

Valéria Aparecida Costa Hong

**ALTERAÇÕES VASCULARES EM PACIENTES COM DOENÇA RENAL
CRÔNICA COM HIPERPARATIROIDISMO SECUNDÁRIO**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Cardiologia
Orientador: Prof. Dr. José Jayme G. de Lima.

São Paulo

2008

Valéria Aparecida Costa Hong

**ALTERAÇÕES VASCULARES EM PACIENTES COM DOENÇA RENAL
CRÔNICA COM HIPERPARATIROIDISMO SECUNDÁRIO**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Cardiologia
Orientador: Prof. Dr. José Jayme G. de Lima.

São Paulo

2008

Ao Pai de amor e bondade, a minha eterna gratidão.

Aos meus pais, Hong e Ermínia, pelo amor e dedicação.

Obrigada pelo exemplo no caminho do bem e pelo esforço empreendido para que
pudéssemos realizar nossos sonhos.

Às minhas irmãs, Marília e Lívia Maria, pelas coisas simples, mas imprescindíveis
que tornam a vida bela.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. José Jayme Galvão de Lima, pela confiança depositada, por toda oportunidade de aprendizado e pelo incentivo em todos os momentos, expresso meus maiores agradecimentos e o meu profundo respeito.

Ao Prof. Dr. Eduardo Moacyr Krieger, pelo exemplo de dedicação ao ensino e à ciência.

Ao Prof. Dr. Luiz Bortolotto, pela constante colaboração na execução deste trabalho e na minha formação científica.

À Silvia R. Garrubbo, a minha sincera gratidão pelo auxílio e apoio desde o início e nas mais variadas situações.

À equipe da Unidade de Hipertensão do InCor, Prof^a. Dra. Fernanda M. C. Colombo, Prof. Dr. Heno F. Lopes, Dr. Luciano Drager e Dr. Dante Giorgi, médicos e pesquisadores a quem agradeço pela transmissão de conhecimento e pelo incentivo permanente.

À Dra. Vanda Jorgetti e equipe, pelo exemplo na prática da medicina e pela atenção e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

À Marisa Góes e Dra. Silmara Coimbra, pela disposição em ensinar, pelos conselhos e por toda ajuda na análise dos dados referentes à função endotelial.

Ao Prof. Dr. Antônio C. Seguro e à Dra. Heloísa Shimizu, pelo auxílio nas dosagens do marcador de estresse oxidativo.

À Cláudia C. Soares, exemplo de determinação e coragem, obrigada pela amizade.

Ao Carlos A. L. Santos, pela cooperação neste trabalho e pelo apoio e consideração.

À Rita Cássia G. Silva e Kaleizu T. Rosa, por acreditarem e participarem deste
projeto desde o começo.

À Djanira Pereira e Sandra Teixeira, por me ajudarem sempre.

Aos pacientes, familiares e voluntários, que colaboraram com boa vontade e que
tornaram este trabalho possível.

Aos meus amigos, que sempre estiveram presentes, o meu agradecimento pelos
ensinamentos profundos sobre a vida e pelo auxílio na busca do conhecimento.

SUMÁRIO

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO.....	01
1.1	Hiperparatireoidismo secundário.....	02
1.1.2	Manifestações vasculares do Hiperparatireoidismo secundário.....	03
1.2	Reatividade vascular e função endotelial.....	03
1.3	Estrutura e função das grandes artérias	06
2	OBJETIVOS.....	07
3	MÉTODOS.....	08
3.1	Casuística.....	08
3.2	Avaliação clínica e laboratorial.....	08
3.3	Hemodiálise.....	10
3.4	Medicação.....	10
3.5	Controles.....	10
3.6	Avaliação da função endotelial.....	12
3.7	Avaliação funcional e anatômica da carótida.....	13
3.8	Determinação da distensão da aorta pela medida da velocidade de onda de pulso.....	14
4	ESTATÍSTICA.....	15
5	RESULTADOS.....	16
5.1	Reatividade Vascular.....	16

5.2 Velocidade de onda de pulso e avaliação funcional e anatômica da carótida.....	24
5.3 Estresse oxidativo.....	29
6 DISCUSSÃO.....	35
7 CONCLUSÃO.....	41
8 REFERÊNCIAS.....	42
Apêndice	

Resumo

Fundamentos: Hiperparatireoidismo secundário (HPT2), hiperfosfatemia e produto cálcio x fósforo elevado são associados com doença cardiovascular (DCV) em pacientes com doença renal crônica (DRC). Um papel mais direto exercido pelo PTH neste contexto é controverso. O objetivo deste estudo foi avaliar como o PTH, cálcio, fósforo e produto cálcio x fósforo interagem para influenciar a função e estrutura vascular de pacientes com DRC com níveis diferentes de PTH e graus diversos de HPT2. Mais especificamente, nós procuramos verificar se o efeito do PTH sobre o sistema vascular ocorre via alterações nos níveis de cálcio e fósforo ou do estresse oxidativo.

Métodos: A reatividade vascular das artérias musculares e as características morfo-funcionais das artérias de condução foram determinadas em 31 pacientes com DRC tratados por hemodiálise (46 ± 13 anos de idade, 65% do sexo masculino, 48% caucasóides, 52% afro-brasileiros, em tratamento por hemodiálise por 67 meses, PTH 541 ± 389 [mediana 472, intervalo 81 – 1437], Ca $10,3 \pm 1,0$, P $6,0 \pm 1,5$, Ca x P 62 ± 15) e em 22 controles normais. O diâmetro da artéria braquial foi determinado por ultra-sonografia vascular de alta resolução em condições basais, depois de hiperemia reativa (vasodilatação mediada por fluxo, VMF, dependente do endotélio) e após administração de nitrato, um dilatador de ação direta sobre o músculo liso arterial (vasodilatação independente do endotélio, VIE). A rigidez e as características anatômicas das artérias elásticas foram determinadas na carótida e na

aorta. Estresse oxidativo, um fator associado à disfunção endotelial, foi avaliado pela dosagem plasmática das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Resultados: Comparados aos controles tanto a VMF ($6,0 \pm 4,3$ % versus $11,3 \pm 4,5$ %) como a vasodilatação independente do endotélio ($11,9 \pm 7,7$ % versus $19,1 \pm 6,4$ %) estavam significativamente reduzidas nos pacientes com DRC ($p < 0,01$). A VMF correlacionou-se negativamente com o PTH ($r = -0,429$, $p < 0,05$) e com a idade ($r = -0,365$, $p = 0,04$) e positivamente com a vasodilatação independente do endotélio ($r = 0,483$, $p < 0,01$). Na análise multivariada, apenas PTH ($p = 0,009$) foi o preditor independente de disfunção endotelial. Cálcio, fósforo, produto cálcio x fósforo, albumina, pressão arterial, duração da diálise, hematócrito e lípidos não influenciaram a VMF nos pacientes. A distensão da carótida correlacionou-se negativamente e independentemente de outros fatores com o produto cálcio x fósforo ($r = -0,565$, $p = 0,003$) e com a idade ($r = -0,627$, $p = 0,003$), mas não foi influenciada pelo PTH. A velocidade de onda de pulso correlacionou-se apenas com a idade ($r = 0,544$, $p = 0,003$).

O estresse oxidativo foi mais elevado nos pacientes que nos controles ($2,63 \pm 0,51$ nmoles/mL versus $1,49 \pm 0,43$ nmoles/mL, $p < 0,001$). Entre os pacientes o estresse oxidativo não se correlacionou com a reatividade vascular ou com as variáveis das artérias de condução. No entanto, no conjunto formado por pacientes e controles observamos uma correlação negativa do TBARS com a VMF ($r = -0,56$, $p < 0,001$) e positiva com a pressão arterial sistólica ($r = 0,48$, $p < 0,001$).

Conclusão: Na DRC, o PTH tem efeito adverso sobre a reatividade vascular, possivelmente interferindo com a função endotelial, enquanto que a distensão das grandes artérias elásticas é influenciada negativamente pelo produto cálcio x fósforo

e idade, porém não pelo PTH. Os resultados sugerem a existência de um mecanismo duplo de agressão vascular no HPT2: um efeito endotelial mediado pelo PTH e um efeito média/adventicial ligado a alterações do metabolismo mineral.

Summary

Background: Secondary hyperparathyroidism (2HPT), hyperphosphataemia and a high calcium x phosphorus product are associated with cardiovascular disease (CVD) in patients with chronic kidney disease (CKD). A more direct role played by parathormone (PTH) in this context is controversial. The purpose of this study was to evaluate how PTH, calcium, phosphorus and calcium x phosphorus product interact to influence vascular structure and function of patients with different levels of PTH and varying degrees of 2HPT. Specifically, our purpose was verify whether calcium, phosphorus and oxidative stress are involved on the effects of PTH on the vascular system.

Methods: Vascular reactivity of the muscular arteries and the morpho-functional characteristics of conduit vessels were determined in 31 patients with CKD treated by hemodialysis (46 ± 13 years of age, 65% males, 48% Caucasians, 52% African- Brazilians, in haemodialysis treatment for 67 months, PTH 541 ± 389 [median 472, range 81 - 1437], Ca 10.3 ± 1.0 , P 6.0 ± 1.5 , Ca x P 62 ± 15) and in 22 normal controls. The diameter of the brachial artery was determined by vascular high-resolution ultrasound on baseline, after reactive hyperemia (flow-mediated vasodilation, FMD, dependent of the endothelium) and after administration of nitrate, a dilator of direct action on the smooth muscle blood (vasodilation independent of the endothelium, VIE). The stiffness and the anatomical features of elastic arteries were determined in the carotid artery and aorta. Oxidative stress, a factor associated

with endothelial dysfunction, was evaluated by the level of plasma thiobarbituric acid-reactive species (TBARS).

Results: Compared to the controls, both the FMD ($6.0 \pm 4.3\%$ versus $11.3 \pm 4.5\%$) as well as VIE ($11.9 \pm 7.7\%$ versus $19.1 \pm 6.4\%$) were significantly reduced in patients with CKD ($p < 0.01$). The FMD was negatively correlated with PTH ($r = -0.429$, $p < 0.05$) and with age ($r = -0.365$, $p = 0.04$) and positively with the endothelium-independent vasodilation ($r = 0.483$, $p < 0.01$). In the multivariate analysis, only PTH ($p = 0.009$) was an independent predictor of endothelial dysfunction. Calcium, phosphorus, calcium x phosphorus product, alkaline phosphatase, albumin, blood pressure, duration of dialysis, hematocrit and lipids did not influence the FMD. The distension of the carotid artery was negatively correlated the calcium x phosphorus product ($r = -0.565$, $p = 0.003$) and with age ($r = -0.627$, $p = 0.003$), but was not influenced by PTH. Pulse wave velocity correlated only with age ($r = 0.544$, $p = 0.003$). Oxidative stress was higher in patients than in controls (2.63 ± 0.51 , nmoles/ml versus 1.49 ± 0.43 nmoles/ml, $p < 0.001$) and correlated with FMD ($r = -0.56$, $p < 0.001$) and systolic blood pressure ($r = 0.48$, $p < 0.001$) in the totality of individuals (patients and controls).

Conclusion: In CKD, PTH adversely affects vascular reactivity, possibly by interfering with endothelial function, while large vessel distension is influenced by the calcium x phosphorus product and age, but not by PTH. This result suggests a dual mechanism of vascular aggression in vascular 2HPT: an endothelial effect mediated by PTH and a media/adventitial effect linked to alterations of mineral metabolism.

Introdução

A doença renal crônica (DRC) associa-se com alterações vasculares generalizadas. Alterações vasculares significativas são observadas nos pacientes com DRC já nas fases mais precoces da doença, têm caráter progressivo e são as principais responsáveis pela elevada mortalidade cardiovascular desses pacientes^{1,2}. Estima-se que apenas 1 em cada 20 pacientes com DRC atinge as fases avançadas da doença e são admitidos nos programas de diálise ou transplante. Este fato ocorre devido às mortes causadas por eventos cardiovasculares³. Uma vez iniciada a diálise, a incidência de eventos cardiovasculares se acelera, sendo a mortalidade cardiovascular em pacientes em tratamento por hemodiálise 10 a 30 vezes maior que a observada na população geral de mesmo grupo etário⁴.

O hiperparatiroidismo secundário (HPT2) e as alterações do metabolismo do cálcio e do fósforo contribuem para a elevada prevalência de doença cardiovascular (DCV) em pacientes com DRC^{5,6}. Calcificação e hipertrofia arterial e cardíaca, comprometimento da elasticidade e da reatividade vascular têm sido documentadas em conexão com a DRC⁶. Em ratos submetidos a nefrectomia subtotal e a paratiroidectomia, a infusão contínua de PTH causa calcificação vascular independentemente dos níveis séricos de cálcio e fósforo⁷, sugerindo um efeito direto do PTH sobre os vasos. Recentemente, nosso laboratório demonstrou que a paratiroidectomia reduz eventos cardiovasculares e a mortalidade de pacientes com HPT2 resistente ao tratamento clínico⁸. No entanto, não está claro como o paratormônio (PTH), cálcio e fósforo interagem para causar importantes

modificações patológicas em pacientes renais. Em humanos, a maioria das evidências na literatura favorece um efeito predominante exercido pela hiperfosfatemia^{5,6,9,12} e sugere que o papel do PTH nas alterações CV no HPT2 é pouco importante e mediada pelas alterações no metabolismo mineral^{6,11}. Esta hipótese, no entanto, não foi ainda diretamente avaliada.

Hiperparatiroidismo secundário

Como acontece com as alterações vasculares, o HPT2 é observado já nas fases iniciais da instalação da DRC e também tem caráter progressivo. A síntese e liberação de PTH são normalmente reguladas por três fatores: pelo hormônio 1,25 dihidroxivitamina D3 (calcitriol) e pelos níveis séricos de cálcio e fósforo. Redução do calcitriol e dos níveis de cálcio e aumento da fosfatemia estimulam a secreção do PTH e estas três condições costumam estar presentes na DRC. Em pacientes em fases avançadas da DRC, como é o caso dos indivíduos em tratamento por hemodiálise, níveis elevados de PTH coexistem com normo ou hiperfosfatemia e com normo, hiper ou hipocalcemia. Na maioria dos casos as alterações podem ser controladas com o uso judicioso do calcitriol e cálcio e de manobras destinadas a reduzir a fosfatemia. Alguns pacientes, todavia, evoluem com aumento crescente dos níveis de PTH, do fósforo e do produto cálcio x fósforo, associado à marcada hiperplasia das glândulas e não respondem satisfatoriamente ao tratamento medicamentoso. Neste caso, a cirurgia com a retirada das paratireóides, é o tratamento indicado. A principal indicação de cirurgia, além das alterações bioquímicas e hormonais, é a doença óssea, que se acompanha de dor e deformidades do esqueleto. No entanto, a crescente percepção da importância das conseqüências

extra-ósseas do HPT2 pode contribuir para incluir a doença cardiovascular entre as indicações de intervenção.

Manifestações vasculares do HPT2

Na sua forma mais característica compreende a deposição de cálcio nos vasos, coração e valvas cardíacas¹³. Este quadro corresponde a uma situação extrema e a sua presença não é necessária para configurar a existência de um acometimento vascular em pacientes com HPT2. De fato, a calcificação vascular é também produto de outros mecanismos patogénéticos e é observada em pacientes não urêmicos e com função paratiroideana normal¹⁴. Por estes motivos, na busca de evidências de uma relação mais direta entre HPT2 e a doença vascular, é importante recorrer a métodos capazes de detectar alterações mais sutis na fisiologia e na anatomia dos vasos sanguíneos. Dentre as abordagens mais promissoras, encontram-se os métodos de avaliação endotelial e os que permitem o estudo anatômico e funcional das grandes artérias pela ultra-sonografia, incluindo a determinação da velocidade da onda de pulso^{15, 16}.

Reatividade vascular e função endotelial

O endotélio desempenha importantes funções na regulação da pressão arterial, tônus vascular, hemodinâmica e coagulação.

O endotélio produz substâncias vasodilatadoras e vasoconstrictoras. Entre os fatores de relaxamento, destacam-se o óxido nítrico (NO), prostaciclina, bradicinina e o fator hiperpolarizante do endotélio. Os fatores vasoconstrictores incluem endotelina, tromboxano e ativador da angiotensina II.

O principal modulador do tônus vascular é o NO. O NO é sintetizado pela célula endotelial através da enzima NO-sintase endotelial (eNOS) a partir da L-arginina e um derivado do ácido fólico, a tetrahidrobiopterina (BH4), como co-fator. Este processo é estimulado pela hipóxia, acetilcolina, bradicinina, serotonina, ADP (adenosina difosfato), ATP (adenosina trifosfato) e pelo *shear stress*¹⁷. A maioria dos fatores de risco cardiovascular tais como tabagismo, dislipidemia, hipertensão e diabete reduzem a atividade biológica do NO e são associados com disfunção endotelial^{18,19}. A detecção da disfunção endotelial reveste-se de importância clínica porque é considerada como precursora da aterosclerose²⁰.

A reatividade vascular pode ser adequadamente aferida pela ultra-sonografia de alta resolução aplicada a artérias musculares, como a braquial. Esta técnica permite medir o grau de dilatação arterial induzida pela aplicação de estímulos que aumentam a liberação de NO pelo endotélio. O endotélio é estimulado a produzir e liberar NO pelo aumento do fluxo sanguíneo e conseqüente incremento do *shear stress*, resultando em vasodilatação. Este fenômeno é denominado vasodilatação mediada pelo fluxo (VMF) e depende primariamente da integridade do endotélio. Para que a VMF se manifeste é necessário a que a musculatura lisa vascular responda adequadamente ao NO liberado pelo endotélio. O uso seqüencial de vasodilatadores que atuam independentemente do endotélio, como a nitroglicerina, permitem verificar se a eventual redução na VMF ocorre devido à disfunção endotelial ou por disfunção do músculo liso arterial. Na literatura, é comum utilizar a redução da VMF como sinônimo de disfunção endotelial. Na maioria dos casos, esta interpretação é correta. No entanto, quando a resposta à nitroglicerina (ou a outro vasodilatador de ação direta sobre o músculo) é comprometida, não é possível afirmar, com absoluta

certeza, que a alteração verificada na VMF é devida a não liberação do NO pelo endotélio ou pela incapacidade do músculo liso de responder ao NO. No presente trabalho, este aspecto será discutido nos casos em que os resultados comportem mais de uma interpretação.

A VMF está comprometida em pacientes com DRC e acredita-se que esta alteração é devida à combinação de redução da síntese e aumento da destruição do NO²¹. Embora o exato mecanismo deste fenômeno não esteja esclarecido, existem evidências apontando para a participação do aumento do estresse oxidativo e interferência de fatores inibidores da síntese de NO que se acumulam na DRC²¹. A participação do PTH, cálcio e fósforo na disfunção endotelial na DRC ainda não foi avaliada. A possibilidade de estes fatores influenciarem a função endotelial via aumento do estresse oxidativo merece ser investigada uma vez que o último participa na elevada prevalência de DCV associada à uremia crônica²².

O estresse oxidativo é definido como o dano tissular que resulta do desequilíbrio entre fatores pró-oxidantes e anti-oxidantes. É usualmente avaliado pela geração de produtos que resultam da reação entre espécies reativas de oxigênio e vários substratos, como aminoácidos e lípidos²³. Existem vários métodos que permitem identificar e dosar os produtos resultantes da peroxidação. Na presente investigação, recorreremos à propriedade do ácido tiobarbitúrico de reagir com produtos resultantes da oxidação de lípidos. Os produtos das reações entre o ácido tiobarbitúrico e lípidos oxidados (*thiobarbituric acid reactive substances – TBARS*) podem ser reconhecidos por métodos colorimétricos e utilizado como índice de estresse oxidativo²⁴.

Estrutura e função das grandes artérias.

A estrutura e o grau de rigidez das grandes artérias podem ser verificados por técnicas que empregam o ultra-som vascular. Estas técnicas são relevantes sob o ponto de vista clínico porque elas detectam alterações que precedem o aparecimento da aterosclerose e que se correlacionam com doença aterosclerótica instalada em outros territórios vasculares²⁵. Permitem também visualizar e quantificar a presença de cálcio na parede dos vasos. As alterações detectadas nos vasos se correlacionam com a ocorrência de eventos cardiovasculares futuros e servem para avaliar o efeito do tratamento sobre a evolução das doenças das grandes artérias²⁶. A maioria dos estudos em grandes artérias é realizada nas carótidas devido, sobretudo, a razões técnicas. Nestes vasos estão padronizadas as medidas da espessura íntima-média e a determinação do diâmetro e da distensão vascular. Outra técnica análoga permite medir a velocidade de onda de pulso (VOP) entre dois pontos pré-determinados da árvore vascular, em geral a carótida e a artéria femural. Tanto a VOP como a medida da distensão das carótidas fornece informações sobre o grau de rigidez arterial.

Os fatores envolvidos no aumento da rigidez das artérias de condução são numerosos. Na população geral, idade, pressão arterial, aterosclerose e arteriosclerose desempenham um papel fundamental neste processo. No caso de pacientes com doença renal crônica, o hiperparatiroidismo secundário associa-se com maior rigidez vascular²⁷. Tal como ocorre com a disfunção endotelial, não se sabe com exatidão como cálcio, fósforo e PTH atuam neste processo. A participação do estresse oxidativo ainda não foi esclarecida.

Objetivos

A finalidade deste estudo foi avaliar como o PTH, cálcio, fósforo e produto cálcio e fósforo interagem para influenciar a função e estrutura vascular de pacientes com DRC com níveis diferentes de PTH e graus diversos de HPT2. Mais especificamente, procuramos verificar se o efeito do PTH sobre o sistema vascular ocorre via alterações nos níveis de cálcio e fósforo ou do estresse oxidativo. A hipótese é que PTH e minerais atuam de modo diferente nas diversas estruturas vasculares. Devido ao forte impacto exercido sobre a função e estrutura vasculares por condições que freqüentemente coexistem com a DRC, selecionamos para o estudo pacientes não diabéticos e sem doenças cardiovasculares associadas. Também utilizamos técnicas de sensibilidade adequadas e capazes de registrar alterações precoces, funcionais e morfológicas, que precedem o aparecimento da aterosclerose e de outras patologias vasculares.

Métodos

Casuística: Os participantes (pacientes e controles) assinaram o termo de consentimento informado e a investigação foi aprovada pela Comissão de Ética da Instituição. Os pacientes foram selecionados no Ambulatório de Osteodistrofia Renal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) e encaminhados ao Instituto do Coração (InCor) para avaliação cardiovascular.

Foram estudados 31 pacientes com DRC, tratados por hemodiálise, com níveis variáveis de PTH, de ambos os sexos e com fístula artério-venosa para acesso vascular para diálise apenas em um dos membros superiores. Os critérios de exclusão foram os seguintes: diabete, câncer, doença cardiovascular clinicamente evidente, tabagismo, doença hepática ou da tiróide, uso de anticoncepcional ou de drogas para o tratamento de dislipidemia e antecedentes de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, revascularização miocárdica ou vascular periférica, transplante renal e paratiroidectomia.

Avaliação clínica e laboratorial: Todos os pacientes foram submetidos à avaliação cardiovascular e laboratorial abrangente que incluiu radiografia de tórax, ecocardiograma bi-dimensional e eletrocardiograma em repouso. A doença arterial coronária foi investigada e excluída em todos os casos pela cintilografia miocárdica com estresse farmacológico com dipiridamol. PTH foi determinado pelo método quimio-luminométrico no sistema Immulite 2000 (molécula intacta), utilizando reagentes DTC, Los Angeles, Ca, USA. Cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, colesterol

total e frações, triglicerídeos, albumina, hematócrito e creatinina foram determinados por métodos convencionais.

O estresse oxidativo foi avaliado no plasma pela determinação, por método colorimétrico, dos produtos da peroxidação de lípidos que reagem com ácido tiobarbitúrico (TBARS). As determinações das TBARS foram realizadas no Laboratório de Pesquisa Básica em Doença Renal (LIM 12, Disciplina de Nefrologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo). A ação das espécies reativas de oxigênio sobre lípidos leva à produção de várias substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico e podem ser dosadas por espectrofotometria. As amostras de plasma foram tratadas por ácido tricloroacético antes da adição de ácido tiobarbitúrico a 0,6%. A densidade ótica do sobrenadante foi determinada por espectrofotometria e a concentração dos produtos de peroxidação lipídica foi calculada. Os níveis de TBARS foram expressos em nanomoles/mL²⁴.

As amostras de sangue foram colhidas e todos os exames foram realizados 20 a 30 horas depois de uma sessão de diálise em um dia entre duas sessões consecutivas de diálise.

As principais características clínicas, laboratoriais e demográficas dos pacientes encontram-se na Tabela 1. Observa-se que os pacientes eram relativamente jovens e que houve uma predominância do sexo masculino e da raça negra. O índice de massa corpórea foi normal e não observamos nenhum indivíduo obeso na nossa amostra. O tempo em diálise foi longo, mais de 5 anos, uma característica freqüentemente associada com HPT2 grave. O nível médio do PTH foi muito elevado com valores individuais variando acentuadamente, desde valores pouco acima do normal até concentrações próximas de 1500 pg/ml. As concentrações de

cálcio, fósforo e do produto cálcio x fósforo foram também elevadas e dentro do que se espera em pacientes com DRC. Os níveis de TBARS foram determinados em todos os controles mas apenas em 22/31 pacientes devido ao número insuficiente de amostras de plasma disponíveis.

Hemodiálise: Os pacientes estavam sendo tratados por hemodiálise por 17 a 148 meses (mediana 67 meses) através de fístula artério-venosa, três vezes por semana, durante 4 horas.

Medicação: O tratamento baseou-se na redução da ingestão de alimentos ricos em fósforo e prescrição de calcitriol e sevelamer e de suplementos de cálcio. Quarenta e quatro por cento dos pacientes estavam fazendo uso de quelantes de fósforo a base de cálcio, 42% de sevelamer, 27% de análogos da vitamina D e 7% de desferal. A medicação anti-hipertensiva baseou-se no uso dos inibidores do sistema renina-angiotensina, beta-bloqueadores e inibidores de canais de cálcio, isoladamente ou combinados em, respectivamente, 48%, 44% e 48% dos pacientes. Toda medicação, inclusive hipotensora, foi suspensa 4 dias antes dos testes.

Controles: O grupo controle foi composto por 22 indivíduos normais, sem uso de qualquer medicação e não tabagistas. Os controles foram submetidos à avaliação da reatividade vascular na artéria braquial, das características morfológicas e funcionais das carótidas e da velocidade da onda de pulso e do estresse oxidativo observando os mesmos protocolos utilizados nos pacientes.

Tabela 1 - Características clínicas, laboratoriais e demográficas dos pacientes

Número de pacientes	31
Idade (anos)	45 ± 12
Sexo masculino	20 (65%)
Sexo feminino	11 (35%)
Caucasóides	15 (48%)
Afro-brasileiros	16 (52%)
Duração da diálise (meses)	79 ± 32 (mediana= 67)
Índice de massa corpórea (Kg/m ²)	24 ± 4
Pressão arterial sistólica (mmHg)	150 ± 31
Pressão arterial diastólica (mmHg)	91 ± 19
PTH (pg/ml)	541 ± 389 (mediana= 472) intervalo: 81 –1437
TBARS ⁽¹⁾ (nmoles/mL) (n= 22)	2,63 ± 0,5
Cálcio (mg/100 ml)	10,25 ± 0,95
Fósforo (mg/100 ml)	6,04 ± 1,48
Produto cálcio x fósforo	62 ± 15
Fosfatase alcalina (mg/100 ml)	385 ± 695 (mediana= 171)
Creatinina (mg/100 ml)	10,2 ± 3,7
Albumina (g/100 ml)	4,3 ± 0,3
Colesterol total (mg/100 ml)	173 ± 53
Triglicerídeos (mg/100 ml)	135 ± 82
Hematócrito (%)	35 ± 5

¹ Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

Avaliação da função endotelial: Todos os testes foram realizados pela autora do trabalho. A técnica de avaliação da função endotelial pela manobra de hiperemia reativa é a técnica não-invasiva mais utilizada para estudo da função endotelial em humanos. Embora seja de fácil execução, esta técnica depende de uma boa aquisição da imagem ultra-sonográfica. Por este motivo, o treinamento adequado do executor, realizado de acordo com as normas internacionais, faz parte do protocolo implementado no nosso laboratório.

Os testes foram realizados no período da manhã, após jejum de 8 horas, com o indivíduo em repouso, em decúbito horizontal, em ambiente calmo, temperatura ambiente entre 20°C e 25°C e com monitorização eletrocardiográfica e da pressão arterial. A vasodilatação mediada por fluxo (dependente do endotélio) e a resposta do músculo liso vascular ao vasodilatador trinitrato (independente do endotélio) foram avaliadas de forma seqüencial na artéria braquial no membro contra-lateral ao da fístula artério-venosa utilizada na diálise. Os testes foram realizados de acordo com as diretrizes da *International Brachial Artery Reactivity Task Force* (versão 2002)²⁸. A artéria braquial foi acessada acima da prega do cotovelo. O diâmetro da artéria foi verificado por aparelho de ultra-sonografia (Sequoia Echocardiography System, version 6.0, Acuson, Siemens, Ca, USA) equipado com um transdutor linear de multifrequencial (7-12 MHz) e acoplado a um computador especificamente programado para gravar e analisar este tipo de dados. Foram selecionadas para análise 6 imagens para cada fase do teste coincidindo com a onda R do eletrocardiograma. As imagens obtidas foram analisadas por dois observadores independentes sendo a correlação inter-observador igual a 0,90 (p<0,001).

Os dados foram obtidos em condições basais, depois da indução da hiperemia reativa e após a administração, por aerossol oral, de 0,45 mg de trinitrato (Natripray; Procter & Gamble Pharmaceuticals, France).

A VMF foi expressa como a porcentagem de mudança do diâmetro da artéria braquial, após estímulo em relação ao diâmetro basal:

$$\text{VMF (\%)} = (\text{Diâmetro HR} - \text{Diâmetro Basal}) / \text{Diâmetro basal} \times 100$$

A vasodilatação independente do endotélio (VIE) foi expressa como a porcentagem de mudança do diâmetro da artéria braquial, após 5 minutos da administração de trinitrato por aerossol, em relação ao diâmetro pré-nitrato:

$$\text{VIE (\%)} = (\text{Diâmetro Pré} - \text{Diâmetro Pós nitrato}) / \text{Diâmetro Pré} \times 100$$

Avaliação funcional e anatômica da carótida: As medidas foram realizadas na artéria carótida do lado contra-lateral à fístula de acesso à diálise, 2 cm abaixo do bulbo carotídeo e sobre a parede contra-lateral da artéria. As propriedades do vaso foram avaliadas por um sistema eco-sonográfico pulsátil (*EchotrackingTM*, Wall-Track System 2, PIE Medical, Maastricht, Nederland) desenvolvido para mensurar a espessura íntima-média (EIM) da parede arterial e o diâmetro e a variação percentual sistó-diastólica do vaso, pelo processamento de sinais de ultra-som obtidos em modo M, transformados em sinais de radiofrequência e interpretados por um programa específico. A acurácia do sistema é de 30 µm para o diâmetro diastólico e <1 µm por variação pulsátil do diâmetro do vaso (diâmetro sistólico menos diâmetro diastólico).

Os parâmetros avaliados foram: espessura íntima-média, diâmetro interno e distensão sistólica da carótida.

Determinação da distensão da aorta pela medida da VOP: A velocidade com que a onda de pulso se propaga na árvore arterial serve como uma medida indireta do grau de rigidez do vaso²⁹. Quanto maior a velocidade de deslocamento da onda, maior a rigidez da artéria. A medida da velocidade da onda de pulso é realizada a partir da base da onda de pulso obtida por captadores externos colocados sobre dois pontos conhecidos da árvore arterial e calculado como a distância entre os dois pontos de medida divididos pelo tempo percorrido entre os dois pontos. No nosso Laboratório utilizamos um aparelho CompliorTM (Gonesse, France) já validado e utilizado em diversos estudos³⁰. A VOP é determinada no segmento carótido-femural da árvore arterial. Cada onda pulsátil aparece em tempo real na tela do computador, e o aparelho determina, pela tangente à fase ascendente inicial da onda de pulso, o início da onda nos dois locais, e deduz, em função da distância medida, a velocidade de onda de pulso. Cada valor obtido da velocidade da onda de pulso representa a média de pelo menos dez curvas selecionadas pela sua qualidade e nitidez.

Estatística

Os resultados são expressos como média \pm desvio padrão da média, mediana e porcentagens. O valor do $p < 0.05$ foi considerado significativo. As variáveis foram comparadas pelos testes do t de Student, qui-quadrado e análise de covariância (ANCOVA), quando apropriado. As correlações foram verificadas pela análise de correlação de Pearson. Inicialmente, as seguintes variáveis foram avaliadas no modelo univariado: idade, sexo, raça, duração da diálise, índice de massa corpórea, pressões arteriais sistólica e diastólica, hematócrito e níveis séricos de PTH, cálcio, fósforo, produto cálcio x fósforo, fosfatase alcalina, TBARS, albumina, colesterol total e triglicerídeos. As variáveis selecionadas pelo modelo univariado foram testadas em modelo multivariado (regressão logística) para verificar os fatores independentemente associados com as alterações na função e estrutura vascular. Todos os cálculos foram realizados um programa estatístico SPSS, versão 10.0 (Sigma, Chicago, Illinois).

Resultados

A Tabela 2 mostra as principais características demográficas e clínicas e valores da reatividade vascular e da anatomia e função das grandes artérias dos pacientes e controles. Idade, sexo, raça e índice de massa corpórea foram semelhantes nos dois grupos. Por outro lado, as pressões arteriais sistólica e diastólica foram mais elevadas nos pacientes.

Reatividade vascular: Tanto a VMF, dependente de endotélio ($6,0 \% \pm 4,3 \%$ versus $11,3 \% \pm 4,5 \%$; $p < 0,001$), como a vasodilatação independente do endotélio ($11,9 \% \pm 7,7 \%$ versus $19,1 \% \pm 6,4 \%$; $p < 0,001$) foram reduzidas em comparação com os valores observados nos controles (Tabela 2 e Figura 1). Nos pacientes, os valores obtidos foram cerca de 50% menores que os observados nos controles.

Tabela 2 - Características clínicas, demográficas, valores da avaliação da reatividade vascular e da anatomia e função das grandes artérias dos pacientes e controles

Variável	Pacientes	Controles	p
Número	31	22	
Idade (anos)	45 ± 12,0	40 ± 10,3	0,08
Sexo masculino (%)	65	55	0,40
Caucasóides (%)	48	59	0,41
Afro-brasileiros (%)	52	31	0,40
Índice de massa corpórea (Kg/m ²)	24 ± 4,0	24,7 ± 3,5	0,81
Pressão sistólica (mmHg)	150 ± 32	118 ± 12	0,01
Pressão diastólica (mmHg)	91 ± 19	77 ± 1	0,01
Vasodilatação mediada pelo fluxo (%)	6,00 ± 4,25	11,30 ± 4,46	< 0,001
Vasodilatação independente do endotélio (%)	11,9 ± 7,68	19,10 ± 6,43	0,001
Velocidade de onda de pulso (m/s)	10,5 ± 1,8	7,80 ± 1,66	< 0,001
Diâmetro interno (mm)	7,83 ± 9,32	6,58 ± 5,76	< 0,001
Distensão sistólica (%)	5,18 ± 2,2	6,19 ± 2,74	0,146
Espessura íntima-média (mm)	0,69 ± 0,10	0,60 ± 0,12	0,006
TBARS ⁽¹⁾ (nmoles/mL)	2,63 ± 0,51	1,49 ± 0,43	< 0,001

¹ Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico.

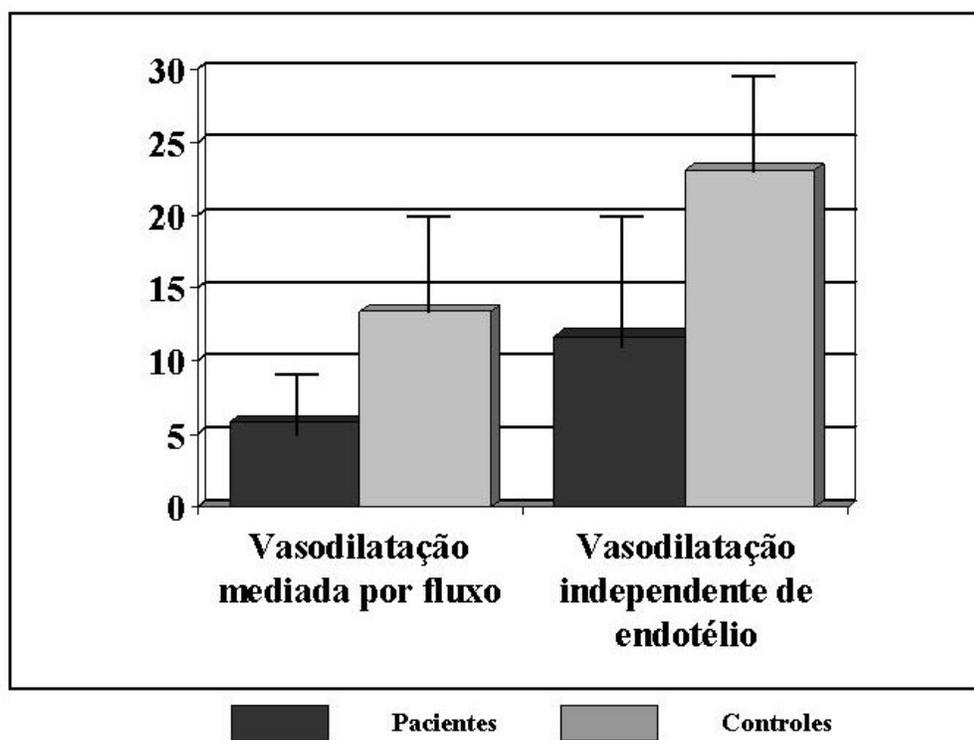


Figura 1. Vasodilatação mediada por fluxo e vasodilatação independente do endotélio em pacientes com DRC (n= 31) e controles (n= 22). Diferenças entre os grupos $p < 0,001$

Na análise univariada (Tabela 3), verificamos que a idade ($r = - 0,365$, $p = 0,04$) e PTH ($r = - 0,429$, $p = 0,02$) foram os únicos preditores da disfunção endotelial. A relação observada foi inversa, isto é, a vasodilatação mediada por fluxo foi reduzida em proporção com a idade e com os níveis séricos de PTH. Cálcio, fósforo, produto cálcio x fósforo e níveis de TBARS, bem como todas as demais variáveis testadas, não se correlacionaram com a VMF. Na regressão logística o PTH permaneceu significativamente correlacionado com a disfunção endotelial ($p = 0,009$), enquanto que a idade esteve próxima mas não atingiu significância estatística ($p = 0,06$). Estes dados encontram-se na Tabela 4 e na Figura 2. Uma vez que a relação entre os níveis de PTH e a VMF foi negativa, isto implica em um possível efeito inibidor do PTH na função vasodilatadora.

A vasodilatação independente do endotélio, avaliada pela resposta ao vasodilatador de ação direta trinitrato, correlacionou-se unicamente com a VMF ($r = 0,483$, $p < 0,01$, Figura 3). Este resultado sugere que a redução observada na VMF foi devida primariamente a disfunção endotelial e não apenas a incapacidade do músculo vascular em responder a vasodilatadores. Sexo, raça, duração da diálise, índice de massa corpórea, pressões arteriais sistólica e diastólica, hematócrito e níveis séricos cálcio, fósforo, produto cálcio x fósforo, fosfatase alcalina, TBARS, albumina, colesterol total e triglicerídeos não se correlacionaram com a vasodilatação independente do endotélio.

Tabela 3 - Correlações entre variáveis clínicas e laboratoriais e vasodilatação mediada por fluxo e vasodilatação independente do endotélio nos pacientes

Variável	Vasodilatação		Vasodilatação	
	Mediada por Fluxo		independente do endotélio	
	r	p	r	p
Idade (anos)	- 0,365	0,04	- 0,61	0,75
Sexo masculino	- 0,155	0,404	- 0,252	0,17
Duração da diálise (meses)	- 0,189	0,32	- 0,154	0,41
Índice de massa corpórea (Kg/m ²)	- 0,250	0,18	- 0,009	0,96
Pressão arterial sistólica (mmHg)	- 0,242	0,19	- 0,148	0,42
Pressão arterial diastólica (mmHg)	- 0,166	0,37	- 0,166	0,37
PTH (pg/mL)	- 0,429	0,02	0,076	0,68
TBARS ⁽¹⁾ (nmoles/mL)	- 0,140	0,54	- 0,015	0,95
Cálcio (mg/100mL)	-0,04	0,83	- 0,127	0,49
Fósforo (mg/100mL)	- 0,198	0,28	-0,73	0,69
Cálcio x Fósforo	- 0,202	0,27	- 0,121	0,51
Albumina (g/100mL)	- 0,126	0,515	- 0,022	0,91
Colesterol total (mg/100mL)	0,027	0,885	0,020	0,91
Triglicérides (mg/100mL)	0,046	0,805	0,304	0,10
Hematócrito (%)	-0,50	0,793	- 0,058	0,76

¹ TBARS: espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico.

Tabela 4 - Variáveis associadas com a Vasodilatação Mediada por Fluxo em pacientes (regressão logística)

	Média-quadrada	F	p
Idade (anos)	41,7	3,90	0,06
PTH (pg/mL)	87,7	8,22	0,009

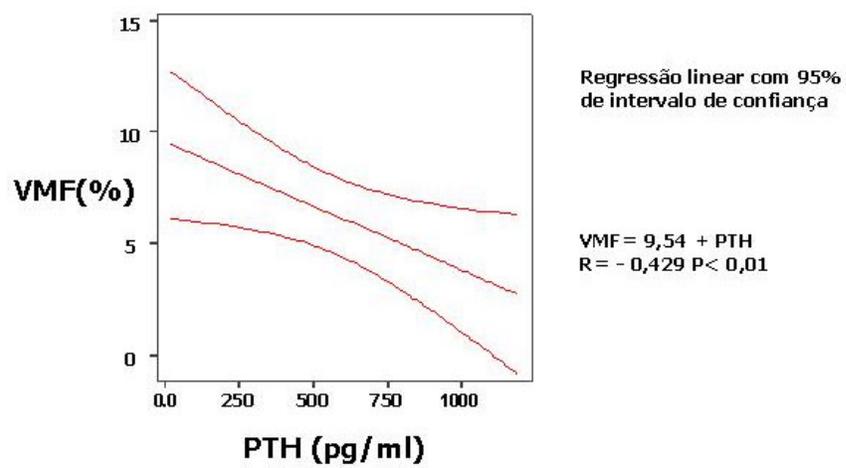


Figura 2. Correlação entre a vasodilatação mediada por fluxo (VMF) e PTH

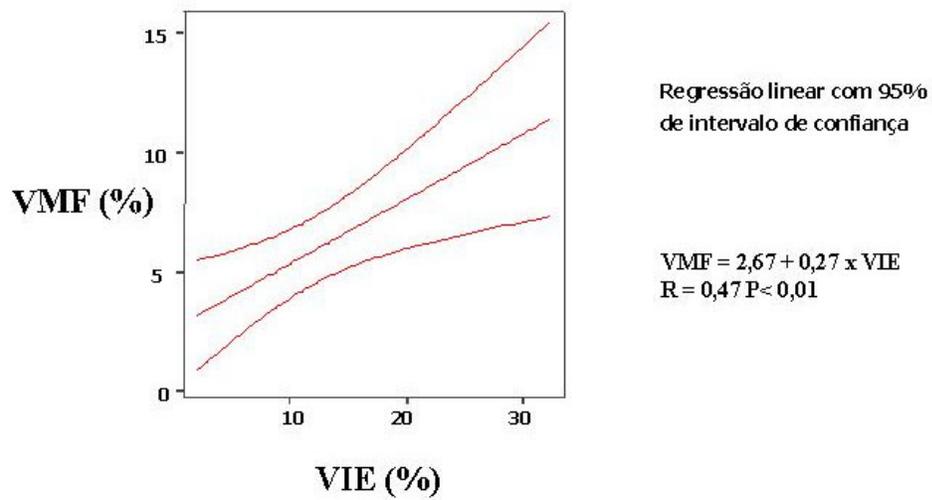


Figura 3. Correlação entre a vasodilatação mediada por fluxo (VMF) e a vasodilatação independente do endotélio (VIE)

Velocidade de onda de pulso e avaliação funcional e anatômica da carótida: Placas ateroscleróticas e calcificações na carótida não foram observadas em nenhum dos grupos. A Tabela 2 mostra as comparações da VOP e as características funcionais e anatômicas da carótida entre pacientes e controles. A VOP, o diâmetro interno da carótida e a espessura íntima-média da carótida foram significativamente maiores nos pacientes em comparação com os controles ($p < 0,01$). Por outro lado, a distensão da carótida não diferiu entre os dois grupos mesmo depois dos valores terem sido ajustados pela pressão arterial. Este resultado provavelmente reflete o remodelamento da parede vascular em resposta ao aumento da pressão arterial. Na análise univariada (Tabela 5), a VOP ($r = 0,544$, $p < 0,001$) foi influenciada apenas pela idade enquanto que a EIM foi influenciada positivamente pela idade ($r = 0,503$, $p = 0,05$) e negativamente pela albumina ($r = - 0,32$, $p = 0,03$). O diâmetro sistólico interno da carótida correlacionou-se negativamente com a albuminemia ($r = - 0,37$, $p = 0,05$) e hematócrito ($r = - 0,12$, $p = 0,05$) mas, como se vê, o valor do p apenas atingiu o grau de significância nos dois casos. Contrastando com estes resultados, a distensão da carótida correlacionou-se com mais de dois fatores: idade ($r = - 0,627$, $p = 0,001$), índice de massa corpórea ($- 0,560$, $p = 0,002$), fósforo ($r = - 0,536$, $p = 0,02$) e produto cálcio x fósforo ($r = - 0,565$, $p = 0,001$). Na análise multivariada, a idade e o produto cálcio x fósforo foram preditores independentes da distensão da carótida (Tabela 6, Figuras 4 e 5). As correlações observadas foram negativas. O estresse oxidativo não se correlacionou com as variáveis funcionais e anatômicas dos grandes vasos nos pacientes.

Tabela 5 - Correlações entre variáveis clínicas e laboratoriais e velocidade da onda de pulso na aorta e características funcionais e anatômicas da carótida (pacientes)

Variável	Velocidade de onda de pulso		Distensão sistólica		Diâmetro interno		Espessura íntima-média	
	r	P	r	p	r	p	r	p
	Idade (anos)	0,54	0,003	- 0,63	0,001	0,20	0,31	0,50
Sexo (M)	- 0,08	0,96	-0,12	0,50	0,17	0,35	0,05	0,75
Duração da diálise (meses)	- 0,08	0,67	0,26	0,18	0,19	0,30	0,19	0,32
IMC (Kg/m ²)	0,32	0,09	-0,56	0,002	-0,13	0,49	-0,19	0,92
Pressão sistólica (mmHg)	0,29	0,12	0,09	0,65	-0,81	0,67	0,27	0,15
Pressão diastólica (mmHg)	-0,03	0,86	0,12	0,53	-0,06	0,77	0,18	0,35
PTH (pg/mL)	0,08	0,65	0,18	0,34	-0,17	0,36	0,28	0,14
TBARS (nmoles/mL)	-0,39	0,09	-0,09	0,70	-0,21	0,38	-0,24	0,28
Cálcio (mg/100mL)	0,02	0,91	-0,12	0,54	-0,06	0,75	-0,09	0,64
Fósforo (mg/100mL)	0,24	0,22	-0,54	0,02	-0,12	0,54	0,23	0,23
Cálcio x Fósforo	0,25	0,20	-0,57	0,001	-0,14	0,46	0,19	0,32
Colesterol total (mg/100mL)	-0,01	0,94	0,08	0,66	-0,07	0,70	-0,42	0,82
Triglicérides (mg/100mL)	-0,18	0,35	0,01	0,96	-0,12	0,59	0,11	0,55
Hematócrito (%)	0,06	0,78	-0,30	0,12	-0,12	0,05	0,12	0,54
Albumina (g/100mL)	-0,04	0,85	-0,32	0,10	-0,37	0,05	-0,32	0,03

Tabela 6 - Variáveis associadas com a distensão percentual da carótida (regressão logística)

	Média-quadrada	F	p
Idade (anos)	35,2	9,85	0,003
Cálcio x fósforo	35,8	10,0	0,003

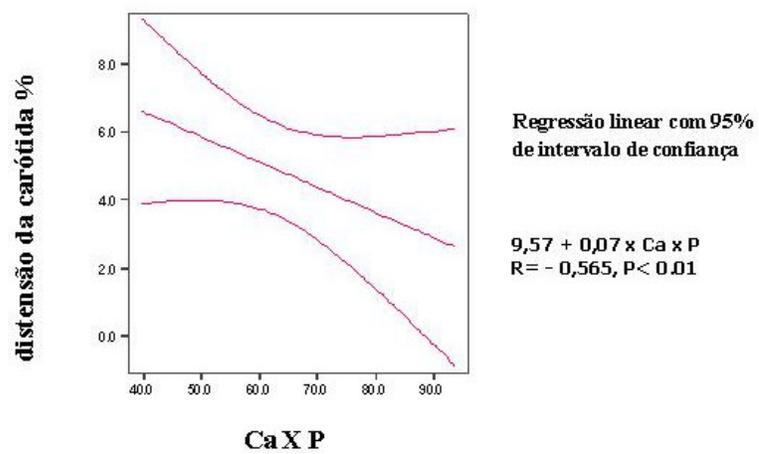


Figura 4. Correlação entre distensão da carótida e o produto cálcio x fósforo

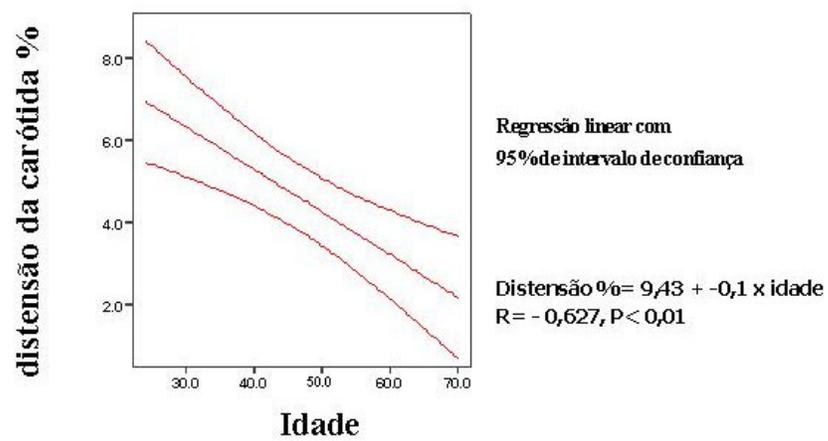


Figura 5. Correlação entre a distensão da carótida e a idade

Estresse oxidativo

O estresse oxidativo, avaliado pela concentração plasmática das TBARS, foi significativamente mais elevado nos pacientes que nos controles ($2,63 \pm 0,51$ nmoles/mL versus $1,49 \pm 0,43$ nmoles/mL, $p < 0,001$) (Tabela 2, Figura 6).

Devido à importância do estresse oxidativo na fisiopatologia cardiovascular, realizamos uma análise adicional com a finalidade de verificar as correlações entre as TBARS e variáveis vasculares, utilizando a totalidade dos indivíduos do estudo (pacientes e controles) (Tabela 7). Uma outra razão para a realização desta análise foi a constatação de que os valores de TBARS nos pacientes foram todos muito próximos, concentrados em uma faixa estreita, sugerindo que, nestes pacientes, o estresse oxidativo atinge níveis máximos nos pacientes com uremia avançada. A inclusão dos controles permitiu avaliar as correlações utilizando uma faixa de valores mais amplo de TBARS. Fazendo uso da totalidade dos indivíduos do estudo (44), observamos, na análise univariada (Tabela 8), que o estresse oxidativo se correlacionou positivamente com diâmetro interno da carótida ($r = 0,51$, $p = 0,001$) e com a velocidade da onda de pulso ($r = 0,32$, $p = 0,04$), e negativamente com a vasodilatação mediada por fluxo ($r = -0,56$, $p < 0,001$) e com a vasodilatação independente do endotélio ($r = -0,44$, $p = 0,004$). Houve também correlações positivas com as pressões sistólica e diastólica. No entanto, na análise multivariada (Tabela 9), apenas a vasodilatação mediada por fluxo ($p = 0,001$) (Figura 7) e a pressão arterial sistólica ($p = 0,001$) permaneceram no modelo.

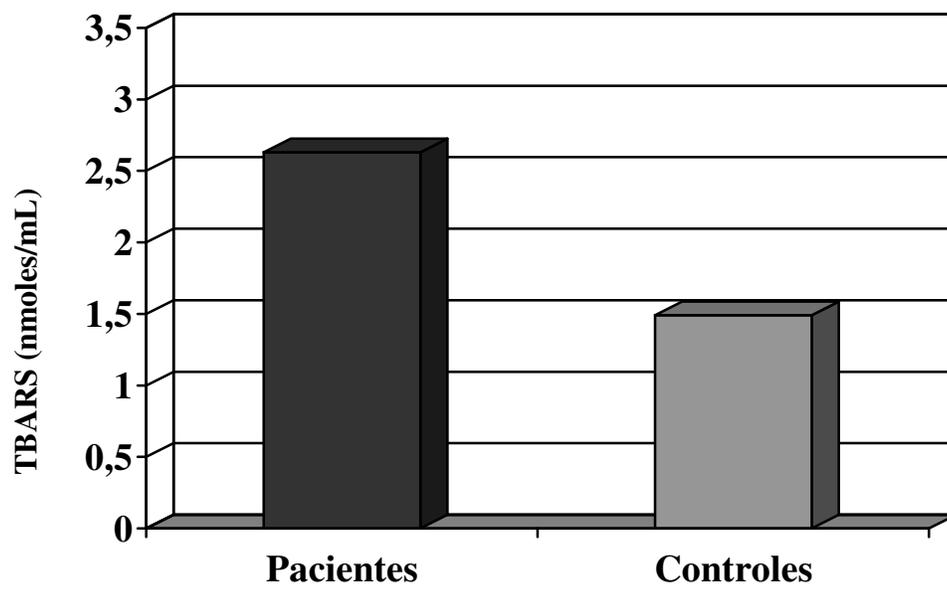


Figura 6 - Concentração plasmática de TBARS

$p < 0,001$

Tabela 7– Características clínicas, laboratoriais, demográficas e vasculares de pacientes (n = 22) e controles (n = 22)

Número de indivíduos	44
Idade	42,8 ± 12,1
Sexo masculino (%)	55
Caucasóides (%)	34
IMC (Kg/m ²)	24,5 ± 3,6
Pressão arterial sistólica (mmHg)	136,3 ± 37,4
Pressão arterial diastólica (mmHg)	86,3 ± 14,7
TBARS (nmoles/mL)	2,1 ± 0,7
Vasodilatação mediada pelo fluxo (%)	8,7 ± 5,1
Vasodilatação independente do endotélio (%)	16,0 ± 7,8
Velocidade de onda de pulso (m/s)	9,1 ± 2,2
Diâmetro interno (mm)	7262,2 ± 1078,9
Distensão sistólica (%)	5,6 ± 2,3
Espessura íntima-média (mm)	635,9 ± 117,4

Tabela 8 - Correlações entre espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) com dados clínicos e variáveis vasculares de pacientes e controles analisados em conjunto (n = 44)

Variável	TBARS	
	r	P
Diâmetro interno (mm)	0,511	0,001
Distensão sistólica (%)	- 0,04	0,81
Espessura íntima-média (mm)	0,17	0,28
Vasodilatação mediada pelo fluxo (%)	- 0,56	< 0,001
Vasodilatação independente do endotélio (%)	- 0,44	0,004
Velocidade de onda de pulso (m/s)	0,32	0,04
Índice de massa coropórea (Kg/m ²)	0,35	0,84
Idade (anos)	0,05	0,74
Pressão arterial sistólica (mmHg)	0,48	0,002
Pressão arterial diastólica (mmHg)	0,44	0,004

Tabela 9 - Variáveis associadas à concentração de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no conjunto de pacientes e controles (n = 44) (regressão logística)

	Média-quadrada	F	P
Vasodilatação mediada pelo fluxo (%)	5,12	11,8	0,001
Pressão arterial sistólica (mmHg)	3,43	8,6	0,001

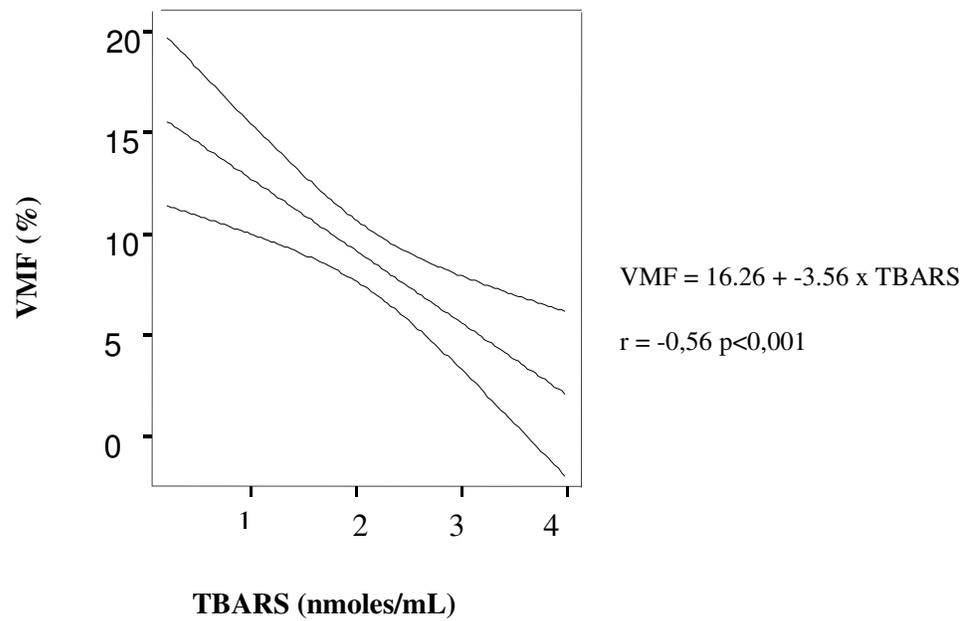


Figura 7. Relação da VMF e TBARS

Discussão

O achado mais importante deste trabalho foi a demonstração de um efeito duplo de agressão vascular do hiperparatireodismo secundário associado à doença renal crônica. Este resultado, juntamente com a recente observação pelo nosso Laboratório de que a paratiroidectomia reduz a mortalidade e a incidência de eventos cardiovasculares em pacientes com HPT2⁸, reafirma a importância das alterações do metabolismo divalente na patologia cardiovascular da doença renal crônica e contribui para a compreensão da sua patogenia.

A patogenia da doença cardiovascular associada à uremia é complexa e, por este motivo, sua interpretação é sujeita a controvérsia. Uma das causas mais importantes de controvérsia é a concomitância de múltiplos fatores, não necessariamente devidos à doença renal crônica *per se*, que podem determinar o aparecimento de alterações cardiovasculares. A inclusão de pacientes com comorbidades, ou nos quais a ocorrência de outras doenças não foi sistematicamente excluída, é um problema observado em muitos trabalhos na literatura e provável fonte de resultados contraditórios. Por esse motivo, estudamos pacientes sem doença cardiovascular clinicamente evidente e comorbidades que influenciam marcadamente o sistema cardiovascular, como diabete, e excluímos tabagistas e pacientes medicados com drogas hipolipemiantes. Observamos que a reatividade das artérias musculares, tal como foi avaliada pela vasodilatação mediada pelo fluxo, dependente de endotélio, foi reduzida nos pacientes com DRC e que este fenômeno foi

influenciado pelos níveis séricos do PTH, mas não pelo cálcio, fósforo ou pelo produto cálcio x fósforo.

O estudo do mecanismo envolvido na ação do PTH sobre o endotélio não foi a finalidade precípua desta investigação. No entanto, procuramos verificar se os níveis de PTH poderiam influenciar a vasodilatação mediada por fluxo via aumento do estresse oxidativo, considerando o papel deste último na doença cardiovascular e seus efeitos sobre a atividade biológica do NO^{21,31}. No entanto, não detectamos correlações significativas entre o estresse oxidativo, avaliado pelos níveis plasmáticos das TBARS, e a vasodilatação mediada por fluxo e a vasodilatação independente do endotélio. Interpretamos este resultado negativo como uma conseqüência da pouca variabilidade dos valores individuais do TBARS em torno do valor médio nos nossos pacientes. Em tais circunstâncias, o estresse oxidativo será sempre elevado independentemente do grau da resposta vascular. Em favor desta interpretação, outros autores observaram que o estresse oxidativo aumenta em proporção com a redução da função renal, atingindo os mais altos níveis nas fases avançadas da DRC²¹. Isto pode significar que, em pacientes com DRC avançada, o estresse oxidativo atinge níveis máximos e que outros fatores passam a desempenhar um papel preponderante na disfunção endotelial. Dentre esses fatores, estaria o PTH. Essa hipótese é respaldada pela correlação negativa e significativa observada entre o estresse oxidativo e a vasodilatação mediada por fluxo, quando incluímos na análise os controles. Neste caso, os valores das TBARS foram distribuídos dentro de uma faixa mais larga, permitindo verificar possíveis correlações entre o estresse oxidativo e a reatividade vascular.

A disfunção endotelial é atualmente considerada um marcador precoce de aterosclerose e de doença cardiovascular em geral³²⁻³⁴. Em nosso trabalho, mostramos que a vasodilatação mediada por fluxo é comprometida em pacientes com DRC sem doença aterosclerótica sistêmica ou coronária, e que o PTH influencia esta alteração. Conseqüentemente, é possível que nossos pacientes estejam em uma fase inicial de desenvolvimento de aterosclerose, em parte causada pelo HPT2. Caso isto se confirme, o controle dos níveis de PTH pode passar a ser considerado um meio de reduzir a carga aterosclerótica associada à DRC, e os níveis de PTH um índice que permite identificar os pacientes em maior risco de complicações cardiovasculares futuras.

Existem várias possibilidades para explicar o efeito do PTH sobre a vasodilatação mediada por fluxo. O endotélio apresenta receptores para PTH em animais³⁵ e em humanos³⁶, e os vasos sangüíneos respondem a variações do PTH tanto *in vivo* como *in vitro*³⁵. Exposição prolongada ao PTH reduz a sensibilidade os vasos sangüíneos ao efeito vasodilatador da proteína vasodilatadora relacionada ao PTH (*PTH hormone-related protein, PTH-HrP*) que utiliza o mesmo receptor do PTH para atuar sobre os vasos³⁷. O NO é o segundo mensageiro da PTH-HrP no endotélio³⁸ e o responsável pelo efeito vasodilatador exercido por este hormônio. A implicação é de que na presença de níveis elevados de PTH, a geração de NO pode ser reduzida. Uma outra possibilidade é que o PTH atua sobre o endotélio via aumento da dimetilarginina assimétrica (ADMA), cujos níveis são elevados na DRC, interferindo com a bio-disponibilidade de NO^{22,23}. No entanto, não temos dados para verificar esta possibilidade em nossos pacientes.

Nossos dados indicam que a vasodilatação mediada por fluxo e a vasodilatação independente do endotélio estão comprometidas nos pacientes com DRC. Por este motivo, não é possível, com toda certeza, afirmar que o endotélio foi o único alvo do PTH, sobretudo em vista da presença de receptores do PTH na célula muscular lisa vascular³⁹ e da comprovada ação direta do PTH no músculo vascular⁴⁰. No entanto, o fato de o PTH não ter se correlacionado com a vasodilatação independente do endotélio e a observação de que a única variável influenciando a vasodilatação independente do endotélio foi a vasodilatação mediada por fluxo, favorece um efeito mais direto do PTH sobre o endotélio.

A função e anatomia dos vasos de condução foram avaliadas na carótida e pela determinação da velocidade de onda de pulso na aorta. Dois dos três parâmetros referentes à carótida comum, espessura íntima-média e diâmetro interno, estavam aumentados nos pacientes com DRC em comparação com os controles normais, mesmo levando-se em consideração a pressão arterial. Por outro lado, não observamos diferenças quanto à distensão sistólica da carótida nos dois grupos. Este fato provavelmente reflete o remodelamento da parede vascular em resposta à pressão arterial, que foi mais elevada nos pacientes. O achado mais interessante foi que a distensão da carótida foi influenciada negativamente pelo produto cálcio x fósforo, além da idade, e que este efeito foi independente do PTH. Uma vez que as propriedades das grandes artérias são importantes fatores determinando os níveis de pressão arterial sistólica, a pré-carga e a hipertrofia do ventrículo esquerdo, o controle do metabolismo cálcio/fósforo pode se tornar um dos meios mais importantes para reduzir a alta incidência de eventos cardiovasculares na DRC. A estreita associação entre a rigidez vascular, calcificação arterial e risco

cardiovascular já foram comprovados na uremia crônica²⁵. Em pacientes não diabéticos tratados por hemodiálise, a espessura íntima-média revelou-se um preditor de eventos cardiovasculares⁴¹. Em pacientes com fósforo sérico ainda nos limites normais, existe uma relação positiva entre a fosfatemia e a ocorrência de eventos, como demonstrou Tonelli et al⁴², em um grupo de indivíduos com doença coronária. Além disso, em pacientes com hiperparatireoidismo primário, Nuzzo et al⁴³ observaram aumento da espessura íntima-média da carótida independentemente da pressão arterial, tal como ocorreu na nossa investigação. É importante notar que as alterações detectadas nas carótidas de nossos pacientes não foram associadas com calcificação vascular ou com a presença de placas ateroscleróticas, ausentes em todos os casos. No seu conjunto, estes achados sugerem que mecanismos mais sutis, além de lesões ateroscleróticas e calcificação metastática, estão envolvidos nas alterações dos grandes vasos em pacientes com DRC ainda sem doença cardiovascular detectável. Dentre estes, podemos considerar a possibilidade do produto cálcio x fósforo possa estimular a substituição do tecido elástico por fibrose, aumentando a rigidez vascular mesmo na ausência de calcificação. A associação de fibrose miocárdica com hiperparatireoidismo foi descrita em animais urêmicos⁴⁴. Não temos, no entanto, dados em apoio a esta hipótese, embora o aumento da espessura íntima-média em nossos pacientes sugira esta possibilidade.

Hipoalbuminemia e anemia contribuíram marginalmente para o aumento do diâmetro interno da carótida, enquanto que idade e hipoalbuminemia se associaram com aumento da espessura íntima-média na análise univariada. Uma explicação plausível é que anemia e hipoalbuminemia aumentaram o débito cardíaco e contribuíram para o remodelamento vascular.

A idade foi a única variável correlacionada com a velocidade da onda de pulso, tal como ocorre na população geral. PTH e íons divalentes não influenciaram a VOP. Este resultado sugere que, em pacientes renais, alterações de velocidade da onda de pulso podem ser um fenômeno tardio em comparação com aquelas observadas na carótida. Por conseguinte, em pacientes renais crônicos não diabéticos e sem doença cardiovascular clínica, estudos de carótida devem ser preferidos em vez da VOP como método de estratificação de risco cardiovascular.

O presente estudo confirma observações mais antigas mostrando que a vasodilatação mediada por fluxo e independente do endotélio^{45,46}, bem como as propriedades morfológicas e funcionais das grandes artérias⁴⁷ são anormais em pacientes com DRC. No entanto, este é o primeiro estudo mostrando os efeitos independentes do PTH e do metabolismo do cálcio e do fósforo em diferentes partes do sistema vascular. A implicação clínica do nosso trabalho é que pacientes com DRC necessitam tanto da normalização do PTH como dos níveis de cálcio e fósforo para atingir um ótimo controle da doença cardiovascular na DRC. Esta abordagem tem a vantagem de reduzir simultaneamente os efeitos negativos do HPT2 sobre as artérias musculares e de condução. A maior parte dos trabalhos na literatura parece privilegiar o controle do fósforo e do produto cálcio fósforo como objetivos principais de intervenção terapêutica⁴⁸⁻⁵¹. Nossos resultados apontam em outra direção.

Conclusão

Pacientes com DRC apresentam redução da reatividade vascular das artérias musculares acompanhada por remodelamento das artérias elásticas. A redução da reatividade vascular envolve tanto a vasodilatação mediada por endotélio como a vasodilatação independente do endotélio. A vasodilatação dependente de endotélio foi influenciada negativamente pelos níveis séricos do PTH, mas não pelo cálcio, fósforo, produto cálcio x fósforo e por outras variáveis testadas. A distensão arterial correlacionou-se com o produto cálcio x fósforo e com a idade, mas não com o PTH. Os resultados sugerem a existência de um mecanismo duplo de agressão vascular no HPT2: um efeito endotelial mediado pelo PTH e uma ação exercida sobre a média/adventícia dos vasos elásticos ligado a alterações do metabolismo mineral. Por esse motivo, a redução das complicações cardiovasculares na uremia crônica deve incluir não apenas a redução do fosfato e do cálcio séricos, mas também dos níveis de PTH. Estes resultados reforçam e esclarecem a importância dos efeitos vasculares do HPT2.

Referência

1. Shoji T, Emoto M, Tabata T, Kimoto E, Shinohara K, Maekawa K, Kawagishi T, Tahara H, Ishimura E, Nishizawa Y. Advanced atherosclerosis in predialysis patients with chronic renal failure. *Kidney international*. Jun 2002;61(6):2187-2192.
2. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*. Sep 23 2004;351(13):1296-1305.
3. Coresh J, Astor BC, Greene T, Eknoyan G, Levey AS. Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Kidney Dis*. Jan 2003;41(1):1-12.
4. US Renal Data System. *USRDS 2005 Annual Data Report*. Bethesda M. National Institute of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. 2005.
5. Ganesh SK, Stack AG, Levin NW, Hulbert-Shearon T, Port FK. Association of elevated serum PO(4), Ca x PO(4) product, and parathyroid hormone with cardiac mortality risk in chronic hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. Oct 2001;12(10):2131-2138.
6. Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am J Kidney Dis*. Apr 1998;31(4):607-617.

7. Neves KR, Graciolli FG, dos Reis LM, Graciolli RG, Neves CL, Magalhaes AO, Custodio MR, Batista DG, Jorgetti V, Moyses RM. Vascular calcification: contribution of parathyroid hormone in renal failure. *Kidney international*. Jun 2007;71(12):1262-1270.
8. Costa-Hong V, Jorgetti V, Gowdak LH, Moyses RM, Krieger EM, De Lima JJ. Parathyroidectomy reduces cardiovascular events and mortality in renal hyperparathyroidism. *Surgery*. Nov 2007;142(5):699-703.
9. Marco MP, Craver L, Betriu A, Belart M, Fibla J, Fernandez E. Higher impact of mineral metabolism on cardiovascular mortality in a European hemodialysis population. *Kidney Int Suppl*. Jun 2003(85):S111-114.
10. Young EW, Albert JM, Satayathum S, Goodkin DA, Pisoni RL, Akiba T, Akizawa T, Kurokawa K, Bommer J, Piera L, Port FK. Predictors and consequences of altered mineral metabolism: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. *Kidney international*. Mar 2005;67(3):1179-1187.
11. Avram MM, Mittman N, Myint MM, Fein P. Importance of low serum intact parathyroid hormone as a predictor of mortality in hemodialysis and peritoneal dialysis patients: 14 years of prospective observation. *Am J Kidney Dis*. Dec 2001;38(6):1351-1357.
12. Slinin Y, Foley RN, Collins AJ. Calcium, phosphorus, parathyroid hormone, and cardiovascular disease in hemodialysis patients: the USRDS waves 1, 3, and 4 study. *J Am Soc Nephrol*. Jun 2005;16(6):1788-1793.
13. Horl WH. The clinical consequences of secondary hyperparathyroidism: focus on clinical outcomes. *Nephrol Dial Transplant*. Aug 2004;19 Suppl 5:V2-8.

14. Wayhs R, Zelinger A, Raggi P. High coronary artery calcium scores pose an extremely elevated risk for hard events. *J Am Coll Cardiol*. Jan 16 2002;39(2):225-230.
15. Kuvin JT, Karas RH. Clinical utility of endothelial function testing: ready for prime time? *Circulation*. Jul 1 2003;107(25):3243-3247.
16. Zoungas S, Cameron JD, Kerr PG, Wolfe R, Muske C, McNeil JJ, McGrath BP. Association of carotid intima-medial thickness and indices of arterial stiffness with cardiovascular disease outcomes in CKD. *Am J Kidney Dis*. Oct 2007;50(4):622-630.
17. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Jr., Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. Oct 1 2003;42(7):1149-1160.
18. Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. *Circulation*. Oct 28 2003;108(17):2054-2059.
19. Mitchell GF, Parise H, Vita JA, Larson MG, Warner E, Keaney JF, Jr., Keyes MJ, Levy D, Vasan RS, Benjamin EJ. Local shear stress and brachial artery flow-mediated dilation: the Framingham Heart Study. *Hypertension*. Aug 2004;44(2):134-139.
20. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Feb 1 2003;23(2):168-175.
21. Ghiadoni L, Cupisti A, Huang Y, Mattei P, Cardinal H, Favilla S, Rindi P, Barsotti G, Taddei S, Salvetti A. Endothelial dysfunction and oxidative stress in chronic renal failure. *J Nephrol*. Jul-Aug 2004;17(4):512-519.

22. Yilmaz MI, Saglam M, Caglar K, Cakir E, Sonmez A, Ozgurtas T, Aydin A, Eyileten T, Ozcan O, Acikel C, Tasar M, Genctoy G, Erbil K, Vural A, Zoccali C. The determinants of endothelial dysfunction in CKD: oxidative stress and asymmetric dimethylarginine. *Am J Kidney Dis.* Jan 2006;47(1):42-50.
23. Kocak H, Gumuslu S, Ermis C, Mahsereci E, Sahin E, Gocmen AY, Ersoy F, Suleymanlar G, Yakupoglu G, Tuncer M. Oxidative stress and asymmetric dimethylarginine is independently associated with carotid intima media thickness in peritoneal dialysis patients. *Am J Nephrol.* 2008;28(1):91-96.
24. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* Jun 1979;95(2):351-358.
25. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM. Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. *Hypertension.* Oct 2001;38(4):938-942.
26. Arnett DK, Evans GW, Riley WA. Arterial stiffness: a new cardiovascular risk factor? *Am J Epidemiol.* Oct 15 1994;140(8):669-682.
27. Levin NW, Hoenich NA. Consequences of hyperphosphatemia and elevated levels of the calcium-phosphorus product in dialysis patients. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* Sep 2001;10(5):563-568.
28. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a

- report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. Jan 16 2002;39(2):257-265.
29. O'Rourke MF, Mancia G. Arterial stiffness. *Journal of hypertension*. Jan 1999;17(1):1-4.
 30. Villacorta H, Bortolotto LA, Arteaga E, Mady C. Aortic distensibility measured by pulse-wave velocity is not modified in patients with Chagas' disease. *Journal of negative results in biomedicine*. 2006;5:9.
 31. Siems W, Quast S, Carluccio F, Wiswedel I, Hirsch D, Augustin W, Hampi H, Riehle M, Sommerburg O. Oxidative stress in chronic renal failure as a cardiovascular risk factor. *Clin Nephrol*. Jul 2002;58 Suppl 1:S12-19.
 32. Kamycheva E, Sundsfjord J, Jorde R. Serum parathyroid hormone levels predict coronary heart disease: the Tromso Study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. Feb 2004;11(1):69-74.
 33. Perrone-Filardi P, Cuocolo A, Brevetti G, Silvestro A, Storto G, Dellegrottaglie S, Corrado L, Cafiero M, Camerino R, Polimeno M, Zarrilli A, Caiazzo G, Maglione A, Petretta A, Chiariello M. Relation of brachial artery flow-mediated vasodilation to significant coronary artery disease in patients with peripheral arterial disease. *Am J Cardiol*. Nov 1 2005;96(9):1337-1341.
 34. Patel AR, Kuvin JT, Sliney KA, Rand WM, Chiang JC, Udelson JE, Pandian NG, Karas RH. Gender-based differences in brachial artery flow-mediated vasodilation as an indicator of significant coronary artery disease. *Am J Cardiol*. Nov 1 2005;96(9):1223-1226.

35. Jiang B, Morimoto S, Yang J, Niinoabu T, Fukuo K, Ogihara T. Expression of parathyroid hormone/parathyroid hormone-related protein receptor in vascular endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1998;31 Suppl 1:S142-144.
36. Isales CM, Sumpio B, Bollag RJ, Zhong Q, Ding KH, Du W, Rodriguez-Commes J, Lopez R, Rosales OR, Gasalla-Herraiz J, McCarthy R, Barrett PQ. Functional parathyroid hormone receptors are present in an umbilical vein endothelial cell line. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* Sep 2000;279(3):E654-662.
37. Nyby MD, Hino T, Berger ME, Ormsby BL, Golub MS, Brickman AS. Desensitization of vascular tissue to parathyroid hormone and parathyroid hormone-related protein. *Endocrinology.* Jun 1995;136(6):2497-2504.
38. Kalinowski L, Dobrucki LW, Malinski T. Nitric oxide as a second messenger in parathyroid hormone-related protein signaling. *J Endocrinol.* Aug 2001;170(2):433-440.
39. Hanson AS, Linas SL. Parathyroid hormone/adenylate cyclase coupling in vascular smooth muscle cells. *Hypertension.* Apr 1994;23(4):468-475.
40. Nickols GA, Metz MA, Cline WH, Jr. Endothelium-independent linkage of parathyroid hormone receptors of rat vascular tissue with increased adenosine 3',5'-monophosphate and relaxation of vascular smooth muscle. *Endocrinology.* Jul 1986;119(1):349-356.
41. Ekart R, Hojs R, Hojs-Fabjan T, Balon BP. Predictive value of carotid intima media thickness in hemodialysis patients. *Artif Organs.* Aug 2005;29(8):615-619.

42. Tonelli M, Sacks F, Pfeffer M, Gao Z, Curhan G. Relation between serum phosphate level and cardiovascular event rate in people with coronary disease. *Circulation*. Oct 25 2005;112(17):2627-2633.
43. Nuzzo V, Tauchmanova L, Fonderico F, Trotta R, Fittipaldi MR, Fontana D, Rossi R, Lombardi G, Trimarco B, Lupoli G. Increased intima-media thickness of the carotid artery wall, normal blood pressure profile and normal left ventricular mass in subjects with primary hyperparathyroidism. *Eur J Endocrinol*. Oct 2002;147(4):453-459.
44. Amann K, Ritz E, Wiest G, Klaus G, Mall G. A role of parathyroid hormone for the activation of cardiac fibroblasts in uremia. *J Am Soc Nephrol*. Apr 1994;4(10):1814-1819.
45. Shestakova MV, Jarek-Martynowa IR, Ivanishina NS, Kuharenko SS, Yadrinskaya MN, Aleksandrov AA, Dedov, II. Role of endothelial dysfunction in the development of cardiorenal syndrome in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. Jun 2005;68 Suppl1:S65-72.
46. Pannier B, Guerin AP, Marchais SJ, Metivier F, Safar ME, London GM. Postischemic vasodilation, endothelial activation, and cardiovascular remodeling in end-stage renal disease. *Kidney international*. Mar 2000;57(3):1091-1099.
47. Level C, Lasseur C, Delmas Y, Cazin MC, Vendrely B, Chauveau P, Gosse P, Combe C. Determinants of arterial compliance in patients treated by hemodialysis. *Clin Nephrol*. Dec 2001;56(6):435-444.

48. Block GA, Klassen PS, Lazarus JM, Ofsthun N, Lowrie EG, Chertow GM. Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. *J Am Soc Nephrol*. Aug 2004;15(8):2208-2218.
49. Chertow GM, Raggi P, Chasan-Taber S, Bommer J, Holzer H, Burke SK. Determinants of progressive vascular calcification in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. Jun 2004;19(6):1489-1496.
50. Locatelli F, Cannata-Andia JB, Drueke TB, Horl WH, Fouque D, Heimbürger O, Ritz E. Management of disturbances of calcium and phosphate metabolism in chronic renal insufficiency, with emphasis on the control of hyperphosphataemia. *Nephrol Dial Transplant*. May 2002;17(5):723-731.
51. Chertow GM, Burke SK, Raggi P. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney international*. Jul 2002;62(1):245-252.