínicos e laboratoriais dos sobreviventes e dos não-sobreviventes encontram-se resumidos na Tabela 4. Comparados aos sobreviventes, os não sobreviventes apresentavam medianas mais elevadas de IL-6 (9,7[2,4-17,9] pg/ml vs. 3,7 [0,9- 19,6] pg/ml, p<0,0001), prevalência mais elevada de diabéticos (34% vs. 4,5%, p<0,001) e idade mais avançada (49,5(25-89) vs. 37(16-74) anos respectivamente, p<0,0001). Comparando os dois grupos não houve diferença significativa com relação ao sexo, desnutrição (avaliada pela ASG), PCR, Alb-S, pentosidina, PAOP e Hci.

Discussão

O principal achado do presente estudo foi uma maior mortalidade entre os pacientes em HD com níveis mais elevados do marcador inflamatório IL-6, comparados aos pacientes com níveis mais baixos desta interleucina. Em comparação com os demais marcadores inflamatórios e de EO (PCR, pentosidina, PAOPs e Hci), a IL-6 foi melhor preditora de mortalidade. Além disto, mais da metade dos pacientes apresentavam desnutrição (ASG B ou C), e houve correlação entre marcadores inflamatórios e estado nutricional, sugerindo que inflamação foi um forte determinante do estado nutricional nesta amostra (18-20). No presente estudo, 49% dos pacientes apresentavam níveis elevados de PCR (PCR > 3,5 mg/L), confirmando que a DRC está associada a um estado inflamatório. Mesmo em pacientes portadores de vírus C, nos quais a produção de IL-6 e PCR poderia estar reduzida, os níveis destes dois marcadores foram elevados, afastando um eventual fator de confusão (21).

De modo semelhante a outros trabalhos (22), encontramos elevação nos níveis de IL-6. Em pacientes em HD isto pode ocorrer em virtude de deficiência na eliminação renal de citocinas, aumento em sua produção (23), presença de infecção sub-clínica (24), DAC estabelecida (25), insuficiência cardíaca (26) e

obesidade (27). Conforme estudos prévios (28, 29), também encontramos uma correlação entre níveis elevados de IL-6 e menor sobrevida, reforçando a hipótese de que elevações na IL-6 são preditoras de mortalidade em pacientes em HD. Observamos correlação entre a IL-6 e as proteínas da fase aguda (PCR e albumina), o que poderia apontar para uma ligação causal entre a inflamação e o estado nutricional na DRC.

Apesar de já ter sido previamente demonstrado que na DRC tanto a PCR como a IL-6 são fortes preditoras de morte, a IL-6 deve ser considerada superior em termos prognósticos. Ela é sintetizada em uma etapa mais precoce na cascata inflamatória e apresenta menor variabilidade que a PCR, o que possibilita o reconhecimento de pacientes em risco mesmo com a análise de uma amostra isolada (6, 7, 30, 31). Outros autores já evidenciaram que mesmo quando comparada à PCR e à fetuína-A, a IL-6 demonstrou ser melhor preditora de mortalidade (32), sendo mais confiável em prever desfechos letais e possuir melhor poder discriminatório em relação à PCR (32). Apesar de seu custo mais elevado, a dosagem de IL-6 deve ser considerada, pois pode permitir a identificação antecipada de pacientes renais em risco (33, 34), possibilitando medidas preventivas ou terapêuticas para reduzir as elevadas morbidade e mortalidade presentes nestes grupos de pacientes.

A grande maioria dos pacientes com DRC tem níveis elevados de Hci (35), o que foi confirmado em neste grupo. No entanto a associação entre Hci e DCV na DRC não é muito clara. Há estudos que demonstram impacto negativo de níveis elevados de Hci (36), enquanto outros por sua vez evidenciam influência deletéria de níveis reduzidos de Hci, agravando a aterosclerose na DRC (37). No presente estudo não identificamos impacto dos níveis de Hci na sobrevida dos pacientes no período avaliado. Em nossos pacientes, observamos que os pacientes com SGA compatível com melhor estado nutricional apresentavam níveis mais elevados de Hci, e o impacto deste achado talvez possa ser explicado através da epidemiologia reversa.

A pentosidina é um produto da glicação avançada (PGA) que se acumula desde fases precoces da DRC (38) e pode contribuir para a progressão da aterosclerose através de vários mecanismos (13, 39-41). Suliman et al (38) demonstraram que, apesar da associação entre níveis elevados de pentosidina e a síndrome de desnutrição, inflamação e

aterosclerose, não há correlação entre os níveis deste PAG e mortalidade. Da mesma forma, em nosso estudo não observamos influência negativa dos níveis elevados de pentosidina na sobrevida dos pacientes.

O excesso de radicais livres na DRC também produz a oxidação de diferentes compostos protéicos, principalmente a albumina, e a oxidação protéica contribui com o risco cardiovascular (38). Os chamados PAOP (42) são marcadores do EO e de complicações cardiovasculares em pacientes urêmicos (15) e também fatores de risco independentes para aterosclerose (43). Um estudo recente demonstrou que pacientes que apresentavam níveis mais elevados de PAOP apresentaram maior número de complicações cardiovasculares (44). Em nosso estudo, verificamos não haver impacto dos níveis elevados destes marcadores na sobrevida dos pacientes. Como não foi medida a capacidade de defesa contra a lesão oxidativa neste grupo de pacientes portadores de DRC, é possível que mecanismos anti-oxidantes individuais tenham reduzido o impacto negativo do EO na sobrevida.

A indisponibilidade de uma avaliação cardiovascular completa no início do estudo não permitiu uma estratificação preliminar de risco de DCV. Por esta razão não houve possibilidade de determinar se os níveis de IL-6 refletem doenças pré-existentes ou se são reais preditores do desenvolvimento de doenças futuras. Entretanto, como o achado de que o valor prognóstico da IL-6 é similar em pacientes com e sem DAC manifesta, poderíamos indiretamente concluir que a IL-6 é uma ferramenta pré-clínica útil para a previsão de morte de causa cardiovascular, e sempre que possível, os níveis de IL-6 devem ser medidos repetidamente ao longo do curso da DRC (31).

Em resumo, neste grupo de pacientes em tratamento dialítico crônico com HD, apesar de a inflamação e a desnutrição serem freqüentes e terem impacto importante na sobrevida, não se correlacionaram uma com a outra, sugerindo que muitos de nossos pacientes apresentavam desnutrição não associada com inflamação (17). Os pacientes com níveis mais elevados de IL-6 apresentaram maior mortalidade, e não houve correlação entre a sobrevida e os níveis de marcadores de EO. Desta forma, concluímos que mesmo uma dosagem isolada do marcador inflamatório IL-6, apesar de seu maior custo, possui grande valor no rastreamento de pacientes em HD em risco aumentado para doença cardiovascular, em comparação com a PCR, que necessitaria de

dosagens periódicas e apresentando ainda o risco de interferência de fatores de confusão. Entretanto, são necessários estudos adicionais que focalizem a utilização da IL-6 e outros novos marcadores no rastreamento da inflamação e DCV nesta população.

Agradecimentos: Agradecemos à assistência técnica especializada da Enfermeira Ana Paula Modesta, e do Dr. Paulo Fraxino.

Referências Bibliográficas

1. 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.
2. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuffi AG, Pepys MB, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994;331(7):417-24.
3. Vasan RS, Sullivan LM, Roubenoff R, Dinarello CA, Harris T, Benjamin EJ, et al. Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2003;107(11):1486-91.
4. 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.
5. Wanner C, Zimmermann J, Schwedler S, Metzger T. Inflammation and cardiovascular risk in dialysis patients. *Kidney Int Suppl* 2002(80):99-102.
6. 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.
7. Pecoits-Filho R, Barany P, Lindholm B, Heimbürger O, Stenvinkel P. Interleukin-6 is an independent predictor of mortality in patients starting dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(9):1684-8.
8. Malaponte G, Bevelacqua V, Fatuzzo P, Rapisarda F, Emmanuele G, Travali S, et al. IL-1beta, TNF-alpha and IL-6 release from monocytes in haemodialysis patients in relation to dialytic age. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(11):1964-70.
9. Stenvinkel P. Malnutrition and chronic inflammation as risk factors for cardiovascular disease in chronic renal failure. *Blood Purif* 2001;19(2):143-51.
10. Kaysen GA. Role of inflammation and its treatment in ESRD patients. *Blood Purif* 2002;20(1):70-80.
11. 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.
12. 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.

13. Mezzano D, Pais EO, Aranda E, Panes O, Downey P, Ortiz M, et al. Inflammation, not hyperhomocysteinemia, is related to oxidative stress and hemostatic and endothelial dysfunction in uremia. *Kidney Int* 2001;60(5):1844-50.
14. Witko-Sarsat V, Gausson V, Nguyen AT, Touam M, Drueke T, Santangelo F, et al. AOPP-induced activation of human neutrophil and monocyte oxidative metabolism: a potential target for N-acetylcysteine treatment in dialysis patients. *Kidney Int* 2003;64(1):82-91.
15. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996;49(5):1304-13.
16. Suliman ME, Qureshi AR, Barany P, Stenvinkel P, Filho JC, Anderstam B, et al. Hyperhomocysteinemia, nutritional status, and cardiovascular disease in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000;57(4):1727-35.
17. Clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. K/DOQI, National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis* 2000;35(6 Suppl 2):S1-140.
18. Nascimento MM, Pecoits-Filho R, Lindholm B, Riella MC, Stenvinkel P. Inflammation, malnutrition and atherosclerosis in end-stage renal disease: a global perspective. *Blood Purif* 2002;20(5):454-8.
19. 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.
20. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergström 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. Nascimento MM, Bruchfeld A, Suliman ME, Hayashi SY, Pecoits-Filho R, Manfro RC, et al. Effect of hepatitis C serology on C-reactive protein in a cohort of Brazilian hemodialysis patients. *Braz J Med Biol Res* 2005;38(5):783-8.
22. 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.
23. Pereira BJ, Shapiro L, King AJ, Falagas ME, Strom JA, Dinarello CA. Plasma levels of IL-1 beta, TNF alpha and their specific inhibitors in undialyzed chronic renal failure, CAPD and hemodialysis patients. *Kidney Int* 1994;45(3):890-6.

24. Bemelmans MH, Gouma DJ, Buurman WA. Influence of nephrectomy on tumor necrosis factor clearance in a murine model. *J Immunol* 1993;150(5):2007-17.
25. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Espinola-Klein C, Rippin G, Hafner G, et al. Cytomegalovirus infection with interleukin-6 response predicts cardiac mortality in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001;103(24):2915-21.
26. Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G, Altamura S, Caligiuri G, Monaco C, et al. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation* 1996;94(5):874-7.
27. Bolger AP, Sharma R. Increase in anti-inflammatory cytokine levels in chronic heart failure: a measure of treatment success or failure? *Circulation* 2001;104(18):E97.
28. 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.
29. Kimmel PL, Phillips TM, Simmens SJ, Peterson RA, Weihs KL, Alleyne S, et al. Immunologic function and survival in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998;54(1):236-44.
30. 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.
31. Panichi V, Maggiore U, Taccola D, Migliori M, Rizza GM, Consani C, et al. Interleukin-6 is a stronger predictor of total and cardiovascular mortality than C-reactive protein in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(5):1154-60.
32. Honda H, Qureshi AR, Heimbürger O, Barany P, Wang K, Pecoits-Filho R, et al. Serum albumin, C-reactive protein, interleukin 6, and fetuin A as predictors of malnutrition, cardiovascular disease, and mortality in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis* 2006;47(1):139-48.
33. Stenvinkel P, Lindholm B. C-reactive protein in end-stage renal disease: are there reasons to measure it? *Blood Purif* 2005;23(1):72-8.
34. Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C. Inflammation Markers, Adhesion Molecules, and All-Cause and Cardiovascular Mortality in Patients with ESRD: Searching for the Best Risk Marker by Multivariate Modeling. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(3_suppl_1):S83-88.
35. Stenvinkel P, Diczfalusy U, Lindholm B, Heimbürger O. Phospholipid plasmalogen, a surrogate marker of oxidative stress, is associated with increased cardiovascular mortality in patients on renal replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(4):972-6.

36. van Guldener C, Janssen MJ, Lambert J, ter Wee PM, Donker AJ, Stehouwer CD. Folic acid treatment of hyperhomocysteinemia in peritoneal dialysis patients: no change in endothelial function after long-term therapy. *Perit Dial Int* 1998;18(3):282-9.
37. Mallamaci F, Tripepi G, Cutrupi S, Malatino LS, Zoccali C. Prognostic value of combined use of biomarkers of inflammation, endothelial dysfunction, and myocardial pathology in patients with ESRD. *Kidney Int* 2005;67(6):2330-7.
38. Suliman ME, Heimbürger O, Barany P, Anderstam B, Pecoits-Filho R, Rodríguez Ayala E, et al. Plasma pentosidine is associated with inflammation and malnutrition in end-stage renal disease patients starting on dialysis therapy. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(6):1614-22.
39. Peppas M, Uribarri J, Cai W, Lu M, Vlassara H. Glycoxidation and inflammation in renal failure patients. *Am J Kidney Dis* 2004;43(4):690-5.
40. Uribarri J, Peppas M, Cai W, Goldberg T, Lu M, He C, et al. Restriction of dietary glycotoxins reduces excessive advanced glycation end products in renal failure patients. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(3):728-31.
41. Uribarri J, Peppas M, Cai W, Goldberg T, Lu M, Baliga S, et al. Dietary glycotoxins correlate with circulating advanced glycation end product levels in renal failure patients. *Am J Kidney Dis* 2003;42(3):532-8.
42. Himmelfarb J, McMonagle E. Albumin is the major plasma protein target of oxidant stress in uremia. *Kidney Int* 2001;60(1):358-63.
43. Drueke T, Witko-Sarsat V, Massy Z, Descamps-Latscha B, Guerin AP, Marchais SJ, et al. Iron therapy, advanced oxidation protein products, and carotid artery intima-media thickness in end-stage renal disease. *Circulation* 2002;106(17):2212-7.
44. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Gausson V, Mothu N, et al. Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005;45(1):39-47.

Tabela 1: Características clínicas e bioquímicas em 114 pacientes em HD crônica.

Idade (anos)^a	47 ± 14
Sexo masculino (%)	45
Diabetes mellitus (%)	11
Tempo em HD (meses)^b	50,4 (8,87-185,7)
Desnutrição (ASG B e C) (%)	55
Alb-S (g/dL)^b	3,54 (2,30-4,5)
PCR-as (mg/L)^b	3,45 (0,2-62,7)
IL-6 (pg/mL)^b	4,25 (0,91-19,6)
PAOP (μmol/mL)^b	221,7 (85,5-1023,2)
Hci (μmol/L)^b	23,28(7,7-57)
Pentosidina/Alb (μmol/mg)^b	949 (131-2330)

^a Valores expressos como média ± DP; ^b Valores expressos como mediana e limites.

Tabela 2: Características clínicas e bioquímicas de acordo com a ASG.

	Bem nutridos (n=50)	Desnutridos (n=62)	Valor p
Idade (anos)^a	45±15	49±13	NS
Sexo masculino (%)	52	40	NS
Tempo em HD (meses)	55,4(13,2-138,7)	49,7(8,8-185,6)	NS
Alb-S (g/dL)	3,6(2,8-4,5)	3,5(2,3-4,4)	<0,05
PCR-as (mg/L)^b	2,7(0,2 -62,7)	4,65(0,2-27,4)	NS
IL-6 (pg/mL)^b	4,0 (0,9-19)	4,9 (0,98-19)	NS
Pentosidina/alb (pmol/mg)^b	1042 (131-2303)	1001(257-2330)	NS
PAOP (μmol/L)	267(103-941)	258(85,5-1023)	NS
Homocisteína (μmol/L)	27,06(8,4-55,6)	25,13(7,7-57)	NS

^a Valores expressos como mediana ± DP; ^b Valores expressos como mediana e limites.

Tabela 3: Análise multivariada de risco proporcional de Cox de fatores preditores de mortalidade.

Parâmetro	Taxas de risco ajustadas (95% IC)	Valor p
Sexo (M vs. F)	1,89 (1,17-3,18)	0,009
HCV	2,38 (1,37-4,34)	0,0018
Alb-S < 3,5 g/dL ^a	1,95 (1,21-3,30)	0,005
PCR > 3,5 mg/L ^a	2,74 (1,53-5,18)	0,0005
IL-6 (pg/mL)	1,77 (0,84-3,92)	0,0001

^a Alb-S, PCR e IL-6 foram dosadas na fase basal.

Tabela 4: Dados clínicos e laboratoriais basais em sobreviventes e não sobreviventes.

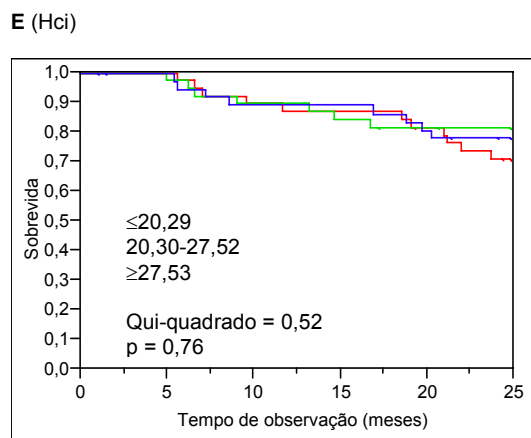
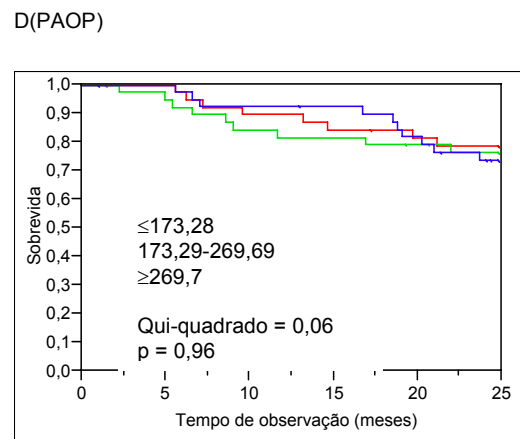
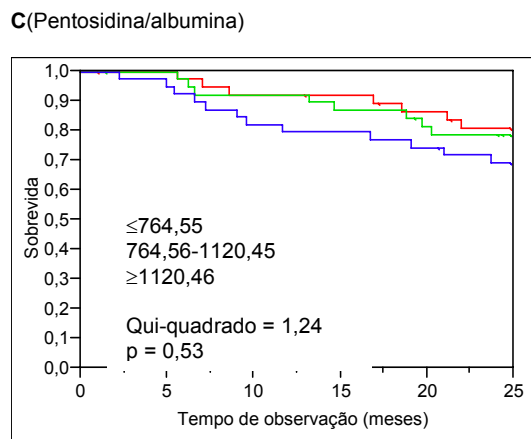
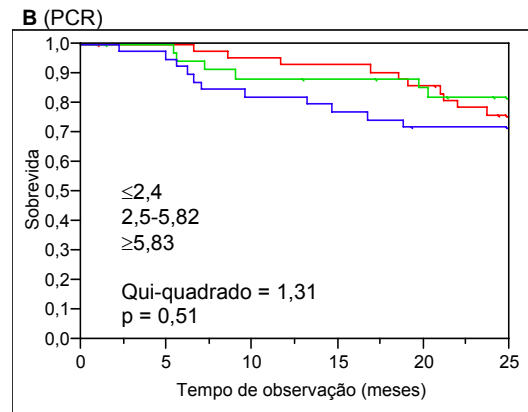
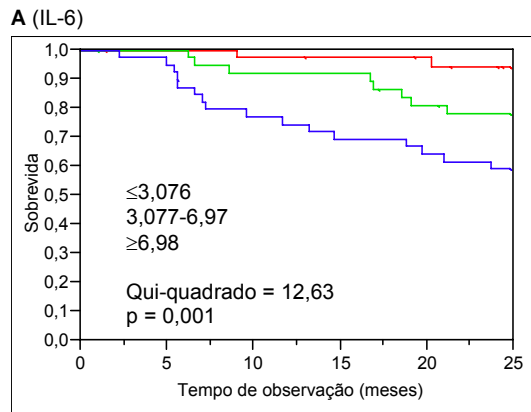
Parâmetro	Não sobreviventes (n=26)	Sobreviventes (n=88)	Valor p
Idade (anos)^a	56(25-89)	44(16-74)	<0,0001
Sexo masculino (%)	50	44	NS
Tempo em HD (meses)^a	37,6(8,87-185,7)	55,4(11,5-151,6)	NS
Desnutrição (%) (ASG)	69	51	NS
Diabetes (%)	34	4,5	<0,001
PCR-as (mg/L)^a	3,4(1,1-16,5)	3,45(0,2-62,7)	NS
IL-6 (pg/mL)^a	9,7(2,5-17,9)	3,67(0,9-19,6)	<0,0001
Alb-S (g/dL)^a	3,5(2,3-4,2)	3,6(2,8-4,5)	NS
PAOP (μmol/L)^a	231,0(105,6-834,5)	217,3(85,5-1023)	NS
Pentosidina/alb (pmol/mg)^a	1012(630-2330)	949(131-2303)	NS
Homocisteína (μmol/L)^a	23,1(7,7-50,1)	23,3(10,6-57,1)	NS

^a Valores expressos como mediana e limites.

Legendas para as figuras:

Figura 1: Curvas de sobrevivência de acordo com os níveis (tercís) de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo (**A:**IL-6; **B:** PCR; **C:** Pent; **D:**PAOP; **E:** Hci).

Figura 1: Curvas de sobrevida de acordo com os níveis (tercis) de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo (A:IL-6; B: PCR; C: Pent; D:PAOP; E: Hci).



ARTIGO EM INGLÊS

The prognostic impact of inflammatory and oxidative stress markers in chronic hemodialysis patients.

Maria A. Pachaly^{1 4}, Marcelo M. do Nascimento^{1 2 4}, Mohamed E. Suliman², Shirley Y. Hayashi², Miguel C. Riella³, Roberto C. Manfro⁴, Peter Stenvinkel², Bengt Lindholm².

¹ Evangelic Medical School , Paraná Brazil; ² Divisions of Renal Medicine and Baxter Novum, Department of Clinical Science, Karolinska Institutet, Huddinge University Hospital, Stockholm, Sweden and ³ Center for Health and Biological Sciences, Paraná Catholic University (PUCPR) – Brazil, and ⁴ Medical Sciences Post Graduation Program, Nephrology, Rio Grande do Sul Federal University, Brazil.

Address for correspondence:

Bengt Lindholm, MD, PhD

Divisions of Renal Medicine and Baxter Novum,

Department of Clinical Science of Karolinska Institutet

Huddinge University Hospital

Stockholm, Sweden

Tel: +46(8) 5858-3981

Fax: +46(8) 689-7730

E-mail: bengt.lindholm@klinvet.ki.se

Abstract

Background: Inflammatory markers have an impact on the clinical outcome in hemodialysis (HD) patients whereas a possible influence of oxidative stress (OS) markers on survival has not been established in these patients.

Methods: To assess the impact on outcome of baseline inflammatory (high sensitivity C-reactive protein (hsCRP) and IL-6) and OS markers (AOPP (advanced oxidation protein products), pentosidine, homocysteine (Hcy)), we prospectively evaluated 114 HD patients (45 % males, 47 ± 13 years-old, 11 % diabetics, 50,4 months on HD) during 24.9 months. The nutritional status was evaluated by subjective global assessment and the patients were allocated into tertiles, according to their levels of inflammatory and OS markers, and in two groups, according to S-alb levels. Mortality during the follow up was analyzed by Kaplan Meier curves using all-cause death as an end-point. Furthermore, Cox proportional hazard analysis was used to identify independent predictors of mortality.

Results: The overall mortality was 23% and the main causes of death were cardiovascular disease (44%) followed by infection (33%). At baseline, S-Alb (mg/dl), hsCRP(mg/L), IL-6(pg/ml), AOPP(μ mol/l), pentosidine (pmol/mg) and Hcy (μ mol/l) levels were: 3.5 ± 0.3 , $3.5(0.2-62.7)$, $4.2(0.9-19.6)$, $221(85-1023)$, $949(131-2330)$, $23.2(7.7-57)$, respectively. Significant correlations were found between IL-6 and age ($Rho=0.38;p<0.01$), IL-6 and hsCRP ($Rho=0.48;p<0.01$), IL-6 and S-Alb($Rho=-0.26;p<0.01$), hsCRP and S-Alb($Rho=-0.22;p<0.05$). In a Kaplan Meier analysis, the survival rate was only significantly reduced in patients in the highest tertile of IL-6 (IL-6 >7 pg/ml) (chi-square 12.63; $p<0.01$). There were no significant correlations between inflammatory and OS markers. Moreover, in Cox analysis only age, hsCRP, S-Alb and IL-6 were independently associated with mortality.

Conclusion: Inflammatory markers, but not oxidative stress markers, were better predictors of mortality in this cohort of HD patients

Key Words: hemodialysis, inflammation, oxidative stress, Interleukin-6.

Heading title: Prognostic impact of inflammatory and oxidative stress markers in chronic HD patients.

Introduction

Cardiovascular disease remains as the main cause of mortality in patients with chronic kidney diseases (CKD) (1). Epidemiologic studies in non-renal population have shown that even minor elevations in C-reactive protein (CRP), predict the development of cardiovascular disease (CVD) (2, 3). It is well known that CKD patients present high concentrations of inflammatory and pro-inflammatory markers such as CRP (4, 5) and IL-6 (6, 7). In uremic population it has been extensively demonstrated that CRP is a strong predictor of cardiovascular mortality (8, 9). Furthermore, the role of other inflammatory markers, as interleukin-6 (IL-6) in predicting mortality in this population has been reported (6, 10).

There is an increased oxidative burden in uremic patients, as evidenced by higher concentrations of multiple biomarkers of oxidative stress (OS) (11-13). The activated phagocytes might induce oxidative stress and inflammation, both conditions which could contribute to the high prevalence of CVD in uremia (11-13). Moreover, in these patients, markers of oxidative stress such as beta-2-microglobulin, advanced glycosylation end products (AGE), cysteine and homocysteine (Hcy) and advanced oxidation protein products (AOPP), which are substrates for oxidative injury (14), are increased. However, a possible impact of these OS markers on survival in dialysis patients has been less investigated.

In this study a cohort of 114 patients was followed-up to analyze the prognostic impact on patient survival of inflammatory markers (high-sensitivity-C-reactive protein (hs-CRP), interleukin-6 (IL-6) and serum albumin (S-alb) and OS markers (AOPP, pentosidine and homocysteine).

Patients and Methods

A total of 350 HD patients in three dialysis centers in the city of Curitiba (Paraná-Brazil) were initially enrolled in the study. The main inclusion criterion was HD treatment for at least 6 months. Patients with chronic inflammatory disease (i.e., rheumatic diseases) and active infection as well as the presence of hepatitis B, and a medical history of alcohol abuse were excluded from the study. A hundred fourteen patients (52 males; mean of age of 47 ± 14 years)

remained eligible to participate and were followed. The causes of renal failure included the following: chronic glomerulonephritis (n=52; 47%), hypertensive nephrosclerosis (n=34; 30%); diabetic nephropathy (n=13; 11%), and other causes (n=15; 13%). All patients were hemodialysed 3 times weekly with modified cellulosic membranes (cellulose acetate or derivatized cellulose). The patients had been taking drugs usually prescribed in HD such as, antihypertensives, iron saccharate, erythropoietin, D vitamin and phosphate binders. The Ethics Committee of Hospital Evangélico de Curitiba approved the study protocol.

Laboratory Methods

Venous blood samples were collected from the HD patients in the morning after an overnight fast on a mid-week day before the dialysis session. After sampling, whole blood was centrifuged at 3000 G during 10 minutes. The supernatant was transferred to a new tube and stored at -80°C until analysis. Inflammation was assessed by the measurement of high-sensitivity CRP (hsCRP) in the plasma by the nephelometry method and plasma IL-6 was measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA, Ortho, Raritan, NJ, USA). In order to evaluate OS markers, advanced oxidative protein products (AOPP), pentosidine and Hcy were measured as previously described (15, 16). Since plasma pentosidine is mainly present as protein bound and albumin is the only protein linking pentosidine and free pentosidine represents 3-4 % of total circulating pentosidine, the plasma pentosidine concentrations in pmol per liter were, therefore corrected for serum albumin and expressed as pmol per mg of albumin.

Nutritional evaluation

The subjective global assessment (SGA) was used to evaluate the nutritional status at baseline. SGA included six subjective assessments; three assessments were based on the patient's history of weight loss, incidence of anorexia and incidence of vomiting, and three based on the dietitian's grading of

muscle wasting, presence of edema and loss of subcutaneous fat. On the basis of these assessments, each patient was given a ranking that reflected the nutritional status as follows: A= normal nutritional status, B= mild to moderate malnutrition and C= severe malnutrition (17). The baseline SGA was carried out at the beginning of the follow-up period and was performed by the same experienced dietitian.

Follow-up

After baseline investigation, the patients were followed prospectively for the subsequent 24.9 months to determine their clinical outcome and divided by tertiles according to the serum levels of: CRP, IL-6, pentosidine, AOPP and Hcy, and in two groups according to S-alb levels. Survival was recorded from the end of the pre-baseline period of sample collection (from March 2002 to May 2004), until death or censoring for transplantation (n=8).

Statistical analysis

Data are presented as mean \pm SD. A comparison between two groups was performed using the Student t test for normally distributed variables whereas the Mann-Whitney's U-test was used for not-normally distributed variables. Comparisons between three groups were performed using the ANOVA test. The analysis of categorical variables was made by the analysis of contingency tables. For non-normally distributed variables, correlations were performed with the Spearman rank test. The Kaplan Meier test was used for analysis of survival. Cox proportional hazard analysis was used to assess independent predictors of survival. A p_{α} value less than 0.05 was considered significant.

Results

Clinical data

The clinical data and serum concentrations of S-alb, CRP, IL-6, AOPP, pentosidine, and Hcy for the 114 patients are summarized in Table 1.

Malnutrition (SGA, ranking B to C) was present in 62 (54%) of the 114 patients investigated; 57 (50%) patients were mildly malnourished, and 5 (4%) patients were severely malnourished. Sixty patients (52%) had a positive hepatitis C virus serology (HCV). At baseline the mean and median levels of S-Alb (mg/dL), hsCRP(mg/L), IL-6(pg/mL), AOPP(μ mol/L), pentosidine (pmol/mg) and Hcy (μ mol/L) levels were: 3.5 ± 0.4 , 3.4(0.2-62.7), 4.2(0.9-19.6), 221(85-1023), 949(131-2330), 23.3(7.7-57), respectively. Significant correlations were found between IL-6 and age ($Rho=0.39;p<0.001$), IL-6 and hsCRP ($Rho=0.48;p<0.001$), IL-6 and S-Alb($Rho=-0.26;p<0.01$), hsCRP and S-Alb($Rho=-0.25;p<0.01$). On the other hand, no significant correlation was found between inflammatory (CRP and IL-6) and oxidative stress markers (AOPP, pentosidine and Hcy). Malnourished patients had significantly lower median levels of S-Alb (mg/L) (3.5(2.3-4.4) vs. 3.6(2.8-4.54); $p<0.05$) compared to well-nourished patients. Otherwise the malnourished patients did not differ significantly from the well-nourished patients with regard to a variety of OS and inflammatory markers including AOPP, pentosidine, Hcy, CRP and IL-6. (Table 2).

Survival analysis

During the follow-up 26 patients died. The causes of death were CVD (52%), infection (30%) or other causes (18%). According to the Kaplan Meier analysis for the overall population (Figure 1), the survival rate was significantly different among the groups according to the tertile of IL-6 (A)(chi-square=12.63, $p=0.001$). On the other hand, the survival rate did not significantly differ according to the tertiles of CRP (B)(chi-square=0.66, $p=0.71$), pentosidine/alb (C)(chi-square=1.24, $p=0.53$), AOPP (D)(chi-square=0.07, $p=0.96$) and Hcy (E)(chi-square = 0.53, $p= 0.76$). Mortality rate was higher in patients with lower levels of S-Alb (F)(chi-square=3.84, $p=0.05$). The Cox proportional hazard model was applied to the overall study population to adjust event free times for age, gender, malnutrition, hepatitis C, diabetes, CRP, IL-6, S-Alb, AOPP, pentosidine, Hcy. The Cox analysis (Table 3) showed that only male gender, HCV, S-Alb, CRP and IL-6 were independently associated with mortality. The clinical data on survivors and non-survivors are shown in Table 4. Compared

with survivors, non-survivors had a higher median level of IL-6 (9.7[2.5-17.9] pg/ml vs. 3.67 [0.9-19.6] pg/ml, $p < 0.0001$), higher prevalence of diabetics (34% vs. 4.5%, $p < 0.001$) and were older (56(25-89) vs. 44(16-74), $p < 0.0001$) respectively. Comparing the two groups no significant difference was found regarding to gender, malnutrition (assessed by SGA), CRP, S-Alb, pentosidine, AOPP and homocysteine.

Discussion

The main finding in our study was a higher mortality rate among patients in the highest tertile of the inflammatory marker IL-6, compared to patients with lower levels of IL-6. When compared to the other inflammatory and OS markers (CRP, pentosidine, AOPP and homocysteine), IL-6 was a better predictor of mortality. Furthermore, more than half of the patients were malnourished (SGA B or C), and contrasting to other authors (18, 19), there was a weak correlation between inflammatory markers (except S-alb) and nutritional state, suggesting that inflammation was not a strong determinant of nutrition in this group of patients (type 1 malnutrition) (20). In this study, 49% of the patients had elevated CRP levels (CRP > 3.5 mg/L), confirming that CRD is associated with an inflammatory state. Even in HCV positive patients, in which IL-6 and CRP synthesis is reduced, these markers were elevated, ruling out an eventual confounding factor (21).

Similarly to other studies (22), we found high IL-6 levels. In HD patients this can be due to reduced renal excretion of cytokines, increment in its synthesis (23), presence of sub-clinical infection (24), overt coronary artery disease (25), heart failure (26) and obesity (27). We also found correlation between high IL-6 levels and worse outcome, supporting the hypothesis that IL-6 elevations are predictive of death in HD patients (28, 29). We also observed correlation between IL-6 and acute-phase proteins (CRP and S-Alb), pointing to a causal relation between inflammation and nutritional state in CRF.

Despite it has been previously demonstrated that CRP and IL-6 are strong predictors of death in CRD, IL-6 could be considered a better predictor of prognosis. It is synthesized early in the inflammatory cascade and is less variable than CRP, making it possible to identify patients at risk even with one

isolated sample (6, 10, 30, 31). Other studies have already demonstrated that IL-6 is a better predictor of death (32) and with a better discriminatory power than CRP and fetuin-A (32). In spite of its higher cost, dosage of IL-6 levels should be considered, because it allows early identification of CRD patients at risk (33, 34), facilitating preventive and therapeutic measures to reduce the high morbidity and thus mortality rates in this group of patients.

The finding that the great majority of CRD patients have elevated levels of homocysteine (Hcy) (35) was confirmed in our study. However, the association between Hcy levels and CVD in CRD patients is not very clear. There is evidence showing a negative impact of high Hcy levels, (36), while others demonstrated a deleterious influence of low Hcy levels on the evolution of CVD and atherosclerosis in CRF (37). In the present study we did not find any impact of Hcy levels on survival during the evaluation period. In our group of patients, those with better SGA had higher levels of Hcy. Maybe this finding can be better explained by reverse epidemiology.

Pentosidine is an advanced glycoxidation end-product (AGE) that accumulates since early CRF (38) and contributes to atherosclerosis progression through many mechanisms (13, 39-41). High pentosidine levels are associated with MIA syndrome (malnutrition, inflammation, atherosclerosis), as demonstrated by Suliman et al (38). In that study, mortality was not linked to plasma pentosidine content. Similarly, in our group of patients we did not observe influence of pentosidine levels on survival.

Excess of free radicals in CRD also induces the oxidation of different protein products, particularly albumin, and protein oxidation contributes to cardiovascular risk (38). The advanced oxidation protein products (AOPP) (42) are considered markers of oxidative stress and cardiovascular complications in uremic patients (15) and also independent risk factors for atherosclerosis (43). A recent study has demonstrated that patients with the highest AOPP levels have more cardiovascular complications (44). In our study we found no impact of high levels of these markers on survival. The anti-oxidant defense capacity has not been measured in our group of patients, so it is possible that individual anti-oxidant mechanisms could have reduced the impact of OS.

The lack of a complete cardiovascular evaluation in the beginning of the study did not permit a previous CVD risk stratification. Thus, it was not possible

to determine if IL-6 levels reflect pre-existent diseases or if they are real predictors of future complications. However, the finding that the prognostic value of IL-6 is similar in patients with and without overt coronary artery disease, we could indirectly conclude that IL-6 is a useful pre-clinical tool to predict cardiovascular mortality, and whenever possible it should be repeatedly measured during CRD evolution (31).

In summary, in this group of CRF patients treated with chronic HD, even though inflammation and malnutrition were frequent and showed considerable impact on survival, they were not related to each other, suggesting that in many of our patients inflammation was not the cause of malnutrition (17). Patients with higher IL-6 levels had higher mortality rates, and there was no correlation between survival and oxidative stress markers levels. Thus, we conclude that despite its higher cost, even an isolated IL-6 level determination has a great importance in identifying high CVD risk HD patients when compared to CRP that needs many periodic determinations and has the risk of a confounding bias. More studies focusing on IL-6 and new inflammation markers for the identification of high CVD risk patients are needed in this group of patients.

Acknowledgements: We acknowledge the skilled technical assistance of Ana Paula Modesto, RN, and Paulo H. Fraxino, MD.

References

1. 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.
2. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuffi AG, Pepys MB, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994;331(7):417-24.
3. Vasan RS, Sullivan LM, Roubenoff R, Dinarello CA, Harris T, Benjamin EJ, et al. Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2003;107(11):1486-91.
4. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre 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.
5. Wanner C, Zimmermann J, Schwedler S, Metzger T. Inflammation and cardiovascular risk in dialysis patients. *Kidney Int Suppl* 2002(80):99-102.
6. 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.
7. Malaponte G, Bevelacqua V, Fatuzzo P, Rapisarda F, Emmanuele G, Travali S, et al. IL-1beta, TNF-alpha and IL-6 release from monocytes in haemodialysis patients in relation to dialytic age. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(11):1964-70.
8. Stenvinkel P. Malnutrition and chronic inflammation as risk factors for cardiovascular disease in chronic renal failure. *Blood Purif* 2001;19(2):143-51.
9. Kaysen GA. Role of inflammation and its treatment in ESRD patients. *Blood Purif* 2002;20(1):70-80.
10. Pecoits-Filho R, Barany P, Lindholm B, Heimbürger O, Stenvinkel P. Interleukin-6 is an independent predictor of mortality in patients starting dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(9):1684-8.
11. 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.
12. 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.

13. Mezzano D, Pais EO, Aranda E, Panes O, Downey P, Ortiz M, et al. Inflammation, not hyperhomocysteinemia, is related to oxidative stress and hemostatic and endothelial dysfunction in uremia. *Kidney Int* 2001;60(5):1844-50.
14. Witko-Sarsat V, Gausson V, Nguyen AT, Touam M, Drueke T, Santangelo F, et al. AOPP-induced activation of human neutrophil and monocyte oxidative metabolism: a potential target for N-acetylcysteine treatment in dialysis patients. *Kidney Int* 2003;64(1):82-91.
15. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996;49(5):1304-13.
16. Suliman ME, Qureshi AR, Barany P, Stenvinkel P, Filho JC, Anderstam B, et al. Hyperhomocysteinemia, nutritional status, and cardiovascular disease in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000;57(4):1727-35.
17. Clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. K/DOQI, National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis* 2000;35(6 Suppl 2):S1-140.
18. Nascimento MM, Pecoits-Filho R, Lindholm B, Riella MC, Stenvinkel P. Inflammation, malnutrition and atherosclerosis in end-stage renal disease: a global perspective. *Blood Purif* 2002;20(5):454-8.
19. 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.
20. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergström 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. Nascimento MM, Bruchfeld A, Suliman ME, Hayashi SY, Pecoits-Filho R, Manfro RC, et al. Effect of hepatitis C serology on C-reactive protein in a cohort of Brazilian hemodialysis patients. *Braz J Med Biol Res* 2005;38(5):783-8.
22. 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.
23. Pereira BJ, Shapiro L, King AJ, Falagas ME, Strom JA, Dinarello CA. Plasma levels of IL-1 beta, TNF alpha and their specific inhibitors in undialyzed chronic renal failure, CAPD and hemodialysis patients. *Kidney Int* 1994;45(3):890-6.

24. Bemelmans MH, Gouma DJ, Buurman WA. Influence of nephrectomy on tumor necrosis factor clearance in a murine model. *J Immunol* 1993;150(5):2007-17.
25. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Espinola-Klein C, Rippin G, Hafner G, et al. Cytomegalovirus infection with interleukin-6 response predicts cardiac mortality in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001;103(24):2915-21.
26. Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G, Altamura S, Caligiuri G, Monaco C, et al. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation* 1996;94(5):874-7.
27. Bolger AP, Sharma R. Increase in anti-inflammatory cytokine levels in chronic heart failure: a measure of treatment success or failure? *Circulation* 2001;104(18):E97.
28. 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.
29. Kimmel PL, Phillips TM, Simmens SJ, Peterson RA, Weihs KL, Alleyne S, et al. Immunologic function and survival in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998;54(1):236-44.
30. 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.
31. Panichi V, Maggiore U, Taccola D, Migliori M, Rizza GM, Consani C, et al. Interleukin-6 is a stronger predictor of total and cardiovascular mortality than C-reactive protein in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(5):1154-60.
32. Honda H, Qureshi AR, Heimbürger O, Barany P, Wang K, Pecoits-Filho R, et al. Serum albumin, C-reactive protein, interleukin 6, and fetuin A as predictors of malnutrition, cardiovascular disease, and mortality in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis* 2006;47(1):139-48.
33. Stenvinkel P, Lindholm B. C-reactive protein in end-stage renal disease: are there reasons to measure it? *Blood Purif* 2005;23(1):72-8.
34. Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C. Inflammation Markers, Adhesion Molecules, and All-Cause and Cardiovascular Mortality in Patients with ESRD: Searching for the Best Risk Marker by Multivariate Modeling. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(3_suppl_1):S83-88.
35. Stenvinkel P, Diczfalusy U, Lindholm B, Heimbürger O. Phospholipid plasmalogen, a surrogate marker of oxidative stress, is associated with increased cardiovascular mortality in patients on renal replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(4):972-6.

36. van Guldener C, Janssen MJ, Lambert J, ter Wee PM, Donker AJ, Stehouwer CD. Folic acid treatment of hyperhomocysteinemia in peritoneal dialysis patients: no change in endothelial function after long-term therapy. *Perit Dial Int* 1998;18(3):282-9.
37. Mallamaci F, Tripepi G, Cutrupi S, Malatino LS, Zoccali C. Prognostic value of combined use of biomarkers of inflammation, endothelial dysfunction, and myocardial pathology in patients with ESRD. *Kidney Int* 2005;67(6):2330-7.
38. Suliman ME, Heimbürger O, Barany P, Anderstam B, Pecoits-Filho R, Rodríguez Ayala E, et al. Plasma pentosidine is associated with inflammation and malnutrition in end-stage renal disease patients starting on dialysis therapy. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(6):1614-22.
39. Peppas M, Uribarri J, Cai W, Lu M, Vlassara H. Glycoxidation and inflammation in renal failure patients. *Am J Kidney Dis* 2004;43(4):690-5.
40. Uribarri J, Peppas M, Cai W, Goldberg T, Lu M, He C, et al. Restriction of dietary glycotoxins reduces excessive advanced glycation end products in renal failure patients. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(3):728-31.
41. Uribarri J, Peppas M, Cai W, Goldberg T, Lu M, Baliga S, et al. Dietary glycotoxins correlate with circulating advanced glycation end product levels in renal failure patients. *Am J Kidney Dis* 2003;42(3):532-8.
42. Himmelfarb J, McMonagle E. Albumin is the major plasma protein target of oxidant stress in uremia. *Kidney Int* 2001;60(1):358-63.
43. Drueke T, Witko-Sarsat V, Massy Z, Descamps-Latscha B, Guerin AP, Marchais SJ, et al. Iron therapy, advanced oxidation protein products, and carotid artery intima-media thickness in end-stage renal disease. *Circulation* 2002;106(17):2212-7.
44. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Gausson V, Mothu N, et al. Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005;45(1):39-47.

Table 1: Clinical and biochemical characteristics of 114 chronic HD patients.

Age (years)^a	47 ± 14
Male gender (%)	45
Diabetes mellitus (%)	11
Time in HD (months)^b	50.4 (8.87-185.7)
Malnutrition (SGA B or C) (%)	55
S-Alb (g/dL)^b	3.54 (2.30-4.5)
Hs-CRP (mg/L)^b	3.45 (0.2-62.7)
IL-6 (pg/mL)^b	4.25 (0.91-19.6)
AOPP (μmol/mL)^b	221.7 (85.5-1023.2)
Hcy (μmol/L)^b	23.28(7.7-57)
Pentosidine/Alb (μmol/L)^b	949 (131-2330)

^a Values are expressed as mean ± SD; ^b Values expressed as median and range.

Table 2: Clinical and dialysis characteristics according to SGA.

	<i>Well-Nourished</i>	<i>Malnourished</i>	<i>p value</i>
	<i>(n=52)</i>	<i>(n=62)</i>	
Age (years)^a	45±14	49±13	NS
Male gender (%)	52	40	NS
Time on HD (months)	55.4(13.2-138.7)	49.7(8.8-185.6)	NS
S-Alb (mg/L)	3.6(2.8-4.5)	3.5(2.3-4.4)	<0.05
hsCRP (mg/L)^b	2.7 (0.2 -62.7)	4.65 (0.2-27.4)	NS
IL-6 (pg/mL)^b	4 (0.9-19)	4.9 (1.2-19)	NS
Plasma pentosidine (pmol/mg)^b	1042 (131-2303)	1001(257-2330)	NS
AOPP (μmol/L)	267(103-941)	258(85.5-1023)	NS
Homocysteine (μmol/L)	27.06(8.4-55.6)	25.13(7.7-57)	NS

^a Values are expressed as means ± SD : ^b Values are expressed as median and range.

Table 3: Cox proportional hazards multivariate analysis of factors predicting mortality.

Parameter	Adjusted Hazard Ratios (95% CI)	p value
Gender (M versus F)	1.89 (1.17-3.18)	0.009
HCV	1.95 (1,21-3.30)	0.0018
S-Albumin (<3,5 mg/dL) ^a	2.74 (1.53-5.18)	0.005
CRP (>3,5 mg/L)^a	1.77 (0.84-3.92)	0.0005
IL-6 ^a (pg/mL)	2.38 (1.37-4.34)	0.0001

^a S-Alb, CRP and IL-6 were assessed at baseline.

Table 4: Clinical and laboratory characteristics in survivors and non survivors.

Parameter	Nonsurvivors (n=26)	Survivors (n=88)	p value
Age (years)^a	49.5(25-89)	37(16-74))	<0.0001
Males (%)	50	44	NS
Time on HD(years)^a	3.5(0.7-15.4)	4.5(0.9-12.6)	NS
Malnutrition (%)^b	69	50	NS
Diabetes (%)	34	4.5	<0.001
CRP (mg/L)^a	3.4(1.1-16.5)	3.4(0.2-62.7)	NS
IL-6 (pg/mL)^a	9.7(2.4-17.9)	3.7(0.9-19.6)	<0.0001
S-Alb (g/L)^a	35(23-42)	36(28-45)	NS
AOPP (μmol/L)^a	230.8(105.6-834.5)	217.3(85.5-1023)	NS
Pentosidine (pmol/mg)^a	101.2(62.9-233)	94.9(13-230.3)	NS
Homocysteine (μmol/L)^a	23.1(7.7-50.1)	23.2(10.6-57)	NS

^a Values expressed as median and range; ^b According to SGA (B or C).

Legends to figures:

Figure 1. Survival curves according to inflammatory and oxidative stress markers tertiles (**A:**IL-6; **B:** CRP; **C:** Pent/alb; **D:** AOPP; **E:** Hcy).

Figure 1. Survival curves according to inflammatory and oxidative stress markers tertiles (**A:**IL-6; **B:** CRP; **C:** Pent/alb; **D:** AOPP; **E:** Hcy).

