

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**ÓXIDO NÍTRICO E FUNÇÃO PERITONEAL  
DE PACIENTES EM DIÁLISE PERITONEAL**

**ANA ELIZABETH PRADO LIMA FIGUEIREDO**

Porto Alegre  
2004

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA E CIÊNCIAS DA SAÚDE  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: NEFROLOGIA

**ANA ELIZABETH PRADO LIMA FIGUEIREDO**

**ÓXIDO NÍTRICO E FUNÇÃO PERITONEAL  
DE PACIENTES EM DIÁLISE PERITONEAL**

Deleted: ¶

Tese apresentada para apreciação e parecer da comissão examinadora, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Medicina e Ciências da Saúde – Área de Concentração em Nefrologia, da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS.

Orientador: Domingos Otávio L. d'Avila

Co-orientadores: Carlos Eduardo Poli de Figueiredo  
Bartira Ercília Pinheiro da Costa

Porto Alegre  
2004

**Trabalho: Óxido Nítrico e Função Peritoneal de Pacientes em Diálise Peritoneal**

Aluno: Ana Elizabeth Prado Lima Figueiredo

Orientador: Domingos Otávio L. d'Avila

Co-orientadores: Carlos Eduardo Poli de Figueiredo

Bartira Ercília Pinheiro da Costa

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

Prof. Dr. Roberto Flávio Pecoits Filho, PUC-PR.

Prof. Dr. Hugo Abensur, USP.

Prof. Dr. Fernando Saldanha Thomé, UFRGS.

Prof. Dr. Ivan Carlos Ferreira Antonello, PUCRS.

Prof. Dr. Carlos Abaeté de los Santos, PUCRS.

Porto Alegre, 11 de novembro de 2004.

:

*“To Poli”*

## AGRADECIMENTO

*Felizmente, tenho muito a agradecer. Corro, no entanto, o risco de ser injusta, mas a ti – que sabes o quanto és importante para mim –, meu mais profundo e sincero agradecimento.*

*Mãe, como poderia não te mencionar... Foste a fonte inspiradora, por tua determinação e exemplo de mulher, sempre acreditando que somos capazes de fazer o que nos determinamos a fazer.*

*Carolina, sei que tenho te privado do meu tempo, mas, como me dizias, “tenho que escrever muitas folhas”... Obrigada, filha, por existires.*

*Aos meus sogros, obrigada pelo incentivo e encorajamento. Sogra, um especial agradecimento pelo constante “empurrãozinho extra”.*

*Às meninas superpoderosas: Lílian Araújo, Adriana Conti e Patrícia Carvalho, tenho certeza que não teria conseguido sem a ajuda e amizade de vocês. Sinto que a responsabilidade, agora, é ainda maior.*

*Aos pacientes, pela colaboração e confiança. Finalmente, vão poder me chamar de “doutora”, sem que eu precise explicar que não sou.*

*À equipe da hemodiálise que soube entender as ausências da “madre superiora”, continuando, sempre, a fazer um trabalho dedicado e competente em prol dos pacientes.*

*Aos demais colaboradores: Rosa Maria Selbach Souza, Elton Torres, Breno Acauan, André Poitevin, Priscilla Barcelos Almeida e Mário Bernardes Wagner.*

*Aos Serviços de Nefrologia e Laboratório de Patologia Clínica do Hospital São Lucas; à Faculdade de Enfermagem, Nutrição e Fisioterapia; e à Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul pelo apoio.*

*Ao Dr. Domingos d'Ávila, por todos estes anos de convivência. Seu estímulo e respeito pelo meu trabalho, com certeza, foram fatores determinantes de minha carreira. Obrigado, também, por ter-me proporcionado o estágio voluntário, quando minha paixão pela diálise começou.*

*Bartira E. Pinheiro da Costa, minha co-orientadora, sempre amiga e disposta a ajudar, sendo um exemplo de pesquisadora a ser seguido.*

*Aos parentes, amigos, amigas e todas as pessoas que, de certa maneira, participaram da minha vida.*

## RESUMO

**Objetivo:** O presente trabalho tem como objetivo avaliar os metabólitos do óxido nítrico (NO) no soro e no peritônio, e a função endotelial de pacientes em diálise peritoneal em diferentes categorias de transporte peritoneal, avaliados pelo teste de equilíbrio peritoneal.

**Método:** Estudo transversal, em pacientes estáveis em DP. *Quartis* da razão dialisado/plasma (D/P) de creatinina, após 4 horas de permanência do líquido na cavidade, foram usados para classificar o transporte peritoneal em: baixo, baixo-médio, alto-médio e alto. Os metabólitos do NO foram medidos por quimioluminescência (n=41), e a função endotelial avaliada através da dilatação mediada por fluxo da artéria braquial (n=31).

**Resultados:** Os metabólitos do NO no soro, dialisado de 24 horas e de 4 horas não foram diferentes entre as categorias. A razão de NO no dialisado de 4 horas/soro (D/P de NO) também não foi diferente ( $p=0,096$ ), mas houve tendência de aumento do baixo para o alto transportador. A mediana (intervalo interquartil) da dilatação mediada por fluxo não foi diferente entre os grupos. Houve correlação entre NO no soro e dialisado de 4 horas ( $r=0,891$ ,  $p<0,001$ ). A D/P de NO foi inversamente correlacionada com o transporte peritoneal de glicose ( $r=-0,579$ ,  $p<0,001$ ), e com a ultrafiltração ( $r=-0,422$ ,  $p<0,001$ ), e diretamente correlacionada com a D/P de creatinina ( $r=0,533$ ,  $p<0,001$ ).

**Conclusão:** Os resultados sugerem que os níveis de NO refletem permeabilidade peritoneal. Os metabólitos do NO não são um marcador da produção peritoneal de NO, em pacientes sem peritonite. A prescrição de diálise peritoneal não é dependente da função endotelial.

## ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was to evaluate serum and dialysate nitric oxide (NO), and endothelial function in peritoneal dialysis patients in different peritoneal equilibration test (PET) categories.

**Methods:** Cross-sectional study, in stable PD patients free of peritonitis for at least one month. Quartiles of the 4-h dialysate/plasma (D/P) ratio creatinine were used to classify the peritoneal membrane transport as low, low average, high average and high. NO metabolites were measured by chemiluminescence (n=41), and endothelial function was evaluated by arterial flow-mediated dilation (n=31).

**Results:** Serum, 4-h and 24-h dialysate NO were not different among the PET categories. The 4-h dialysate/serum NO ratio ( $D/P_{NO}$ ) was also not different ( $p=0,096$ ), but the data suggested the presence of a trend, increasing from low toward high peritoneal transport. Additionally, median (interquartile range) flow-mediated dilation was not different between groups. There was correlation between 4-h dialysate and serum NO ( $r=0.891$ ,  $p<0.001$ ).  $D/P_{NO}$  was negatively correlated with glucose transport ( $r=-0.579$ ,  $p<0.001$ ) and ultrafiltration ( $r=-0.422$ ,  $p<0.001$ ), and positively correlated with the D/P creatinine ratio ( $r=0.533$ ,  $p<0.001$ ).

**Conclusion:** NO levels appear to reflect peritoneal permeability only. The dialysate NO level is not a sensible marker for local production of NO, in peritonitis-free patients. Peritoneal dialysis prescription is not dependent upon endothelial function.



## LISTA DE ABREVIATURAS

CAPD	– Diálise peritoneal ambulatorial contínua ( <i>Continuous Ambulatorial Peritoneal Dialysis</i> )
cNOS	– Sintase do óxido nítrico constitutiva
D/P	– Dialisado / plasma (ou soro)
DMF	– Dilatação mediada por fluxo
DP	– Diálise peritoneal
DPA	– Diálise peritoneal automatizada
EDRF	– Fator relaxante derivado do endotélio ( <i>Endothelial derived relaxing factor</i> )
eNOS	– Sintase do óxido nítrico endotelial
FAV	– Fístula artério-venosa
GMP <sub>c</sub>	– Monofosfato de guanosina cíclico
HD	– Hemodiálise
HSL	– Hospital São Lucas
IgG	– Imunoglobulina G
iNOS	– Sintase do óxido nítrico induzível
IPB	– Instituto de Pesquisas Biomédicas
IRC	– Insuficiência renal crônica
K/DOQI	– <i>Kidney Disease Outcomes Quality Initiative</i>
Kt	– Medida da depuração de uréia semanal
Kt/V	– Índice de adequação de diálise
L-NAME	– N <sup>G</sup> -nitro-L-arginina-metil-ester
MSD	– Membro superior direito
MTAC	– Coeficiente de área de transferência de massa ( <i>Mass Transfer Área Coefficient</i> )

Deleted: e

NADPH	– Dinucleotídeo fosfato de nicotinamida adenina (forma reduzida)
nNOS	– Sintase do óxido nítrico cerebral ou neuronal
NO	– Óxido nítrico
NOS	– Sintase do óxido nítrico ( <i>Nitric oxide synthase</i> )
NPS	– Nitroprussiato de sódio
PAD	– Pressão arterial diastólica
PAS	– Pressão arterial sistólica
PDC	– <i>Peritoneal dialysis capacity</i>
PET	– Teste de equilíbrio peritoneal
SPA	– <i>Standard peritoneal permeability analysis</i>
UF	– Ultrafiltração
V	– Volume da distribuição da água corporal
VEGF	– <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Via L-arginina e óxido nítrico..... 21
- Figura 2:** *Box-plot* representando a razão de óxido nítrico no dialisado de 24 horas sobre o óxido nítrico sérico (D24h/P NO) nas diferentes categorias de transporte peritoneal classificado por PET *quartil*. A caixa representa a amplitude interquartil 75 e 25; a linha dentro da caixa mostra a mediana; e as linhas de cima e de baixo são os valores máximos e mínimos..... 44
- Figura 3:** *Box-plot* representando a dilatação mediada por fluxo nas diferentes categorias de transporte peritoneal classificado por PET *quartil*. A caixa representa a amplitude interquartil 75 e 25; a linha dentro da caixa mostra a mediana; e as linhas de cima e de baixo são os valores máximos e mínimos..... 46

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Variáveis demográficas e clínicas dos pacientes estudados (n=41).....	40
<b>Tabela 2:</b> Dados laboratoriais dos pacientes estudados (n=41).....	41
<b>Tabela 3:</b> Doença de base da amostra (n=41).....	41
<b>Tabela 4:</b> Variável D/P de creatinina nas diferentes categorias de função peritoneal: teste de equilíbrio peritoneal padrão e o estabelecido por <i>quartil</i> .....	42
<b>Tabela 5:</b> Óxido nítrico nas diferentes categorias do PET por <i>quartil</i> .....	43
<b>Tabela 6:</b> Distribuição das variáveis demográficas nas diferentes categorias PET por <i>quartil</i> .....	45
<b>Tabela 7:</b> Dilatação mediada por fluxo (DMF) da artéria braquial nas diferentes categorias de transporte da membrana peritoneal.....	46
<b>Tabela 8:</b> Coeficientes de correlação de Pearson e respectivas significâncias, entre as variáveis clínicas, função peritoneal, NO e transporte de membrana.....	48

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>1 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
1.1 PERITÔNIO .....	15
1.1.1 Características e Funções .....	15
1.1.2 Diálise e Transporte Peritoneal .....	16
1.2 ÓXIDO NÍTRICO .....	20
1.2.1 Endotélio Vascular e Óxido Nítrico .....	22
1.2.2 Diálise Peritoneal e Óxido Nítrico .....	24
<b>2 HIPÓTESES</b> .....	27
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	28
3.1 OBJETIVO GERAL .....	28
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	28
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	29
4.1 DELINEAMENTO .....	29
4.2 DEFINIÇÕES .....	29
4.3 PACIENTES .....	31
4.3.1 Critérios de Inclusão/Exclusão .....	31
4.3.2 Variáveis Clínicas .....	32
4.3.3 Avaliações Laboratoriais .....	32
4.3.4 Avaliações Clínicas .....	33
4.4 PROCEDIMENTOS .....	35
4.4.1 Técnica para a Avaliação do Kt/V .....	35
4.4.2 Técnica para a Realização do PET .....	35
4.4.3 Análise Estatística .....	36

<b>5 CONSIDERAÇÕES SOBRE O TRABALHO .....</b>	<b>38</b>
<b>6 RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
<b>7 DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>58</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>60</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>70</b>
ANEXO A – APROVAÇÃO COMISSÃO CIENTÍFICA.....	71
ANEXO B – APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA E PESQUISA .....	72
ANEXO C – DIÁLISE PERITONEAL E A VIA L-ARGININA/ÓXIDO NÍTRICO PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS .....	73
ANEXO D – TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO .....	74
ANEXO E – CURVA DE CALIBRAÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO .....	76
ANEXO F – ARTIGO PUBLICADO NO <i>ADVANCES IN PERITONEAL DIALYSIS</i> ..	77
ANEXO G – ARTIGO EM FASE DE ENCAMINHAMENTO AO <i>PERITONEAL DIALYSIS INTERNATIONAL</i> .....	80
ANEXO H – ARTIGO EM FASE DE ENCAMINHAMENTO AO <i>KIDNEY INTERNATIONAL</i> .....	97
ANEXO I – PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....	113
ANEXO J – CÓPIA DO RESUMO CAPTAÇÃO ERITROCITÁRIA DE L-ARGININA EM DIÁLISE PERITONEAL .....	116

## INTRODUÇÃO

A doença renal crônica é um problema de saúde pública em todo o mundo. O termo “doença renal crônica” inclui condições que afetam o rim, com potencial para causar perda da função renal progressiva, ou complicações resultantes desta, sendo definida como a presença de dano renal ou diminuição do nível de função por três meses ou mais. A insuficiência renal crônica (IRC) é o estágio mais avançado da doença, com taxa de filtração glomerular abaixo de 15 ml/min/1,73 m<sup>3</sup> ou necessidade de tratamento dialítico (*National Kidney Foundation, 2002*). As opções de substituição da função renal na IRC terminal são: hemodiálise, diálise peritoneal e transplante de rim.

O desenvolvimento de produtos e técnicas permitiram que a membrana peritoneal fosse empregada como um substitutivo dos rins nativos: alternativa prática e eficaz no tratamento da uremia crônica, quanto à filtração glomerular.

A diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD, *Continuous Ambulatorial Peritoneal Dialysis*), como se conhece hoje, foi desenvolvida no final da década de 1970 por Moncrief e Popovich (Popovich et al., 1976). O procedimento foi baseado em cálculos matemáticos que sugeriram a possibilidade de controle adequado da uremia com cinco trocas diárias de 2 litros, de uma solução dialisante colocada na cavidade peritoneal. Em 1978, modificações introduzidas por Oreopoulos et al. (1978), ao acondicionar a solução de diálise em bolsa de cloreto de polivinil, tornaram o procedimento mais prático. Desde então, a terminologia CAPD vem sendo empregada para o método.

# 1 REVISÃO DE LITERATURA

## 1.1 PERITÔNIO

### 1.1.1 Características e Funções

A diálise peritoneal é uma técnica de depuração extra-renal que utiliza uma membrana semipermeável – o peritônio – como superfície de troca de solutos e fluidos entre o sangue e a solução de diálise.

A cavidade peritoneal – espaço virtual formado entre as duas camadas de peritônio – é recoberto por uma membrana serosa contínua, com células mesoteliais sustentadas por tecido conjuntivo. Em circunstâncias normais, a cavidade peritoneal fechada contém um pequeno volume de líquido (menor que 100ml). Este líquido, contendo o surfactante fosfatidilcolina, secretado pelas células mesoteliais, fornece lubrificação para a cavidade peritoneal, permitindo que os órgãos internos se movimentem com mínimo atrito. O peritônio cobre as vísceras e reveste a superfície interna da parede abdominal. A área total de troca do peritônio é, aproximadamente, a mesma da superfície cutânea. O mesentério visceral representa a maior superfície, devido a suas múltiplas plicaturas; no entanto, o mesentério parietal apresenta uma vascularização mais rica (White et al., 1994).

As diferentes camadas da estrutura da membrana peritoneal atuam como barreiras para o transporte de solutos, como: uréia, creatinina, potássio e glicose. Além dessa estrutura histológica, a função da membrana peritoneal como barreira pode, ainda, ser afetada por variações no número e tamanho de poros, pelo estado de hidratação da matriz peritoneal, por efeito de doenças e outros fatores capazes

Deleted: consideração anatômica



de alterar o metabolismo e a estrutura física do sistema. A importância relativa de cada uma dessas barreiras, no transporte peritoneal, não é totalmente conhecida, mas há evidências indicando que capilares da membrana peritoneal agem como a maior fonte de resistência à passagem de solutos, especialmente de moléculas com alto peso, como as proteínas (Schoenfeld, 1991).

Os sistemas vascular e linfático da membrana peritoneal e dos órgãos intraperitoniais constituem um complexo e eficiente meio para trocas de líquidos e solutos na cavidade peritoneal (White et al., 1994). A artéria mesentérica superior irriga o peritônio visceral; as artérias intercostais, epigástrica e lombar irrigam o peritônio parietal. O retorno venoso do peritônio visceral drena para o sistema porta, e o do peritônio parietal para a veia cava inferior.

A drenagem linfática do peritônio ocorre, principalmente, por *estomata* – aberturas especializadas, localizadas no peritônio subdiafragmático (Schoenfeld, 1991). Os *estomata* são formados pela separação de células mesoteliais adjacentes e permitem absorção de fluido, colóide, partículas e células. Estes terminais linfáticos coalescem, formando um plexo de linfáticos coletores dentro do diafragma. A drenagem da cavidade peritoneal funciona como um sistema de via única, retornando o excesso de líquido e de proteínas intraperitoneal ao sistema circulatório (Nolph et al., 1987).

### **1.1.2 Diálise e Transporte Peritoneal**

No método de diálise peritoneal realizam-se trocas de solutos e água, entre a solução de diálise e o sangue, pelos capilares da membrana peritoneal. O movimento de solutos, entre o sangue e o dialisado, pode se dar por difusão passiva – dependente de um gradiente de concentração –, e por gradiente osmótico – em que o transporte de líquidos ocorre em resposta ao efeito de agentes osmóticos que carregam solutos, independentemente de um gradiente de concentração. A ultrafiltração (UF), ou seja, a remoção de fluidos, ocorre através do gradiente osmótico entre a solução de diálise e o sangue. A glicose é a substância mais

utilizada como agente osmótico e pode ser usada em diferentes concentrações. A absorção de fluidos ocorre por via dos linfáticos e peritônio parietal, numa taxa de 1 a 2 ml/min (Rippe e Krediet, 1994). O processo é regulado pela pressão hidrostática intraperitoneal e pela efetividade dos linfáticos.

O primeiro modelo proposto para explicar o transporte de membrana na diálise peritoneal definia um sistema com dois compartimentos separados por uma membrana semipermeável, no qual ocorria redução exponencial do gradiente de concentração entre o sangue e o dialisado. Esta queda do gradiente de concentração entre os dois compartimentos era influenciada por diferentes fatores, como a ultrafiltração, o gradiente osmótico, a geração de metabólitos e a ligação e distribuição das proteínas (Rippe e Krediet, 1994). Teoria mais recente propõe modelo em que os capilares peritonais são a principal barreira de resistência ao transporte de solutos e água, que é mediado por poros de diferentes tamanhos, chamado de *Modelo de Três Poros* (Rippe e Krediet, 1994). Nele, é sugerido que o transporte peritoneal ocorra através da parede capilar, por dois caminhos diferentes – um transcelular e outro transcapilar. O primeiro seria a *via transcelular*, formada por poros ultrapequenos, com raio inferior a 0,5 nm, permitindo apenas as trocas de água. Sugere-se que estes canais de água sejam formados por uma proteína de membrana, possivelmente aquaporina, a qual foi identificada no peritônio de pacientes urêmicos, e em CAPD (Rippe et al., 1991; Pannekeet et al., 1996). A *via transcapilar* seria formada, principalmente, por pequenos poros, com raio de 4 a 6 nm, por onde passariam água e solutos de baixo peso molecular, como uréia, creatinina e glicose, e por poros maiores, com mais de 20 nm de raio, pelos quais passariam macromoléculas (Zemel et al., 1991).

A magnitude do transporte de solutos é determinada pela área de superfície viável, pelo número de capilares peritonais e, conseqüentemente, pelo número de poros. Assim, um aumento no coeficiente de transferência de determinado soluto reflete um aumento no número de poros, e vice-versa. Na prática, o coeficiente de transferência de creatinina, entre o sangue e o dialisado, usado para avaliar a função de transporte peritoneal, supre a informação sobre a área de superfície vascular peritoneal (Rippe e Krediet, 1994).

Pacientes em CAPD podem apresentar diferentes características da membrana peritoneal, em relação ao transporte de solutos e à ultrafiltração. Diálise peritoneal por períodos prolongados de tempo (mais de cinco anos), peritonites freqüentes e outros fatores podem lesar a membrana peritoneal, contribuindo para mudanças de características e de tratamento dialítico (Davies et al., 1998a; Vriese et al., 2001; Devuyst, 2003).

Na tentativa de avaliar as características do transporte peritoneal de diferentes solutos e de líquidos, foi proposto, por Twardowski et al. (1987), o teste de equilíbrio peritoneal (PET). Este teste permite quantificar o transporte de solutos de baixo peso molecular, como creatinina e glicose, e a ultrafiltração, classificando as membranas em alto, médio-alto, médio-baixo e baixo transportadores. É um teste relativamente simples, com boa aplicabilidade e amplo emprego (Uttley e Prowant, 1994; Blake e Diaz-Bruxo, 2001). Os dados fornecidos pelo teste são restritos ao transporte de soluto e à capacidade de ultrafiltração. Apesar disso, é uma ferramenta de grande utilização que facilita a prescrição da diálise peritoneal e prediz a evolução da terapia (Davies, 2000). Os pacientes altos transportadores apresentam uma remoção elevada de solutos, geralmente com inadequada remoção de líquidos; já os baixos transportadores têm ultrafiltração adequada, mas, geralmente, apresentam transporte ineficiente de solutos. Os pacientes com transporte médio-alto parecem não apresentar problemas com a CAPD; já os com transporte médio-baixo podem necessitar aumento da quantidade de diálise, quando há declínio da função renal residual (Struijk et al., 1994; Bargman et al., 2001).

O transporte de solutos é o aspecto mais importante da função peritoneal e deve ser monitorizado, longitudinalmente, em pacientes que realizam diálise peritoneal. Este transporte associa-se à falha de UF e prediz o desfecho “sobrevida” da terapia (Davies et al., 1999). Também, é o único aspecto da função peritoneal que se altera com o tempo em tratamento (Heimbürger et al., 1999) e é, provavelmente, a principal causa de falência da capacidade de UF. Exposição por longo prazo a soluções de diálise peritoneal pode exercer efeito deletério sobre a membrana peritoneal, como aumento do transporte de solutos, falha na UF, diálise inadequada ou suscetibilidade aumentada a infecções (Davies et al., 1998a; Devuyst et al., 2001).

A capacidade de ultrafiltração pode ser definida como o volume de fluido removido durante uma troca padronizada, por tempo e concentração de glicose, como, por exemplo, após 4 horas com glicose a 2,5% ou a 4,25%. É uma medida simples de função da membrana que deve ser usada na clínica, mas que não fornece dados sobre a causa da disfunção da membrana. A ultrafiltração, através dos canais de água, pode ser estimada pelo *teste de filtração de sódio*. A presença de canais de água seletivos na membrana peritoneal – aquaporinas (Rippe e Carlson, 1999) – é crítica para a UF de pequenas moléculas osmoticamente ativas, como glicose. Eles cobrem 2% da área total de poros da membrana, mas, por seu alto coeficiente de reflexão para a glicose, contribuem com metade da UF alcançada. Aproximadamente, 40% dos pacientes com falência severa de ultrafiltração apresentam queda do sódio no dialisado de 5 mmol/L, durante a primeira hora de uma troca de bolsa com glicose a 4,25%. Isto indica uma redução na difusão de sódio que poderia ser secundária à redução dos canais de água (Ho-Dac-Pannekeet et al., 1997). Desse modo, é difícil definir, pela queda inicial do sódio no dialisado, o que vem primeiro: ultrafiltração diminuída, ou redução relativa dos canais de água, já que ambas atenuarão a queda do sódio no dialisado.

A terapia dialítica baseia-se no raciocínio de que a síndrome urêmica é dependente do aumento na concentração de solutos tóxicos acumulados pela falência de excreção do rim. A uréia tem sido usada como marcador de transporte de baixo peso molecular, a fim de individualizar e quantificar a dose de diálise necessária para um tratamento adequado. A avaliação do regime de diálise pode ser realizada por uma avaliação dita “cinética” (Gotch, 1993; Ronco et al., 1999). A adequação da diálise pode ser estimada pela medida da depuração de uréia semanal (Kt), normalizada para o volume de distribuição da água corporal (V). O índice, chamado “Kt/V”, avalia a qualidade da diálise e, quando reduzido, associa-se a mortalidade aumentada (Gotch, 1993; Davies et al., 1998ab; Ronco et al., 1999). Portanto, a função da membrana peritoneal influencia o desfecho clínico (Davies et al., 1998ab) e pode se alterar com o tempo de tratamento (Davies et al., 1998b; Churchill et al., 1998).

## 1.2 ÓXIDO NÍTRICO

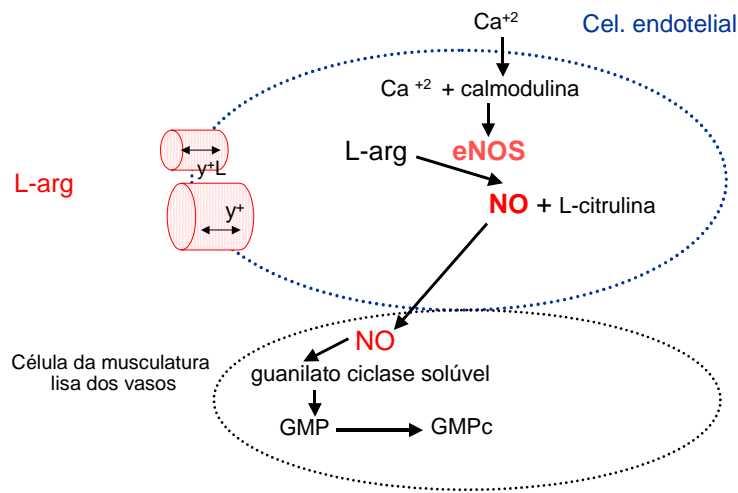
Há muitos anos, sabe-se que a resposta vasodilatadora produzida por vários agentes farmacológicos é mediada por uma substância produzida nas células endoteliais, denominada de fator relaxante derivado do endotélio. Furchgott e Zawadzki (1980) identificaram o óxido nítrico (NO), um gás com potente ação vasodilatadora, como a substância envolvida. Desde então, muitas informações têm-se acumulado sobre o papel do NO no aparelho cardiovascular, na transmissão de estímulos nervosos, na fisiologia pulmonar, na coagulação sangüínea e na defesa celular, entre outros (Moncada et al., 1991). Estudos sobre a citotoxicidade dos processos inflamatórios têm demonstrado o papel do NO como mediador da inflamação e de processos autoimunes (Moncada et al., 1991; Feldman et al., 1993). Estas observações dão idéia da importância e abrangência do NO e de sua geração, em processos citológicos e teciduais (Feldman et al., 1993).

A molécula de NO é um radical livre (apresenta um elétron desemparelhado na órbita externa), em estado gasoso que difunde, livremente, e permeia membranas rapidamente. Seu papel de mensageiro depende da proximidade entre as células, já que se oxida, rapidamente, ao reagir com a proteína heme e oxigênio. Como resultado, sua meia vida é de, aproximadamente, 3 a 5 segundos, tão curta que se torna muito difícil sua mensuração *in vivo*. Produtos de sua oxidação – nitritos e nitratos – são os principais metabólitos, em meio aquoso, que podem ser usados como indicadores da produção de NO (Orida e Lai, 2000).

Sua síntese ocorre pela transformação do aminoácido L-arginina em L-citrulina e NO, em reação mediada pela enzima sintase do óxido nítrico (NOS) na presença de co-fatores: oxigênio, NADPH e cálcio (Moncada e Higgs, 1993).

A Figura 1 é uma representação da via L-arginina-NO nas células endoteliais e na musculatura lisa dos vasos. Na membrana da célula endotelial, estão representadas as proteínas transportadoras do aminoácido,  $y^+$  e  $y^+L$ . Nitritos e nitratos são produtos da degradação plasmática do NO. O NO produzido sinaliza, quase instantaneamente, a enzima guanilato ciclase solúvel, dando início à

formação de GMPc (monofosfato de guanosina cíclico) – promotor de relaxamento da célula da musculatura lisa do vaso.



**Figura 1:** Via L-arginina e óxido nítrico

A isoforma da NOS de expressão constitutiva (cNOS) é, basicamente, encontrada nas células endoteliais (denominada eNOS, ou tipo I), nos neurônios (nNOS, ou tipo III) e, também, nas células epiteliais, neutrófilos e plaquetas, produzindo NO em quantidades fisiológicas. O estímulo para o início da ação da cNOS ocorre por mediadores, como bradicinina, histamina, fator ativador de plaquetas, acetilcolina e vários leucotrienos. O terceiro tipo de isômero, denominado de induzível (iNOS) ou NOS tipo II, expressa-se sob a ação de citocinas, endotoxinas, interleucinas e outros mediadores inflamatórios, e se expressa, principalmente, em neutrófilos, macrófagos, fibroblastos, células endoteliais e musculatura lisas dos vasos, mediando a produção de grandes quantidades de NO (Moncada et al., 1991).

A produção de NO é mais baixa em pacientes com doença renal crônica (Schmidt et al., 1999; Schmidt e Baylis, 2000).

### 1.2.1 Endotélio Vascular e Óxido Nítrico

O endotélio vascular é um órgão complexo, com múltiplas funções, e não apenas uma barreira física entre a parede do vaso e a corrente sangüínea, como anteriormente pensado. O conhecimento sobre a função da célula endotelial vascular mudou muito, nas últimas décadas, desde que Furchgott e Zawadzki (1980) demonstraram que a camada endotelial controla, ativamente, o tônus vascular. O endotélio é um conjunto de células, altamente especializadas, que regula o complexo ambiente vascular. A célula endotelial é capaz – através de extensa rede de transmissão de dados – de detectar mínimas alterações na pressão arterial, no fluxo sangüíneo, no balanço oxidativo (equilíbrio entre as forças oxidantes e antioxidantes), na coagulação, na ativação da inflamação e do sistema imune. O endotélio expressa-se por diversas moléculas, em resposta a uma extensa variedade de estímulos químicos e mecânicos. Dentre esses, o NO é essencial (Faulx et al., 2003). O endotélio modula o efeito de qualquer substância vasoconstritora ou vasodilatadora. Na maioria das doenças vasculares, não foi demonstrada alteração na produção de NO e, sim, aumento na produção de seus inativadores, como a ânion superóxido (Nascimento et al., 2003).

A enzima eNOS pode ser ativada por um grande número de estímulos, incluindo hipóxia, acetilcolina, bradicinina, serotonina e aumento da tensão de cisalhamento. O estímulo libera NO que produz vasodilatação. A investigação do endotélio vascular passou do âmbito da histologia/morfologia para o da fisiologia e, conseqüentemente, da farmacologia à pesquisa clínica, desde que se descreveu a vasodilatação dependente do endotélio. Este passou a ser considerado um órgão, com funções endócrinas, parácrinas e autócrinas nos leitos capilares.

A pesquisa clínica aplicada, em seres humanos, pode utilizar métodos invasivos e não-invasivos de avaliação da vasodilatação dependente do endotélio (angiografia e ultra-som intravascular, ultra-sonografia bidimensional de alta resolução e pletismografia), ou determinação de substâncias em circulação que indiquem ativação ou lesão endotelial. Em pacientes submetidos à cinecoronariografia – um método invasivo –, utiliza-se uma sonda de ultra-som intracoronariana para medida do fluxo que permite avaliar o grau de vasodilatação

Deleted:

coronariana, antes e após a injeção de acetilcolina e bradicinina, e a hiperemia reativa (Pedro et al., 2003). A vasodilatação dependente do endotélio pode ser avaliada em artérias sistêmicas periféricas, de forma não invasiva, utilizando-se imagens de ultra-som de alta resolução. Esse método compara mudanças de diâmetro da arterial braquial, em resposta ao aumento de fluxo por hiperemia reativa a nitrato sublingual. A hiperemia reativa ocorre quando, após um curto período de isquemia por oclusão arterial, há liberação de mediadores no tecido isquêmico, como adenosina, íons  $H^+$ , fator relaxante derivado do endotélio (EDRF) e outros com conseqüente vasodilatação periférica. Na desobstrução, os vasos respondem à tensão de cisalhamento com dilatação. Em resposta à tensão de cisalhamento, as células endoteliais ativam diversos sistemas, entre os quais os canais de potássio, que hiperpolarizam o endotélio, aumentando a entrada de cálcio na célula. O aumento do cálcio intracelular ativa a NOS que libera NO e leva ao relaxamento da musculatura lisa subjacente, com vasodilatação e aumento do diâmetro arterial. O fenômeno, designado dilatação mediada por fluxo (DMF), é dependente de NO e da integridade funcional do endotélio (Correti et al., 2002; Pedro et al., 2003).

O NO causa relaxamento dos vasos e inibe a liberação de fatores de constrição, a proliferação de miócitos lisos, a adesão leucocitária, a agregação plaquetária e a produção de fator tecidual. No entanto, esses efeitos vasoativos de anticrescimento, antiinflamatórios e antitrombóticos requerem um endotélio intacto, ou a resposta aos liberadores de NO não ocorre.

A disfunção endotelial está associada a grande número de doenças, incluindo as cardiovasculares. A atividade reduzida do NO tem sido descrita na disfunção endotelial de pacientes com IRC. Pacientes em DP têm maior mortalidade e morbidade cardiovascular não explicada por fatores de risco convencionais. Fatores relacionados à IRC ou à diálise podem levar à disfunção endotelial que está associada a desfechos cardiovasculares adversos. Pacientes em DP e com mais de 55 anos têm mortalidade maior que pacientes de hemodiálise (HD). A diferença tem sido atribuída ao risco aumentado de morte por infecção e por doenças cardiovasculares. Entretanto, o aumento de outras comorbidades, nos pacientes em DP, pode ser importante; hipertensão arterial, dislipidemia, diabetes e tabagismo têm alta prevalência em pacientes com IRC, mas não explicam, completamente, o aumento da mortalidade cardiovascular. A disfunção endotelial, acompanhada por

Deleted:



aterosclerose, é complicação conhecida em indivíduos urêmicos. A hipoalbuminemia de pacientes em DP pode se associar à hipercoagulabilidade e à aterogênese. Na evolução de doenças aterotrombóticas, disfunção endotelial é evento precoce e importante (Van Guldener et al., 1998).

Não existe um método considerado como modelo para medir disfunção endotelial. A medida da dilatação da artéria braquial, mediada por fluxo e avaliada por ultra-som com Doppler, tem sido o método mais empregado e parece oferecer as melhores promessas de aplicação clínica. É um procedimento bem tolerado, não invasivo e de baixo risco. A dilatação mediada por fluxo da artéria braquial, após oclusão transitória, pode ser um bom marcador da bioatividade do NO (Faulx et al., 2003). A DMF mede a porcentagem de mudança do diâmetro da artéria, após estímulo, em relação ao diâmetro basal. O valor mínimo da DMF indicativo de função endotelial íntegra é mais que 10% nas mulheres, e mais que 8% em homens (Pedro et al., 2003).

Van Guldener et al. (1998) demonstraram que a vasodilatação, dependente do endotélio, está alterada em pacientes em HD e DP, o que pode sugerir um aumento generalizado da aterogênese e trombogênese endotelial; no entanto, vasodilatação independente do endotélio não se apresenta alterada.

### **1.2.2 Diálise Peritoneal e Óxido Nítrico**

Falência de UF é um dos problemas mais freqüentes em pacientes em DP. Ocorre em 2,6% deles, no primeiro ano, podendo chegar a 31% no sexto ano de tratamento (Heimbürger et al., 1990). Funcionalmente, a falência de UF pode ser explicada por três mecanismos: 1º) aumento efetivo da superfície peritoneal, com aumento de absorção da glicose e dissipação do gradiente de concentração; 2º) redução do número de poros ultrapequenos do endotélio capilar e diminuição da permeabilidade à água; 3º) associação de ambos os mecanismos. Muitas evidências sustentam a hipótese de que a proteína aquaporina-1 seja o poro ultrapequeno, a estrutura responsável por até 50% da ultrafiltração, durante a permanência da solução hipertônica na cavidade. Outra molécula que pode ter papel significativo na

regulação da ultrafiltração é o NO. Além das funções já mencionadas, ele controla a vasodilatação sistêmica e afeta a permeabilidade vascular (Devuyst et al., 2001).

O nitroprussiato de sódio – um doador de NO –, se acrescido ao líquido de diálise, aumenta a área peritoneal efetiva, em pacientes estáveis em DP, enquanto inibidores da NOS, como N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina-metil-ester (L-NAME) aumentam a ultrafiltração (Douma et al., 1997; Breborowicz et al., 1998).

Estudo em ratos com peritonite aguda demonstrou aumento da permeabilidade para pequenos solutos e diminuição da ultrafiltração, acompanhado por aumento de 10 vezes na atividade da NOS (tanto iNOS como eNOS), enquanto as aquaporinas não se modificaram (Combet et al., 1999). A observação de nível aumentado de metabólitos do NO, no dialisado de pacientes com peritonite, juntamente com aumento da UF, em animais tratados com inibidores da NOS, sugere que o NO possa ser um fator crítico na mediação da vasodilatação da peritonite (Douma et al., 1995; Yang et al., 1996; Breborowicz et al., 1998; Combet et al., 1999; Davenport et al., 2004).

Os aspectos acima abordados tornam evidente que a integridade funcional da membrana peritoneal é fundamental para o sucesso do tratamento com CAPD, e que entender sua fisiologia é importante para melhorar a UF e a remoção de solutos. Vários testes podem ser empregados na avaliação das condições biológicas da membrana peritoneal, como o teste de equilíbrio peritoneal descrito por Twardowski et al. (1987), ou a análise da permeabilidade padrão (Pannekeet et al., 1995), e a capacidade pessoal de diálise (Haraldsson, 1995) ou o teste da filtração de sódio (Wang et al., 1997). Outros testes avaliam a quantidade de diálise, como o Kt/V. Este índice de adequação, se diminuído, associa-se com mortalidade aumentada em CAPD (Gotch, 1993; Davies et al, 1998).

A permeabilidade da membrana, no mesmo paciente, depende da presença ou não de peritonite, da composição do dialisado e de outros fatores irritantes da membrana peritoneal. A causa mais comum de mudança das características do transporte, ao longo do tratamento, é, definitivamente, peritonite de repetição que aumenta o transporte de soluto e diminui a UF (Selgas et al., 1994; Davies et al., 1996). A membrana peritoneal é única e individualizada, e deve ser caracterizada antes de o regime de DP ser prescrito. A utilização de glicose hipertônica, no

dialisado, é outro fator de agressão ao peritônio – junto com os produtos finais de glicolisação avançada –, causando mudanças no peritônio semelhantes às que ocorrem na microcirculação de pacientes com diabetes (Krediet et al., 1999; Honda et al., 1999; Vriese et al., 2001). Pacientes com diabetes tendem a ter transporte de soluto acelerado, no início do tratamento (Churchill et al., 1998).

A função da membrana peritoneal influencia o desfecho clínico (Davies, et al., 1998ab; Bargman et al., 2001), e pode mudar com o tempo de tratamento (Davies et al., 1998ab). Com o passar do tempo em diálise, o peritônio tende a aumentar o transporte de soluto e reduzir a UF que, quando avaliados pelo PET, tendem a se tornar alto transportadores. Os pacientes alto transportadores formam o grupo que mais frequentemente deixa o tratamento (Churchill et al., 1998).

Administração de nitroprussiato de sódio (NPS) intraperitoneal demonstrou: aumento no coeficiente de área de transferência de massa (MTAC), para uréia, creatinina e urato; elevação da absorção de glicose; aumento da depuração de  $\beta_2$ -microglobulina, albumina, imunoglobulina G (IgG) e  $\alpha_2$ -macroglobulina. Além disso, o coeficiente de restrição para solutos de baixo peso molecular e macromoléculas foi reduzido (Douma et al., 1997).

Deleted: e

O NO tem importante papel na mediação do processo inflamatório (Moncada, et al., 1991). Os níveis de nitrito estão aumentados na inflamação peritoneal associada à peritonite e podem ser um índice de eficácia do tratamento (Yang et al., 1996). As mudanças induzidas por L-arginina, em peritônio de coelhos, são semelhantes às induzidas pela adição de NPS, sugerindo que tais alterações sejam mediadas pelo NO (Struijk et al., 2001), ainda que as respostas de coelhos e seres humanos sejam algo diferente. As alterações do transporte induzidas pelo NPS são semelhantes às descritas para pacientes altos transportadores e são modificações parecidas às induzidas no peritônio de pacientes expostos por longo prazo a soluções de diálise peritoneal (Douma et al., 1997; Struijk et al., 2001). A atividade da NOS está aumentada em biópsias de peritônio de pacientes em DP por longo tempo, sugerindo que o NO e a NOS influenciem nas mudanças de permeabilidade e no aumento da área peritoneal efetiva (Combet et al., 2000). Aparentemente, nenhum estudo anterior relacionou os níveis de NO com as diferentes categorias de transporte peritoneal, medidas por um teste clinicamente utilizado, como o PET.

## **2 HIPÓTESES**

Pacientes com alto transporte peritoneal apresentam produção maior de NO peritoneal do que pacientes com baixo e baixo-médio transporte. A taxa de UF é tanto menor, quanto maior for o NO peritoneal. A adequação da diálise ( $Kt/V$ ) é tanto pior, quanto maior for o NO peritoneal. A DMF é maior em pacientes com alto transporte.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Estudar as variações do óxido nítrico, conforme as características de transporte peritoneal (baixo, baixo-médio, alto-médio ou alto), em pacientes com insuficiência renal crônica (IRC) em diálise peritoneal.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

1. Medir e comparar a concentração de óxido nítrico plasmático e peritoneal de pacientes em diferentes categorias de transporte peritoneal;
2. Associar taxa de UF e níveis de óxido nítrico (plasmático e peritoneal);
3. Associar Kt/V e os níveis de óxido nítrico (plasmático e peritoneal).
4. Avaliar a DMF nas diferentes categorias de transporte peritoneal.

## 4 METODOLOGIA

O estudo foi aprovado pela Comissão Científica (Anexo A) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Anexo B) do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Todos os pacientes tiveram seus dados registrados em um Protocolo (Anexo C) e foram esclarecidos sobre a importância da pesquisa, seus riscos e benefícios, sendo incluídos somente após assinarem um documento de Consentimento Pós-informado (Anexo D).

### 4.1 DELINEAMENTO

Estudo observacional, transversal e contemporâneo.

Deleted: ¶

### 4.2 DEFINIÇÕES

**a) IRC:** quadro clínico e laboratorial de uremia resultante da deteriorização progressiva e irreversível da função renal, necessitando de terapia de substituição da função renal.

Deleted:

- b) Diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD):** processo de substituição da função renal que utiliza o peritônio como membrana de troca. A troca da solução, em bolsas, é feita pelo próprio paciente, ou por terceiro. Em geral, são realizadas 4 a 5 trocas por dia, empregando-se bolsas com volume de 2,0 a 2,5 litros, contendo glicose como substância osmoticamente ativa, em concentrações de 1,5%, 2,5% ou 4,25%.
- c) Diálise peritoneal automatizada (DPA):** procedimento de diálise peritoneal que emprega uma máquina cicladora para realizar as trocas do líquido de diálise.
- d) D/P creatinina:** a razão entre a concentração de creatinina no líquido peritoneal e no plasma.
- e) Teste de equilíbrio peritoneal (PET):** método para estimar o transporte de solutos de pacientes em DP, empregando o parâmetro D/P de creatinina para separar os pacientes em quatro categorias (Twardowski et al., 1987):
- |                               |   |             |
|-------------------------------|---|-------------|
| 1ª) baixo transportador       | – | 0,34 – 0,50 |
| 2ª) baixo-médio transportador | – | 0,51 – 0,64 |
| 3ª) alto-médio transportador  | – | 0,65 – 0,80 |
| 4ª) alto transportador        | – | 0,81 – 1,03 |

Observação: para melhor análise dos dados, a D/P de creatinina foi reclassificada, dividindo a amostra em *quartis*, da seguinte forma:

- |                               |   |             |
|-------------------------------|---|-------------|
| 1º) baixo transportador       | – | 0,39 – 0,49 |
| 2º) baixo-médio transportador | – | 0,50 – 0,60 |
| 3º) alto-médio transportador  | – | 0,62 – 0,72 |
| 4º) alto transportador        | – | 0,73 – 0,95 |
- f) Taxa de UF:** taxa de remoção do solvente (volume) pela DP. Foi avaliada usando o PET, com bolsa contendo 2,5% de glicose, após 4 horas de permanência. Na suposição de falência de UF, foi realizado teste com glicose na concentração de 4,25%.

- g) Kt/V:** fórmula para avaliar a depuração peritoneal de uréia, em função de tempo e volume corporal do paciente. Considerou-se como índice de adequação de diálise.
- h) Peritonite:** inflamação da membrana peritoneal. Considerou-se peritonite, se a contagem de leucócitos no efluente peritoneal foi acima de 100 por ml, com predomínio de neutrófilos (peritonite bacteriana).
- i) Óxido nítrico (NO):** molécula gasosa constituída por um átomo de nitrogênio e outro de oxigênio, que é liberada pelo endotélio como substância vasorelaxante.
- j) Dilatação mediada por fluxo (DMF):** variável empregada para avaliar a função endotelial, pela medida da vasodilatação induzida pelo fluxo de sangue – tensão de cisalhamento – sobre o vaso. A artéria braquial foi o vaso empregado na avaliação.

Deleted: ¶

## 4.3 PACIENTES

### 4.3.1 Critérios de Inclusão/Exclusão

Foram incluídos pacientes adultos, com idade acima de 20 anos, com IRC, em diálise peritoneal (CAPD e DPA), sem peritonite há pelo menos um mês, e livres de intercorrências clínicas agudas que necessitassem internação hospitalar, em acompanhamento no Serviço de Nefrologia do Hospital São Lucas da PUCRS.

Pacientes com infecções ou febre foram avaliados após completa recuperação. Pacientes com infecção do local de saída, sem manifestações sistêmicas ou peritonite, não foram excluídos.

Foram excluídos pacientes que manifestaram desejo de retirar o consentimento inicial.



### 4.3.2 Variáveis Clínicas

Foram coletados os seguintes dados clínicos: idade (anos); sexo (masculino/feminino); raça/cor (branco/não-branco); causa da insuficiência renal (nefropatia diabética – tipo 1 ou 2, glomerulopatia primária, rins policísticos, nefrosclerose hipertensiva, lúpus eritematoso sistêmico, desconhecida e outros); tempo em diálise (meses); tempo em diálise peritoneal (meses); número de peritonites (número); diurese residual (ml); tabagismo (sim/não); consumo regular de álcool (sim/não); sistema de diálise peritoneal (CAPD ou DPA). Dados de exame físico, como: peso (kg); altura (cm); pressão arterial sistólica e diastólica (mmHg). A pressão arterial foi medida no membro superior direito (MSD) ou esquerdo [quando fístula artério-venosa (FAV) no MSD], com o paciente sentado, após 5 minutos de repouso. Os sons da fase I de Korotkoff foram considerados como a pressão sistólica, e os da fase V, como a diastólica. Nos pacientes com sons de fase IV e V muito díspares, ambos os valores foram registrados.

### 4.3.3 Avaliações Laboratoriais

**a) Glicose (mg/dl):** reação cinética em UV, automatizada (Mega-Bayer, Alemanha), conforme rotina do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital São Lucas/PUCRS.

**b) Uréia (mg/dl):** método da urease em UV, automatizado (Mega-Bayer, Alemanha), conforme rotina do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital São Lucas/PUCRS.

**c) Creatinina (mg/dl):** método de Jaffé, automatizado, sem desproteinização (níveis normais: 0,5 a 1,2 mg/dl) (Mega-Bayer, Alemanha), conforme rotina do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital São Lucas/PUCRS.

A alta concentração de glicose presente no dialisado interfere na dosagem, aumentando o nível de creatinina. Para corrigir a interferência, foi utilizado um fator de correção, calculado para cada bolsa de glicose a 2,5%, dosando-se glicose e creatinina numa bolsa nova e, após, dividindo-se o

valor da creatinina pelo da glicose. Este valor foi o fator de correção empregado (Prowant e Schimidt, 1991). O PET foi calculado com o valor corrigido de creatinina.

**d) Óxido nítrico:** as dosagens de nitritos e nitratos foram realizadas em um *Nitric Oxide Analyzer 280* (Sievers, USA), no Laboratório de Nefrologia do Instituto de Pesquisas Biomédicas/PUCRS. A detecção do produto da reação foi feita por quimioluminescência. O sistema de dosagem dos produtos, em amostras líquidas, é constituído de uma câmara de purga, em que a amostra é colocada para que ocorra a reação, permitindo que somente NO seja liberado para leitura. O gás reage com ozônio, emitindo luz, cuja intensidade é medida em milivolts, e corresponde à quantidade de NO presente na amostra. Os resultados foram relatados em micromolar.

As dosagens de nitritos e nitratos foram realizadas a 94°C, com o agente redutor cloreto de vanádio (8%), diluído em ácido clorídrico (1M), para reverter os metabólitos a NO. Uma curva de calibração incluiu concentrações em duplicata que variaram de 0,01 a 10µM. O coeficiente de correlação entre pontos da curva foi de 0,9975 (Anexo E).

As amostras de soro estocadas a -80°C foram desproteinizadas por incubação (3:1) com etanol, em banho-de-gelo, por 30 minutos. Centrifugou-se a 14.000 g e retirou-se o sobrenadante para análise. As concentrações séricas de nitritos e nitratos foram calculadas por comparação com as soluções-padrão. Finalmente, a média das duplicatas foi multiplicada por três, para corrigir a diluição das amostras, empregada no procedimento de desproteíntização.

#### 4.3.4 Avaliações Clínicas

**a) Kt/V:** para cálculo do Kt/V, foram empregadas as fórmulas de rotina do Serviço de Nefrologia do HSL-PUCRS, conforme descrito em D'Avila e Figueiredo (1996):

$$K \text{ (depuração)} = \frac{\text{volume drenado 24h}}{\text{Tempo (1440 min)}} \times \frac{\text{uréia peritoneal}}{\text{uréia plasmática}}$$

**b) Fórmula de Watson para cálculo de volume (V) corpóreo:**

Homens =  $2447 - (95,16 \times \text{idade}) + (107,4 \times \text{altura}) + 336,2 \times \text{peso}$

Mulheres =  $-2097 + (106,9 \times \text{altura}) + (246,6 \times \text{peso})$

**c) Kt/V diário =  $(K \times t) / V$  ; Kt/V semanal = Kt/V diário x 7**

**d) PET:** para avaliação do PET foi empregada a rotina do Serviço de Nefrologia do HSL-PUCRS, conforme descrito anteriormente (D'Avila e Figueiredo, 1996), e os resultados classificados, conforme Twardowski et al. (1987). O PET nos pacientes de DPA foi realizado por método desenvolvido durante as etapas iniciais da presente tese (Figueiredo et al., 2002). O estudo referente à padronização do novo método foi publicado em "*Advances in Peritoneal Dialysis*"<sup>1</sup>, e o texto completo encontra-se em anexo (Anexo F).

**e) Dilatação mediada por fluxo:** a DMF foi realizada na Unidade de Ultrasonografia, de acordo com recomendações do *International Brachial Artery Reactivity Task Force* (Corretti et al., 2002). Nenhum paciente estava em uso de drogas doadoras de NO ou de inibidores da fosfodiesterase. Um transdutor linear de 7,0 MHz (Acuson 128XP/10, Siemens, USA) foi empregado para realizar a varredura longitudinal da artéria braquial e medir seu diâmetro (em milímetros), no final da diástole. Após a medida em repouso, a braçadeira de um esfigmomanômetro foi colocada sobre o terço médio da artéria, e o manguito inflado até pressão de 300 mmHg, por 4,5 minutos. Uma segunda medida foi realizada 55 a 60 segundos após a deflação do manguito. A DMF foi calculada para cada paciente, como a porcentagem de aumento do diâmetro da artéria, durante a condição de aumento de fluxo (hiperemia reativa), em relação ao diâmetro em condições basais (Celermajer et al., 1994; Pedro e al., 2003).

---

<sup>1</sup> *Advances in Peritoneal Dialysis*. 2003, 18:75-77.

#### 4.4 PROCEDIMENTOS

Os pacientes foram convidados a participar da pesquisa, sendo as dúvidas esclarecidas. A data da avaliação foi marcada, preferentemente, por ocasião da revisão clínica mensal, quando os exames de rotina foram coletados. Foram orientados a comparecer pela manhã, em jejum de 12 horas, trazendo bolsas das 24 horas anteriores. Para pacientes em DPA, foi solicitada uma amostra do líquido drenado no tratamento anterior, assim como o volume total de UF. Os pacientes continuaram as trocas, conforme rotina, para avaliação de PET e Kt/V.

Os pacientes foram classificados por suas características de transporte (PET), bem como foram avaliadas as relações do NO peritoneal e sérico com a qualidade de diálise (Kt/V) e a taxa de UF.

##### 4.4.1 Técnica para a Avaliação do Kt/V

1. Paciente trouxe as bolsas das 24 horas anteriores à consulta marcada;
2. as bolsas foram homogeneizadas; o volume total medido, e a amostra do líquido peritoneal colhida;
3. a amostra de sangue foi colhida para o teste do PET;
4. o paciente seguiu com a avaliação do PET.

Deleted: ¶

##### 4.4.2 Técnica para a Realização do PET

- 1º) A bolsa de 2 l de glicose a 2,5% foi aquecida (temperatura corporal);

Formatted: Bullets and Numbering

- 2º) o líquido noturno foi drenado da cavidade, durante 20 minutos, com o paciente sentado ou em posição ortostática. O volume total foi medido e anotado;
- 3º) solução fresca foi infundida a 400 ml/ 2 minutos (tempo total de infusão de 10 minutos). Paciente deita, rolando de um lado para o outro, a cada 400 ml infundidos, para perfeita homogeneização;
- 4º) tempo de permanência zero foi o momento de término da infusão;
- 5º) amostra do líquido foi coletada no tempo zero e após duas horas. Duzentos ml de líquido foram drenados e homogeneizados na bolsa, 10 ml colhidos e os 190 ml restantes reinfundidos;
- 6º) amostra de sangue venoso foi coletada com duas horas de permanência;
- 7º) ao fim de quatro horas de permanência, drenada a cavidade, durante 20 minutos, com o paciente em posição ortostática;
- 8º) homogeneizado, por inversão, o conteúdo da bolsa. Amostra de 10 ml foi coletada;
- 9º) pesado e anotado o volume drenado; acrescentado à medida do volume final, o volume retirado para dosagens.

A taxa de UF foi avaliada pelo volume drenado.

#### **4.4.3 Análise Estatística**

Dados categóricos foram descritos por frequência e como percentagens. Para variáveis contínuas, utilizou-se média e desvio padrão e, na presença de assimetria, mediana e amplitude interquartil.

Para variáveis categóricas, os grupos foram comparados pelo teste do qui-quadrado, ou teste exato de Fisher. Para comparação de variáveis contínuas, usou-

se análise de variância com um critério de classificação (*One way ANOVA*) e teste *post-hoc* (Duncan), para localização de diferenças. Dados assimétricos foram transformados a postos (*ranks*), antes da aplicação do teste ANOVA. A avaliação de tendências lineares foi realizada por regressão linear simples, após transformação logarítmica dos dados.

Associações entre dados quantitativos foram avaliadas com o coeficiente de correlação linear de Pearson. O nível de significância adotado foi de  $\alpha = 0,05$ .

Para as análises, empregou-se o pacote estatístico *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS versão 11 para Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

## 5 CONSIDERAÇÕES SOBRE O TRABALHO

O Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde não exige um formato específico para a apresentação da tese. Seguiram-se recomendações adaptadas de Spector (2001), sendo as referências bibliográficas apresentadas conforme as normas do estilo Vancouver, e as citações no texto seguiram o sistema autor-data.

O presente trabalho deu início à linha de pesquisa que investiga DP e função do peritônio, no Serviço de Nefrologia do Hospital São Lucas/Laboratório de Pesquisa de Nefrologia do Instituto de Pesquisas Biomédicas. Durante o curso de doutorado, os dados da tese foram publicados (Anexo F), estão sendo enviados para publicações (Anexos G e H), ou foram apresentados em eventos científicos (Anexo I).

O método descrito para avaliação do PET, em pacientes em DPA, é original, desenvolvido pela autora, e foi introduzido, na literatura mundial, durante o desenvolvimento do presente trabalho (Anexo F). O método de avaliação da função endotelial por DMF foi desenvolvido e introduzido na Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul para a realização do trabalho.

A autora participou da revisão da literatura, do desenvolvimento da idéia, da preparação do projeto, da seleção e atendimento dos pacientes, da coleta do material, do preparo das amostras para avaliação laboratorial, da análise e interpretação dos dados e da redação dos artigos. Realizou as entrevistas e avaliações na Unidade Renal e Ambulatório de Enfermagem em Nefrologia do

Hospital São Lucas-PUCRS, onde contou com o apoio da Enfermeira Adriana Conti. As medidas de NO foram realizadas pela Dra. Bartira E. Pinheiro da Costa, auxiliada pela química Rosa Maria Selbach Souza, no Laboratório de Nefrologia do IPB. As avaliações de DMF foram realizadas pelos Drs. Elton Torres e Breno Acauan, no Serviço de Ultra-sonografia do Hospital São Lucas-PUCRS, com auxílio da autora e do médico residente em Nefrologia, Dr. André Poitevin. Dados laboratoriais de rotina na investigação dos pacientes foram obtidos no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital São Lucas. Estudo do transporte eritrocitário de L-arginina foi realizado pela acadêmica de farmácia e aluna de iniciação científica Priscilla Barcelos Almeida, no Laboratório de Nefrologia, e apresentado como trabalho de conclusão do seu curso de Farmácia (dados não incluídos na tese - Anexo J). As análises estatísticas foram realizadas com o apoio e orientação do Prof. Dr. Mário Bernardes Wagner.



## 6 RESULTADOS

Foram estudados 41 pacientes portadores de IRC, em diálise peritoneal. As características clínicas e demográficas são apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1:** Variáveis demográficas e clínicas dos pacientes estudados (n=41)

Variável	Sumário
Idade (anos)	50±17
Gênero feminino n (%)	23 (56,1)
Raça branca n (%)	36 (87,8)
Sistema de tratamento n (%)	
CAPD	35 (85,5)
DPA	6 (14,5)
Tempo em diálise (meses)	25 (8,9 - 49)
Tabagismo n (%)	13 (32)
Consumo regular de álcool n (%)	4 (10)
Pressão arterial	
Sistólica (mmHg)	134±23
Diastólica (mmHg)	84±16
Dados da diálise peritoneal	
Kt/V semanal	1,81±0,33
D <sub>4</sub> /D <sub>0</sub> glicose	0,54±0,11
D/P creatinina	0,62±0,14
Ultrafiltração (ml)	400 (300-450)
Diurese residual (ml)	200 (0-500)

Nota: Os dados são apresentados como média ± desvio-padrão, mediana (amplitude interquartil: P25 – P75) ou frequência (percentual) CAPD: Diálise peritoneal ambulatorial contínua; DPA: diálise peritoneal automatizada, Kt/V: teste de adequação; D<sub>4</sub>/D<sub>0</sub>: glicose no dialisado de 4 horas sobre glicose no dialisado zero hora; D/P: dialisado de 4 horas sobre soro.

Os dados laboratoriais de cada paciente são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2:** Dados laboratoriais dos pacientes estudados (n=41)

Variável	Média±desvio-padrão
Hematocrito (%)	33±9
Hemoglobina (g/dl)	9,3±3,0
Leucócitos (mm <sup>3</sup> )	8146±778
Uréia (mg/dl)	102,9±29
Cálcio (mg/dl)	8,5±0,4
Fósforo (mg/dl)	3,4±0,3
Potássio (mEq/l)	3,9±0,8
Creatinina (mg/dl)	10,2±2,5
Alanina transferase (ALT) (U/l)	11,0±9,9
Albumina (g/dl)	3,35±0,06

As doenças de base no grupo de pacientes estudados, segundo informações contidas nos prontuários, estão descritas na Tabela 3, na qual hipertensão arterial sistêmica foi o diagnóstico com maior prevalência, seguido por nefropatia diabética.

**Tabela 3:** Doenças de base da amostra (n=41)

Doença de base	N	%
Hipertensão	17	41,5
Diabete	5	12,2
Rins policísticos	4	9,8
Lupus Eritematoso Sistêmico	3	7,3
Glomerulonefrites	3	7,3
Outra	9	22,0

Nota: Os dados são apresentados como frequência ou percentual.

O PET foi realizado em todos os pacientes, independentemente do tipo de diálise peritoneal (CAPD ou DPA). Twardowski e et al. (1987) empregaram a média e o desvio-padrão para classificar as quatro categorias de transporte peritoneal: baixo (0,34 – 0,50); baixo-médio (0,51 – 0,64); alto-médio (0,65 – 0,80) e alto transportador (0,81 – 1,03).

No presente estudo, a classificação pelos valores propostos por Twardowski et al. (1987) resultaram em distribuição menos uniforme da amostra, e muitos pacientes em situação limítrofe, entre as diferentes categorias. Optou-se por

reclassificar as categorias por *quartis* de D/P de creatinina, resultando a seguinte distribuição: baixo (0,39 – 0,49); baixo-médio (0,50 – 0,60); alto-médio (0,62 – 0,72) e alto transportador (0,73 – 0,95). A distribuição por grupos ficou mais uniforme, com valores minimamente diferentes dos originais. Contudo, a análise estatística foi feita para ambas as classificações, por *quartil* e padrão. Os resultados foram semelhantes e os dados, foram apresentados conforme a classificação por *quartil*.

Deleted:

A Tabela 4 apresenta a comparação dos valores da variável D/P de creatinina para o PET padrão e o PET por *quartil*, nas diferentes categorias de função peritoneal. Na reclassificação, sete pacientes alocados ao grupo alto-médio passaram ao alto, e três pacientes baixo-médio passaram à categoria alto-médio. Todos os demais permaneceram na mesma categoria. Os valores médios de D/P de creatinina, entre as duas classificações, foram significativamente diferentes apenas na categoria alto-médio. Nas demais categorias, não houve diferença estatisticamente significativa.

**Tabela 4:** Variável D/P de creatinina nas diferentes categorias de função peritoneal: teste de equilíbrio peritoneal padrão e o estabelecido por *quartil*

Categoria		Padrão (n)	Quartil (n)	P*
Alto transportador	Média (DP)	0,90±0,05	0,80±0,07	0,060
	Mínimo – Máximo	0,85 – 0,95 (3)	0,73 – 0,95 (10)	
Alto-médio transportador	Média (DP)	0,72 ± 0,05	0,67 ± 0,04	<b>0,005</b>
	Mínimo – Máximo	0,65 ± 0,81 (15)	0,62 ± 0,72 (11)	
Baixo-médio transportador	Média (DP)	0,56 ± 0,05	0,55 ± 0,04	0,397
	Mínimo – Máximo	0,50 – 0,62 (14)	0,50 – 0,60 (11)	
Baixo transportador	Média (DP)	0,44 ± 0,03	0,44 ± 0,03	1,000
	Mínimo – Máximo	0,39 – 0,49 (9)	0,39 – 0,49 (9)	

Nota: DP= desvio padrão. \*Teste t para amostras independentes.

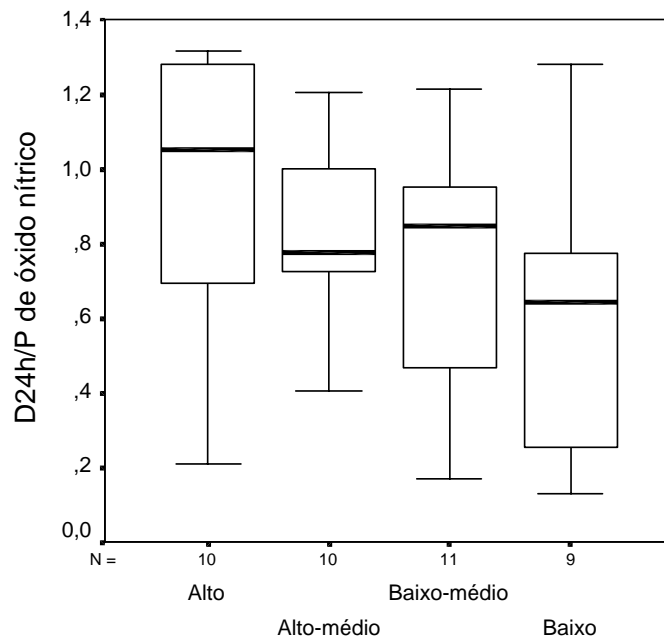
A Tabela 5 mostra os valores de metabólitos de NO, no soro e em peritônio, por categorias de transporte peritoneal. O NO, no soro e no líquido peritoneal de 24 horas, ou de 4 horas, não foi diferente entre as categorias de transporte peritoneal. A D/P de NO de 24 horas não foi diferente nas categorias ( $p=0,096$ ), mas a observação gráfica dos dados (Figura 2) sugeriu a existência de um aumento progressivo, menor em pacientes baixo transportadores. Para avaliar tendências, realizou-se regressão linear simples, com valores de D/P de NO de 24 horas, nas diferentes categorias de transporte, que apresentou significância ( $P= 0,012$ ). A variável D/P de NO de 4 horas variou entre grupos, sendo que as categorias alto e alto-médio foram diferentes das baixo-médio e baixo.

A determinação de NO em um paciente do grupo alto médio não foi realizada.

**Tabela 5:** Óxido nítrico nas diferentes categorias do PET por *quartil*

Óxido Nítrico	Classificação					P*
	Total (n=40)	Alto (n=10)	Alto-médio (n=10)	Baixo-médio (n=11)	Baixo (n=9)	
Sérico ( $\mu\text{M}$ )	47 (31-85)	37 (25-91)	45 (18-85)	52 (37-82)	58 (30-136)	0,593
D <sub>24h</sub> ( $\mu\text{M}$ )	39 (22-50)	44 (23-62)	38 (17-52)	43 (22-53)	29 (20-43)	0,619
D <sub>24h</sub> /P ( $\mu\text{M}$ )	0,78 (0,50-1,05)	1,05 (0,68-1,28)	0,77 (0,67-1,01)	0,84 (0,44-0,95)	0,64 (0,22-0,79)	0,096
D <sub>4h</sub> ( $\mu\text{M}$ )	33 (20-46)	37 (27-97)	42 (19-60)	33 (15-46)	28 (16-40)	0,437
D <sub>4h</sub> /P ( $\mu\text{M}$ )	0,77 (0,54-1,00)	0,96 (0,75-1,15) <sup>a</sup>	0,96 (0,78-1,06) <sup>a</sup>	0,63 (0,34-0,78) <sup>b</sup>	0,57 (0,28-0,68) <sup>b</sup>	<b>0,003</b>

Nota: Os dados são apresentados como mediana (amplitude interquartil: P25 – P75). D<sub>24h</sub>: dialisado de 24 horas; D<sub>24h</sub>/P: dialisado de 24 horas sobre soro; D<sub>4h</sub>: dialisado de 4 horas; D<sub>4h</sub> /P: dialisado de 4 horas sobre soro. \*ANOVA, sendo que dados assimétricos foram transformados a postos, antes do teste estatístico. Letras-índices diversas representam categorias com diferença significativa ( $p<0,05$ ), pelo teste de Duncan.



Categorias de PET por quartil

**Figura 2:** *Box-plot* representando a razão de óxido nítrico no dialisado de 24 horas sobre o óxido nítrico sérico (D24h/P NO), nas diferentes categorias de transporte peritoneal, classificado por PET *quartil*. A caixa representa a amplitude interquartil 75 e 25; a linha dentro da caixa mostra a mediana; e as linhas de cima e de baixo são os valores máximos e mínimos.

A Tabela 6 apresenta as variáveis demográficas, nas diferentes categorias de transporte peritoneal.

Os grupos foram homogêneos, quanto à distribuição por gênero, idade, raça, tabagismo e história de ingestão regular de álcool. O tempo em diálise peritoneal foi diferente entre os grupos ( $p=0,04$ , Anova), sendo maior na categoria alto-médio, em comparação com os grupos baixo-médio e baixo. As pressões arteriais sistólica e diastólica não foram diferentes entre as distintas categorias de transporte peritoneal. O Kt/V, a ultrafiltração e a diurese residual também não foram diferentes nas diversas categorias.

Como era esperado, o D/P creatinina e o  $D_4/D_0$  de glicose foram diferentes entre as quatro categorias. Essas foram as variáveis empregadas para separar os grupos, sendo que ambas apresentaram distribuição normal.

**Tabela 6:** Distribuição das variáveis demográficas nas diferentes categorias PET por quartil.

Classificação	Total (n=41)	Alto (n=10)	Alto-médio (n=11)	Baixo-médio (n=11)	Baixo (n=9)	P
Sexo feminino (%)	56,1	70,0	27,3	54,5	77,8	0,101 <sup>#</sup>
Idade (anos)	49,9 ± 17,3	48,4 ± 16,1	54,0 ± 17,4	52,6 ± 18,7	43,3 ± 17,4	0,539*
Raça branca (%)	87,8	80,0	81,8	90,9	100	0,515 <sup>#</sup>
Tabagismo (%)	31,7	20,0	18,2	45,5	44,4	0,362 <sup>#</sup>
<u>Consumo regular álcool</u> (%)	9,8	0	9,1	18,2	11,1	0,574 <sup>##</sup>
Tempo de diálise (meses)	25 (8,5 - 49)	33 (27 - 66) <sup>a,b</sup>	46 (22- 76) <sup>b</sup>	9 (5- 47) <sup>a</sup>	10 (6- 29) <sup>a</sup>	<b>0,040*</b>
PAS (mmHg)	134 ± 23	136 ± 26,3	141 ± 17,0	130 ± 25,7	130 ± 25,5	0,673*
PAD (mmHg)	84 ± 16	84 ± 22,2	89 ± 11,4	79,1 ± 13,7	82,2 ± 14,8	0,527*
Kt/V semanal	1,81 ± 0,33	1,76 ± 0,28	1,70 ± 0,32	2,02 ± 0,34	1,76 ± 0,30	0,108*
D <sub>4</sub> /D <sub>0</sub> glicose	0,54 ± 0,11	0,39 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,52 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,60 ± 0,08 <sup>c</sup>	0,66 ± 0,05 <sup>d</sup>	<b>&lt;0,001*</b>
D/P creatinina	0,62 ± 0,14	0,80 ± 0,07 <sup>a</sup>	0,66 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,55 ± 0,04 <sup>c</sup>	0,44 ± 0,03 <sup>d</sup>	<b>&lt;0,001*</b>
UF (ml)	400 (300-450)	300 (100-425)	400 (300-400)	300 (200-400)	400 (350-500)	0,072*
Diurese residual (ml)	200 (0-500)	250 (0-400)	150 (0-500)	200 (0-500)	300 (100-600)	0,704*

Nota: Os dados são apresentados como média (±desvio-padrão), percentual ou mediana (amplitude interquartil: P25 – P75). PAS: pressão arterial sistólica (mmHg); PAD: pressão arterial diastólica (mmHg); Kt/V: teste de adequação; D/Pcreatinina: razão de creatinina entre dialisado e plasma, após 4 horas; D<sub>4</sub>/D<sub>0</sub>: razão de glicose no dialisado no tempo zero e em 4 horas; UF: ultrafiltração; PET: teste de equilíbrio peritoneal; \*ANOVA, sendo que dados assimétricos foram transformados a postos, antes do teste estatístico). <sup>#</sup> Qui quadrado ou <sup>##</sup> Fisher. Letras-índices diversas representam categorias com diferenças significativas (p<0,05), pelo teste de Duncan.

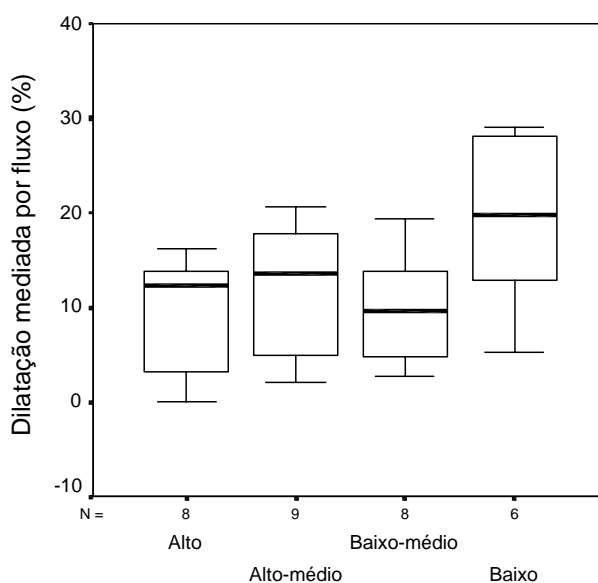
A Tabela 7 apresenta a comparação das variáveis de função endotelial, entre as diferentes categorias de função peritoneal, nos 31 pacientes submetidos a DMF.

Não houve diferença significativa entre os grupos, em relação ao diâmetro pré e pós-oclusão do fluxo sanguíneo, ou a DMF. Apesar disso, chamou a atenção que a DMF foi maior no grupo baixo transportador, diminuindo em direção ao grupo alto transportador (Figura 3).

**Tabela 7:** Dilatação mediada por fluxo (DMF) da artéria braquial nas diferentes categorias de transporte da membrana peritoneal.

	Categorias do Teste de Equilíbrio Peritoneal					P*
	Total (n=31)	Alto (n=8)	Alto Médio (n=9)	Baixo Médio (n=8)	Baixo (n=6)	
Diâmetro inicial (mm)	3,9 ± 0,7	3,7 ±0,6	4,3 ±0,8	3,9 ±0,6	3,6 ±0,5	0,119
DMF (%)	12,8 (5,1-17,8)	12,3 (1,6-14,2)	13,5 (3,7-19)	9,6 (4,5-14,2)	19,8 (10,9-28,4)	0,070

Nota: Dados apresentados como média ( $\pm$  desvio padrão) ou mediana (intervalo interquartil, P25 – P75). DMF: dilatação mediada por fluxo. \* ANOVA, sendo os dados assimétricos transformados a postos, antes do teste estatístico.



**Figura 3:** *Box-plot* representando a dilatação mediada por fluxo nas diferentes categorias de transporte peritoneal classificado por PET *quartil*. A caixa representa a amplitude interquartil 75 e 25, a linha dentro da caixa mostra a mediana e as linhas de cima e de baixo são os valores máximos e mínimos.

Para avaliação de tendências, realizou-se regressão linear simples com valores de DMF, nas diferentes categorias de transporte. O teste para tendência linear apresentou  $P=0,126$ , enquanto, na análise com dados obtidos pela transformação logarítmica,  $P=0,099$ . Apesar de a diferença não ser significativa, e

baseado em simulações com os dados, há a possibilidade de que um erro tipo II esteja presente para esta variável.

A Tabela 8 mostra a análise das correlações entre algumas variáveis clínicas, de permeabilidade peritoneal e de qualidade da diálise, e as variáveis relacionadas ao NO.

Os transportes de soluto, verificados pela permeabilidade da glicose e da creatinina tiveram correlação significativa entre si e com a UF.

Houve correlação significativa entre D/P de glicose e D/P de creatinina com D/P 24h NO e D/P 4h NO. A UF também se correlacionou com D/P 24h NO, mas não foi significativamente relacionada com D/P4h NO. O NO sérico correlacionou-se com o NO peritoneal de 24 e de 4 horas, e com as variáveis de permeabilidade ao NO (D/P). O NO de 24 e de 4 horas, no dialisado, estiveram significativamente correlacionados entre si. D/P24 NO e D/P4h NO estiveram correlacionadas de forma significativa. É interessante observar que o Kt/V não foi relacionado com os dados de NO.

Também, não houve correlação das pressões arteriais com qualquer das variáveis de função peritoneal.

Procuraram-se correlações entre a DMF e variáveis clínicas, de permeabilidade peritoneal, de qualidade da diálise e medidas do NO. Houve relação inversa com o diâmetro inicial do vaso ( $r=-0,443$ ,  $p=0,013$ ), com os NO peritoneal de 24h ( $r=-0,393$ ,  $p=0,029$ ) e de 4 horas ( $r=-0,358$ ,  $p=0,048$ ). Por outro lado, a DMF esteve diretamente correlacionada com o  $D_4/D_0$  de glicose ( $r=0,358$ ,  $p=0,048$ ). A DMF não apresentou correlação significativa os parâmetros D/P creatinina, Kt/V e UF.



**Tabela 8:** Coeficientes de correlação de Pearson e respectivas significâncias, entre as variáveis clínicas, função peritoneal, NO e transporte de membrana

Característica	PAS	PAD	Kt/V	D <sub>4</sub> /D <sub>0</sub> glicose	D/P creatinina	UF	NO s	D <sub>24h</sub> NO	D <sub>24h</sub> /P NO	D <sub>4h</sub> NO
PAS (mmHg)	X									
PAD (mmHg)	<b>0,749</b> <b>(&lt;0,001)</b>	X								
Kt/V	-0,095 (0,553)	-0,304 (0,054)	X							
D <sub>4</sub> /D <sub>0</sub> glicose	-0,221 (0,166)	-0,218 (0,172)	0,238 (0,134)	X						
D/P creatinina	0,092 (0,566)	0,106 (0,511)	-0,212 (0,184)	<b>-0,913</b> <b>(&lt;0,001)</b>	X					
UF, (ml)	0,165 (0,304)	0,203 (0,203)	-0,217 (0,172)	<b>0,326</b> <b>(0,022)</b>	<b>-0,364</b> <b>(0,019)</b>	X				
NO sérico (µM)	-0,010 (0,949)	-0,035 (0,829)	0,092 (0,572)	0,178 (0,272)	-0,175 (0,280)	0,283 (0,077)	X			
D <sub>24h</sub> NO (µM)	0,179 (0,269)	0,139 (0,394)	0,076 (0,641)	-0,186 (0,250)	0,134 (0,411)	-0,071 (0,661)	<b>0,590</b> <b>(&lt;0,001)</b>	X		
D <sub>24h</sub> /P NO (µM)	0,226 (0,160)	0,219 (0,175)	0,011 (0,948)	<b>-0,436</b> <b>(0,005)</b>	<b>0,379</b> <b>(0,016)</b>	<b>-0,568</b> <b>(&lt;0,001)</b>	<b>-0,493</b> <b>(0,001)</b>	0,198 (0,221)	X	
D <sub>4h</sub> NO (µM)	0,131 (0,422)	-0,005 (0,976)	-0,019 (0,908)	-0,254 (0,113)	0,189 (0,244)	0,084 (0,606)	<b>0,684</b> <b>(&lt;0,001)</b>	<b>0,628</b> <b>(&lt;0,001)</b>	-0,218 (0,178)	X
D <sub>4h</sub> /P NO (µM)	0,164 (0,313)	0,055 (0,736)	-0,143 (0,380)	<b>-0,533</b> <b>(&lt;0,001)</b>	<b>0,476</b> <b>(&lt;0,002)</b>	-0,226 (0,160)	<b>-0,360</b> <b>(0,023)</b>	-0,114 (0,485)	<b>-0,329</b> <b>(0,038)</b>	<b>0,337</b> <b>(0,034)</b>

Deleted: L

Deleted: u

Deleted: u

Deleted: u

Deleted: u

Nota: Os resultados são apresentados como coeficiente *r* de Pearson e (P). PAS: pressão arterial sistólica (mmHg); PAD: pressão arterial diastólica (mmHg); Kt/V: teste de adequação; D/P creatinina: razão de creatinina no dialisado após 4 horas e no soro; D<sub>4</sub>/D<sub>0</sub>: razão de glicose no dialisado, no tempo zero e em 4 horas; UF: ultrafiltração; D<sub>24h</sub>: dialisado de 24 horas; D<sub>24h</sub>/P: dialisado de 24 horas sobre soro; D<sub>4h</sub>: dialisado de 4 horas; D<sub>4h</sub>/P: dialisado de 4 horas sobre soro.

Deleted: a

Deleted: sobre

Deleted: D

Deleted: plasma

Deleted: D

Deleted: D

Deleted: plasma

## 7 DISCUSSÃO

O presente estudo analisa o papel do NO em pacientes com IRC em DP por diferentes categorias de transporte peritoneal.

Não houve diferença na concentração de NO entre o dialisado e o soro, em qualquer das categorias de transporte. Os parâmetros de transporte peritoneal de creatinina correlacionaram-se diretamente com os de transporte peritoneal dos metabólitos do NO, enquanto relação inversa ocorreu com o transporte peritoneal de glicose. Estes dados sugerem que os níveis de NO refletem a permeabilidade peritoneal à molécula, e que, no dialisado, a medida dos metabólitos do ON não parece ser um marcador para a produção local de NO, em pacientes estáveis e sem peritonite (Schmidt et al., 1999; Schmidt e Baylis, 2000). A função endotelial também foi avaliada, mensurando-se a dilatação mediada por fluxo, em pacientes com diferentes categorias de transporte peritoneal, não havendo diferença estatisticamente significativa. A DMF, nos pacientes com baixo transporte de soluto, pareceu ser maior do que nas outras categorias de transporte, o que não foi confirmado pela avaliação de tendência.

Na análise das características clínicas e demográficas, a pressão arterial esteve razoavelmente bem controlada, em comparação com dados de outros estudos de pacientes em DP (Paniagua et al., 2002; Asghar et al., 2004). No entanto, recomendações recentes da Organização Mundial da Saúde, da Sociedade Internacional de Hipertensão, do Comitê Americano para Prevenção, Detecção, Avaliação e Tratamento de Pressão Sangüínea Elevada e da Fundação Americana do Rim sugerem que as pressões arteriais, em pacientes com doença renal crônica,

devam estar abaixo de 130/80 mmHg (World Health Organization/International Society of Hypertension Writing Group, 2003; Chobanian et al., 2003; National Kidney Foundation, 2004). Cerca de 41,5% dos pacientes apresentaram valores abaixo de 130/80 mmHg. Também não se verificou correlação entre as pressões arteriais e qualquer variável de função peritoneal. Os dados sugerem que a função do peritônio, em condições usuais, não é dependente da pressão arterial.

Hipertensão arterial sistêmica e diabetes melito foram as duas doenças mais prevalentes, estando de acordo com dados anteriores (Park et al., 2001; Paniagua et al., 2002).

Até recentemente, havia pouca informação disponível sobre a influência do tempo de permanência do dialisado, antes da troca que antecede a realização do PET, e seu resultado. Os estudos existentes referiam-se à influência da cavidade vazia, ou ao uso de icodextrina, no aumento da D/P de creatinina (Lilaj et al., 1999; Lilaj et al., 2001), mas não ao tempo de permanência da troca anterior. Quando o PET foi desenvolvido, CAPD era a modalidade de DP mais empregada. Portanto, a troca de longa permanência (acima de 8 horas), recomendada no teste, não interferia no esquema dialítico dos pacientes. Atualmente, há uma grande proporção de pacientes em DPA, requerendo alterações do esquema de diálise para permitir a realização do teste. Para estes, era necessária a transferência para CAPD, durante as 24 horas antecedentes ao teste, a fim de atender às padronizações recomendadas no PET (Twardowski et al., 1987). Tais alterações poderiam acarretar dano ao paciente como: aumento do risco para infecção e sobrecarga de volume, nos altos transportadores.

Para a definição metodológica do presente trabalho, inicialmente, realizou-se estudo comparativo para avaliar o PET, em pacientes usando DPA. O teste foi realizado com a permanência longa preconizada e logo após a desconexão da cicladora, com permanência mais curta (Figueiredo et al., 2002). Os dados não mostraram diferença significativa no D/P de creatinina e D/D<sub>0</sub> de glicose entre os dois métodos, passando-se, então, a avaliação de permeabilidade peritoneal destes pacientes a ser feita sem alteração da prescrição de diálise. Twardowski et al. (2003) apresentaram dados confirmando que o PET, feito após troca de curta permanência (2 a 3 horas) não interferiu nos resultados da avaliação da permeabilidade peritoneal

de solutos, podendo ser usado em pacientes em DPA (Twardowski et al., 2003). Os dados para análise de D/P de creatinina de D/P de NO nos pacientes em DPA, foram coletados sem alteração do regime de trocas. O novo método de avaliação proposto no trabalho está exposto no Anexo F.

Importantes, também, são os dados de qualidade da diálise, avaliada pelo Kt/V, estimado pela depuração de uréia semanal (Kt), normalizada para o volume de distribuição da água corporal (V). O Kt/V não é o único indicador de qualidade de diálise peritoneal, mas é um dado clínico empregado na avaliação de pacientes em diálise. Os pacientes apresentaram média de Kt/V peritoneal similar à de outros estudos (Li e Szeto, 2003; Lo, 2003; Asghar et al., 2004). Há evidência de que Kt/V menor do que 1,7 associa-se à maior mortalidade. Até a recente publicação de estudo de adequação de diálise (Paniagua et al., 2002), o alvo recomendado pelo *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI)* para o Kt/V, tanto em DPA como CAPD, era acima de 2,0 (National Kidney Foundation Dialysis Outcome Quality Initiative, 1997). O estudo Ademex forneceu evidências de que variações na depuração peritoneal de pequenos solutos têm efeito neutro sobre a sobrevida dos pacientes (Paniagua et al., 2002). Aparentemente, os resultados são piores quando o Kt/V é menor que 1,7, mas aumentá-lo, acima de 2,0, não parece conferir vantagem, ao longo de dois anos. Entretanto, não há dados de sobrevida do paciente e outros parâmetros clínicos para excluir a possibilidade de melhora em longo prazo, com Kt/V maior que 2,0. Para aumentar as chances de sobrevida, outros fatores, além da depuração de pequenos solutos, devem ser considerados, como o adequado controle da pressão arterial e de doenças cardiovasculares (Lo, 2003). Os valores de Kt/V, no presente estudo, são adequados.

O NO peritoneal e os dados de sua permeabilidade não foram associados com o Kt/V, sugerindo que o indicador de qualidade de diálise não esteja associado ao NO.

O valor clínico do PET é permitir a escolha da melhor prescrição de diálise para o paciente, tendo-se realizado o mesmo em todos os pacientes, independentemente do tipo de diálise peritoneal (CAPD ou DPA). Twardowski et al. (1987) apresentaram dados transversais de pacientes não selecionados, mas não definiram valores normais de permeabilidade (Davies et al., 1993).

Este estudo, também, não buscou definir valores “normais”, mas, sim, avaliar a distribuição da variável D/P de creatinina na amostra de pacientes do Serviço de Nefrologia da PUCRS.

Para uniformização da amostra, em que muitos pacientes estavam em situação limítrofe entre categorias, os dados de D/P de creatinina foram separados em *quartis*. Considerou-se juntar pacientes dos grupos alto e alto-médio, mas se optou por usar a nova separação *por quartil*, para valorizar a variável D/P de creatinina, selecionada por Twardowski et al. (1987) como variável relevante.

Davies (2000) refere-se ao transporte de solutos como o mais importante parâmetro para avaliação e acompanhamento da função peritoneal, sendo três as principais abordagens para medir a função peritoneal: PET, análise da permeabilidade peritoneal padrão (SPA – *Standard Peritoneal Permeability Analysis*) e capacidade de diálise peritoneal (PDC – *Peritoneal Dialysis Capacity*). Cada método oferece informações sobre as características do transporte de soluto (creatinina), como: razão dialisado/soro, coeficiente de área de transferência de massa (MTAC – *Mass Transfer Area Coefficient*) ou parâmetro de área. O principal aspecto fisiológico dessas medidas de função é a *área peritoneal efetiva*, que é dependente da superfície de contato da microcirculação peritoneal e do dialisado. O SPA é uma modificação e extensão do PET, que utiliza bolsas com glicose a 1,5%, adicionadas de Dextran 70, para avaliar a cinética do líquido e seu volume residual. O transporte de moléculas de baixo peso molecular é expresso pelo MTAC de creatinina, uréia e uratos; a absorção de glicose é calculada em relação à quantidade de glicose infundida. Por utilizar Dextran 70, é um teste menos usado (Pannekeet et al., 1995). O PDC usa três parâmetros: área peritoneal, absorção final de líquidos da cavidade peritoneal para o sangue e fluxo nos poros maiores, usando o modelo de três poros e fazendo extrapolação para taxas de reabsorção peritoneal e permeabilidade a macromoléculas. É mais complexo e com menor utilização clínica (Haraldsson, 1995). Todas essas abordagens foram validadas. As medidas de MTAC são pouco utilizadas na rotina clínica como controle da adequação da diálise. Há, pelo menos, três razões para isso: 1ª) a reprodutibilidade dos resultados é insatisfatória; 2ª) diferentes solutos apresentam resultados conflitantes nos mesmos indivíduos; 3ª) há complexidade de cálculos (Twardowski, 1989).

Pannekeet et al. (1995) sugeriram que os dados coletados para o cálculo do PET podem ser utilizados para calcular o MTAC, pelo modelo de Garred. Apesar de as medidas do PET se restringirem à avaliação do transporte de solutos e à capacidade de UF, é um procedimento clínico bem estabelecido que facilita a prescrição da diálise e é um bom preditor de resultados clínicos. A maioria dos estudos tem analisado o papel do NO no peritônio, empregando avaliação do MTAC para solutos de baixo peso molecular, levando em consideração a área do peritônio. Não foram encontrados estudos que avaliassem a relevância do NO em relação aos parâmetros PET, teste habitualmente empregado na avaliação e na prescrição de pacientes.

A hipótese deste estudo foi que o comportamento do NO seria diverso, dependendo da categoria de transporte peritoneal, e que a capacidade de UF estivesse associada à quantidade da molécula, em condições normais da membrana. Perspectivas para interferência na via L-arginina/NO poderiam se abrir, para modificar a UF, mudar a categoria de transporte e, eventualmente, melhorar a prescrição de diálise.

Há evidências de que doadores de NO modificam aspectos da função peritoneal – em especial a ultrafiltração –, mas este estudo não sugere que o NO sérico ou peritoneal sejam determinantes da eficácia do transporte pela membrana peritoneal.

Pacientes estáveis em CAPD não apresentam ativação das células inflamatórias e não regulam a NOS como durante episódios de peritonite (Devuyst et al., 1998; Devuyst et al., 2001). A atividade da NOS está aumentada em fragmentos de biópsia peritoneal de pacientes em CAPD, há longo tempo, sugerindo que o NO e a NOS têm algum papel nas mudanças de permeabilidade e no aumento da *área efetiva*, nestes pacientes (Combet et al., 2000; Devuyst et al., 2001).

A síndrome urêmica também pode exercer influência sobre a função peritoneal. Vários mecanismos moleculares anormais estão associados à uremia, como regulação da NOS, altos níveis de componentes carbonílicos reativos, presença de produtos finais da glicolização e aumento do VEGF (VEGF – *vascular*

*endothelial growth factor*), que podem interferir na função da membrana peritoneal (Miyata et al., 2000; Lau et al., 2000; Devuyst et al., 2001; Devuyst, 2003).

A observação do aumento de NO no dialisado de pacientes com peritonite aguda (Douma et al., 1995, Yang et al., 1996) e do incremento da UF em animais tratados com inibidores da NOS (Breborrowicz et al., 1998) sugerem que o NO pode ser fator crítico na vasodilatação induzida pela peritonite aguda (Combet et al., 1999). Durante o episódio de peritonite, há aumento da D/P de nitratos, indicando que a produção é originária do peritônio inflamado e não da circulação periférica; esta D/P é reduzida após o tratamento, sugerindo redução da inflamação peritoneal (Douma et al., 1995). Yang et al. (1996) sugerem que os níveis de NO oferecem mais informações sobre o estado inflamatório do peritônio do que a contagem de leucócitos e recomendam que dosagens de nitrito sejam feitas em pacientes com peritonite, para avaliar a eficácia do tratamento e decidir seu término.

Os dados atuais reforçam a idéia que as diferenças observadas entre grupos nos valores de NO peritoneal refletem, simplesmente, permeabilidade peritoneal – também caracterizada pelo transporte de glicose e de creatinina. Essa interpretação é fundamentada em estudos prévios que relatam correlação entre o MTAC de nitratos com o MTAC de creatinina (Douma et al., 1995). A razão dialisado/soro menor do que 1 sugere difusão da circulação, e não produção local (Douma et al., 1995; Plum et al., 1999; Davenport et al., 2004). No entanto, as concentrações de NO no soro se correlacionaram com a concentração no dialisado de 24-h (Matsumoto et al., 1999). A magnitude das correlações descritas entre os parâmetros de permeabilidade do NO e da D/D<sub>0</sub> de glicose e D/P de creatinina sugerem que, pelo menos em parte, outros fatores não mensurados no estudo, como fluxo sangüíneo e área peritoneal, entre outros, podem estar envolvidos na permeabilidade de cada soluto.

Em pacientes estáveis, é possível que o NO tome parte na manutenção do tônus vascular e na permeabilidade peritoneal, mas este estudo não foi delineado para realizar tal avaliação. A produção total de NO pode não refletir a produção de componentes “hemodinamicamente ativos” do NO corporal (Schmidt et al., 1999). A *área peritoneal efetiva* é o principal determinante do número de capilares peritoniais expostos à troca. Portanto, este parâmetro da membrana pode ser modificado por

drogas vasoativas. O peritônio de animais, exposto a nitroprussiato de sódio (NPS), mostrou a perfusão em capilares previamente não perfundidos, além de aumento da área do poro capilar. É possível que o NO module o transporte peritoneal: a administração intraperitoneal de doadores de NO, em pacientes em CAPD, produziu aumento da MTAC para moléculas de baixo peso e para proteínas (Douma et al., 1997; Douma et al., 1998). A administração intraperitoneal de inibidores do NO levou a aumento de ultrafiltração (Brebrowicz et al., 1998). Em condições usuais, os níveis de NO no soro e no dialisado são marcadores pobres – indicadores pouco sensíveis – de sua ação local e nos vasos próximos. Características inerentes ao indivíduo, possivelmente, regulam as funções de transporte da membrana peritoneal.

Em estudo transversal (Wong et al., 2003), o polimorfismo do intron 4 do gene da eNOS foi associado a funções basais de transporte peritoneal: pacientes com transporte baixo e baixo-médio tiveram maior prevalência do genótipo aa/ab da eNOS, do que os com alto e alto-médio. Por outro lado, não foi detectada diferença na variante Glu298Asp do exon 7 do gene da eNOS entre pacientes de diálise e controles (Prado et al., 2002).

Existe a possibilidade de que a regulação e a relevância do NO sejam apenas para o tecido ou a célula. O NO medido no soro provém de diversas fontes do organismo e, possivelmente, até de fontes externas. As medidas atuais não excluem que o NO possa ser relevante localmente (em nível celular). O estudo demonstra que NO não é um bom marcador de função peritoneal.

Dados conflitantes sobre o papel do NO em pacientes sem peritonite têm sido publicados (Struijk et al., 2001). Os presentes achados sugerem que os níveis de NO peritoneal refletem a permeabilidade de um determinado peritônio, e corroboram os dados de Douma et al. (1995, 1997): a concentração de nitratos, em pacientes estáveis em CAPD, reflete seu transporte da circulação para o dialisado, não fornecendo evidências de que o NO esteja envolvido na regulação da permeabilidade peritoneal. Muitas evidências apontam para uma função endotelial alterada em pacientes com IRC.

Kim et al. (2004) demonstraram que a lesão endotelial é mais pronunciada em pacientes em DP com falência de ultrafiltração, do que em pacientes sem falência. A



função endotelial está alterada em pacientes com IRC terminal e em CAPD, quando avaliados por pletismografia do antebraço (Morris et al., 2000). Por análise de ondas de pulso, combinada com estímulo farmacológico, foi demonstrada severa disfunção endotelial em pacientes bem dialisados (Covic et al., 2004). Vasodilatação endotélio-dependente é menor em pacientes em hemodiálise crônica (Van Guldener et al., 1997). O procedimento, ou outros fatores intrínsecos à uremia, pode causar disfunção endotelial (Van Guldener et al., 1998). A vasodilatação braquial endotélio-dependente reduzida em paciente em diálise pode refletir um aumento generalizado das propriedades aterogênicas e trombogênicas do endotélio (Andreson et al., 1995; Van Guldener et al., 1998; Neunteufl et al., 1998).

A disfunção endotelial está associada a doenças cardiovasculares, sendo um evento precoce na fisiopatologia do processo (Endemann e Schiffrin, 2004). Pacientes em DP têm taxa de mortalidade cardiovascular maior, não totalmente explicada pelos fatores de risco usuais. Thambyrajah et al. (2000) usaram a dilatação mediada por fluxo para demonstrar que a função endotelial estava alterada em pacientes com IRC, mesmo em graus leves.

Neste estudo, a DMF foi examinada em pacientes com diferentes capacidades de transporte peritoneal. Não houve diferença estatisticamente significativa da DMF entre as diversas categorias de transporte da membrana peritoneal.

A DMF é inversamente relacionada com o NO no dialisado de 24 e de 4 horas, mas não com o NO sérico. Em pacientes com IRC, e nos tratados com hemodiálise, a produção total de NO é menor (Schmidt et al., 1999; Schmidt e Baylis, 2000), podendo contribuir para o aparecimento de hipertensão arterial, de disfunção endotelial e para a progressão da doença renal (Schmidt et al., 1999; Schmidt e Baylis, 2000). A falta de correlação entre DMF e NO sérico já foi demonstrada (Andersen et al., 2002; Li et al., 2004), mas a correlação entre a DMF da artéria braquial e o nível de NO peritoneal não havia sido descrita anteriormente. A DMF, em pacientes com fatores de risco cardiovascular, responde, diferentemente, à administração de L-arginina (Thorne et al., 1998), indicando que outros fatores fisiopatológicos se sobrepõem aos fatores de risco conhecidos.

O conceito de que a DMF é dependente do NO tem sido contestado. No *Framingham Heart Study*, relatou-se, recentemente, que a DMF da artéria braquial reduzida pode não se relacionar à liberação de NO pelo endotélio vascular (Mitchell et al., 2004).

A função endotelial, avaliada pela DMF da artéria braquial, não parece determinar as categorias da função da membrana peritoneal em pacientes livres de peritonite.

O presente estudo abordou aspectos da via da L-arginina-óxido nítrico e da função endotelial, em pacientes estáveis em tratamento com diálise peritoneal. Na metodologia, também introduziu modificação na avaliação da função peritoneal em pacientes em DPA. Os dados representam uma fração do conhecimento necessário para entender os mecanismos envolvidos na função peritoneal. É possível que intervenções dirigidas à via L-arginina-óxido nítrico e função endotelial possam servir para melhorar a qualidade do tratamento oferecido a pacientes em DP. Vários outros aspectos, ainda, devem ser pesquisados, como transporte de L-arginina, ação da fosfodiesterase, fatores natriuréticos, citocinas, estresse inflamatório e oxidativo, entre outros. Esta tese tem a pretensão de iniciar uma linha de pesquisa na Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, esperando-se poder transpor estes conhecimentos para o cuidado dos pacientes.

## CONCLUSÕES

O presente estudo avaliou o comportamento do óxido nítrico, conforme as características de transporte peritoneal, em pacientes com insuficiência renal crônica em diálise peritoneal, em tratamento no Serviço de Nefrologia do Hospital São Lucas da PUCRS. Os principais achados do estudo nestes pacientes:

- 1º) as concentrações de NO sérico e peritoneal, de pacientes em categorias diversas de transporte peritoneal não foram diferentes;
- 2º) não houve associação entre taxa de UF e níveis de NO (sérico e peritoneal);
- 3º) não se demonstrou associação entre Kt/V e níveis de NO (sérico e peritoneal);
- 4º) os parâmetros de transporte peritoneal de creatinina foram diretamente correlacionados com os de transporte peritoneal dos metabólitos do NO;
- 5º) os parâmetros de transporte peritoneal de glicose foram inversamente correlacionados com os de transporte peritoneal dos metabólitos do NO;
- 6º) a DMF de pacientes em categorias diversas de transporte peritoneal não foi diferente.

Os dados sugerem que os níveis de NO refletem a permeabilidade peritoneal e que o NO, no dialisado, não é um bom marcador de sua produção local, em pacientes estáveis e sem peritonite. A função endotelial, avaliada pela DMF da artéria braquial, não parece determinar as categorias da função da membrana peritoneal em pacientes livres de peritonite.

## REFERÊNCIAS

Deleted: ¶  
¶

Deleted: eferências

Anderson TJ, Uehata A, Gerhard GM, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1235-41.

Andersen GN, Mincheva-Nilsson L, Kazzam E, et al. Assessment of vascular function in systemic sclerosis: indications of the development of nitrate tolerance as a result of enhanced endothelial nitric oxide production. *Arthritis Rheum* 2002;46:1324-32.

Asghar R, Green S, Engel B, et al. Relationship of demographic, dietary, and clinical factors to the hydration status of patients on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2004;24:231-9.

Bargman J, Thorpe K, Churchill D. Relative contribution of residual renal function and peritoneal clearance to adequacy of dialysis: a reanalysis of the CANUSA study. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2158-62.

Blake P. Adequacy, nutrition, and clinical outcomes. *Perit Dial Int* 1999;19(2):16-9.

Blake P, Diaz-Brujo J. Adequacy of peritoneal dialysis and chronic peritoneal dialysis prescription. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS, editors. *Handbook of dialysis*. Philadelphia, EUA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001:343-59.

Breborowicz A, Wieczorowska-Tobus K, Korybalska K, et al. The effect of nitric oxide inhibitor (L-NAME) on peritoneal transport during peritoneal dialysis in rats. *Perit Dial Int* 1998;18:188-92.

Celermajer D, Sorensen K, Bull C, et al. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1468-74.

Churchill DN, Thorpe KE, Nolph KD. Increased peritoneal membrane transport is associated with decreased patient and technique survival for continuous peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:1285-92.

Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003;289:2560-72.

Combet S, Van Landschoot M, Moukin P, et al. Regulation of aquaporin 1 and nitric oxide synthase isoforms in a rat model of acute peritonitis. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:2185-96.

Combet S, Miyata T, Moulin P, et al. Vascular proliferation and enhanced expression of endothelial nitric oxide synthase in human peritoneum exposed to long-term peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:717-28.

Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, et al. Guidelines for ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:257-65.

Covic A, Goldsmith DJA, Gusbeth-Tatomir P, et al. Hemodialysis acutely improves endothelium-independent vasomotor function without significantly influencing the endothelium-mediated abnormal response to a  $\beta$ 2-agonist. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:637-43.

Davenport A, Fernando R, Varghese Z. Intraperitoneal nitric oxide production in patients treated by continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Blood Purif* 2004;22:216-23.

Davies SJ. Monitoring of long-term peritoneal membrane function. *Perit Dial Int* 2000;21:225-30.

Davies SJ, Brown B, Bryan J, et al. Clinical evaluation of the peritoneal equilibration test: a population – based study. *Nephrol Dial Transplant* 1993;8:64-70.

Davies SJ, Bryan J, Phillips L, et al. Longitudinal changes in peritoneal kinetics: the effects of peritoneal dialysis and peritonitis. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:498-506.

Davies SJ, Phillips L, Russell GI. Peritoneal solute transport predicts survival on CAPD independently of residual renal function. *Nephrol Dial Transplant* 1998a;13:962-68.

Davies SJ, Phillips L, Griffiths AM, et al. What really happens to people on long-term peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1998b;54:2207-17.

Davies SJ, Phillips L, Griffiths AM, et al. Impact of peritoneal membrane function on long-term clinical outcome in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1999;19(Suppl 2):91-4.

d'Avila D, Figueiredo A. Métodos de depuração extra-renal: Hemodiálise, diálise peritoneal e novas técnicas. In: Riella M, editor. *Princípios de Nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1996:607-45.

de Prado A, Do ate T, Martinez E, et al. Endothelial nitric Oxide synthase gene polymorphism in dialysis patients. *Adv Perit Dial* 2002;18:18-20.

Devuyst O, Nielsen S, Cosyns J-P, et al. Aquaporin-1 and endothelial nitric oxide synthase expression in capillary endothelia of human peritonium. *Am J Physiol* 1998;275:H234-H242.

Devuyst O, Combet S, Cnops Y, et al. Regulation of NO synthase isoforms in the peritoneum: implications for ultrafiltration failure in peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:675-8.

Devuyst O. Molecular mechanisms involved in the peritoneal membrane exposed to peritoneal dialysis. *Nefrología* 2003;23(Suppl 3):32-7.

Douma CE, De Waart DR, Zemel D, et al. Nitrate in stable CAPD patients and during peritonitis. *Adv Perit Dial* 1995;11:36-40.

Douma CE, De Waart DR, Struijk DG, et al. The nitric oxide donor nitroprussiate intraperitoneally affects peritoneal permeability in CAPD. *Kidney Int* 1997;51:1885-92.

Douma CE, Hiralall JK, De Waart DR, et al. Icodextrin with nitroprussiate increases ultrafiltration and peritoneal transport during CAPD dwells. *Kidney Int* 1998;53:1014-21.

Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:1983-92.

Faulx M, Wright A, Hoit B. Detection of endothelial dysfunction with braquial artery ultrasound scanning. *Am Heart* 2003;145:943-51.

Figueiredo AE, Conti A, Poli de Figueiredo CE. Influence of the preceding exchange on peritoneal equilibration test results. *Adv Perit Dial* 2002;18:75-7.

Feldman PL, Griffth OW, Stuehr J. The surprising life of nitric oxide. *Chem Eng News* 1993:26-38.

Furchgott RE, Zawadzki JV. The obligatory role of endotelial cells in the relaxation of arterial smoth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-6.

Gotch F. Adequacy of peritoneal dialysis *Am J Kidney Dis* 1993;21:96-8.

Haraldsson B. Assessing the peritoneal dialysis capacity of individual patients. *Kidney Int* 1995;47:1187-98.

Heimbürger O, Waniewski J, Werynski A, et al. Peritoneal transport in CAPD patients with permanent loss of ultrafiltration capacity. *Kidney Int* 1990;38:495-506.

Heimbürger O, Wang T, Lindholm B. Alterations in water and solute transport with time on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1999;19(Suppl 2):s83-s90.

Ho-Dac-Pannekeet MM, Atasever B, Struijk DG, et al. Analysis of ultrafiltration failure in peritoneal dialysis patients by means of standard peritoneal permeability analysis. *Perit Dial Int* 1997;17:144-50.

Honda K, Nitta K, Horita S, et al. Accumulation of advanced glycation end products in the peritoneal vasculature of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients with low ultrafiltration. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:1541-9.



Kim SB, Lee SK, Park JS. Endothelial injury in peritoneal dialysis patients with ultrafiltration failure. *Ren Fail* 2004;26:1-4.

Lau T, Owen W, Yu YM, et al. Arginine, citrulline, and nitric oxide metabolism in end-stage renal disease patients. *J Clin Invest* 2000;105:1217-25.

Li R, Lyn D, Lapu-Bula R, et al. Relation of endothelial nitric oxide synthase gene to plasma nitric oxide level, endothelial function, and blood pressure in African Americans. *Am J Hypertens* 2004;17:560-7.

Li, PKT, Szeto C. Peritoneal Dialysis in Asia – is higher better? *Perit Dial Int* 2003;23(Suppl 2):S65-S68.

Lilaj T, Vychytil A, Schneider B, et al. Influence of the preceding exchange on peritoneal equilibration test results: a prospective study. *Am J Kidney Dis* 1999;34:247-53.

Lilaj T, Dittrich E, Puttinger H, et al. A preceding exchange with polyglucose versus glucose solution modifies peritoneal equilibration test. *Am J Kidney Dis* 2001;38:118-26.

Lo WK. Dialysis adequacy targets in continuous ambulatory peritoneal dialysis- higher is not necessarily better. *Perit Dial Int* 2003;23(Suppl 2):s69-s71.

Krediet RT, Zweers MM, Ho-Dac-Pannekeet MM, et al. The effect of various dialysis solutions on peritoneal membrane viability. *Perit Dial Int* 1999;19(Suppl 2):s57-s66.

Matsumoto A, Hirata Y, Kakoki M, et al. Increased excretion of nitric oxide in exhaled air of patients with chronic renal failure. *Clin Sci* 1999;96:67-74.

Mitchell GF, Parise H, Vita JA, et al. Local shear stress and brachial artery flow-mediated dilation. The Framingham Heart Study. *Hypertension*. 2004;44:134-9.

Miyata T, De Vuyst O, Kurokawa K, et al. Towards better dialysis compatibility: Advances in the biochemistry and pathophysiology of the peritoneal membranes. *Kidney Int* 2002;61:375-86.

Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-42.

Moncada S, Higgs EA. The L-arginine-NO pathway. *N Engl J Med* 1993;329:2002-12.

Morris STW, McMurray JJV, Rodger SC, et al. Impaired endothelium-dependent vasodilatation in uraemia. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:1194-200.

National Kidney Foundation Dialysis Outcome Quality Initiative. Clinical practice guidelines for peritoneal dialysis adequacy. Guideline 15. *Am J Kidney Dis* 1997;30(Suppl 2):s86-7.

National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002;39(Suppl 1):S1-266.

National Kidney Foundation – Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI). K/DOQI clinical practice guidelines on hypertension and antihypertensive agents in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2004;43(Suppl 1):S1-290.

Nascimento CA, Patriarca G, Heimann JC. Estrutura Orgânica do Endotélio vascular. In: Luz P, Laurindo F, Chagas A, editores. *Endotélio & doenças cardiovasculares*. São Paulo. Atheneu; 2003:1-16.

Neunteufl T, Katzenschlager R, Hassan A, et al. Systemic endothelial dysfunction is related to the extent and severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1997;129:111-8.

Nolph KD, Khana R, Twardowski ZJ, et al. The kinetics of ultrafiltration during peritoneal dialysis: the role of lymphatics. *Kidney Int* 1987;32:219-26.

Oreopolous D, Robson M, Izatt S, et al. A simple and safe technique for continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1978;14:484-9.

Orida NK, Lai C. Nitric oxide and renal patients. *Dial Transplant* 2000;29:174-85.

Paniagua R, Amato D, Vonesh E, et al. Effects of increased peritoneal clearances on mortality rates in peritoneal dialysis: Ademex, a prospective, randomized, controlled trial. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:1307-20.

Pannekeet NM, Mulder JB, Weening JJ, et al. Demonstration of aquaporin – CHIP in peritoneal tissue of uremic and CAPD patients. *Perit Dial Int* 1996;16(Suppl 1):S54-S57.

Pannekeet MM, Imholz AL, Struijk DG, et al. The standard peritoneal permeability analysis: a tool for the assessment of peritoneal permeability characteristics in CAPD patients. *Kidney Int* 1995;48:866-75.

Park H, Kang S, Choi K, et al. Clinical outcome in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients is not influenced by high peritoneal transport status. *Perit Dial Int* 2001;21(Suppl 3):S80-5.

Pedro MA, Coimbra SR, Colombo FMC. Métodos de investigação do endotélio. In: Luz P, Laurindo F, Chagas A, editores. *Endotélio & doenças cardiovasculares*. São Paulo. Atheneu. 2003:53-68.

Plum J, Tabatabaei MM, Lordnejad MR, et al. Nitric oxide production in peritoneal macrophages from peritoneal dialysis patients with bacterial peritonitis. *Perit Dial Int* 1999;19(Suppl 2):378-83.

Popovich RP, Moncrief J W, Dechard JF, et al. The definition of a novel portable wearable equilibrium peritoneal technique. *Trans Am Soc Artif Inter Organs* 1976;23:64.

Prowant B, Schimidt L. *Clinical Consult. ANNA J* 1991;18:221.

Rippe B, Carlson O. Role of water channels in peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1999;19(Suppl 2):69-113.

Rippe B, Krediet R. Peritoneal physiology: Transport of solute. In: Gokal R, Nolph KD, editors. *The textbook of Peritoneal Dialysis*. 2<sup>o</sup> ed. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 1994:69-113.

Rippe B, Stelin G, Haraldson B. Computer simulations of peritoneal fluid transport in CAPD. *Kidney Int* 1991;40:315-25.

Ronco C, Feriani M, Virga G, et al. Peritoneal dialysis: adequacy beyond Kt/V. *Perit Dial Int* 1999;19(Suppl 2):32-7.

Schmidt R, Yokota S, Tracy T, et al. Nitric oxide production is low in end-stage renal disease patients on peritoneal dialysis. *Am J Renal Physiol* 1999;276:F794-F797.

Schmidt R, Baylis C. Total nitric oxide production is low in patients with chronic renal disease. *Kidney Int* 2000;58:1261-6.

Schoenfeld P. Care of the patient on peritoneal dialysis. In: Cogan M, Schoenfeld P, editors. *Introduction to dialysis*, 2. ed. Churchill Livingstone: New York, Edinburgh, London Melbourne, Tokyo. 1991:181-239.

Selgas R, Bajo MA, Fernandez-Reyes MJ, et al. Functional longevity of the human peritoneum: how long is continuous peritoneal dialysis possible? Results of a prospective medium long-term study. *Am J Kidney Dis* 1994;23:64-73.

Spector N. *Manual para redação de teses, projetos de pesquisa e artigos científicos*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002:33-44.

Struijk DG, Krediet RT, Koomen GC, et al. A prospective study of peritoneal transport in CAPD patients. *Kidney Int* 1994;45:1739-44.

Struijk DG, Douma CE, Krediet RT, et al. Nitric oxide-related experiments on peritoneal solute transport in the rabbit. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:661-3.

Thambyrajah J, Landray MJ, McGlynn FJ, et al. Abnormalities of endothelial function in patients with predialysis renal failure. *Heart* 2000;83:205-9.

Thorne S, Mullen MJ, Clarkson P, et al. Early endothelial dysfunction in adults at risk from atherosclerosis: different responses to L-arginine. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:110-6.

Twardowski ZJ, Nolph K, Khanna R, et al Peritoneal Equilibration Test. *Perit Dial Bull* 1987;7:138-47.

Twardowski ZJ, Prowant BF, Moore HL, et al Short Peritoneal Equilibration Test: impact of preceding dwell time. *Perit Dial Intl* 2003;23(Suppl 1):11.

Twardowski ZJ. Clinical value os stardardized equilibration tests in CAPD patients. *Blood Purif* 1989;7:95-108.

Uttley L, Prowant B. Organization of the peritoneal dialysis program-the nurses'role. In: Gokal R, Nolph KD, editors. *The textbook of Peritoneal Dialysis*.2<sup>o</sup> ed. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 1994:335-56.

Van Guldener C, Lambert J, Janssen MJFM, et al. CDA. Endothelium-dependent vasodilatation and distensibility of large arteries in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12(Suppl 2):14-8.

Van Guldener C, Janssen MJFM, Lambert J, et al. Endothelium-dependent vasodilatation is impaired in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:1782-6.

Vriese A, Mortier S, Lameire N. What happens to peritoneal membrane in long-term peritoneal dialysis? *Perit Dial Int* 2001;21(Suppl 3): S9-S18.

Yamada K, Miyahara Y, Hamaguchi K, et al. Immunohistochemical study of human advanced glycosilation end-products (AGE) in chronic renal failure. *Clin Nephrol* 1994;42:354-61.

Yang CW, Hwang TL, Wu CH, et al. Peritoneal nitric oxide is a marker of peritonitis on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:2466-71.

Zemel D, Krediet RT, Koomen CGCM, et al. Day to day variability of protein transport used as a method for analyzing peritoneal permeability in CAPD. *Perit Dial Int* 1991;11:217-23.

Wang T, Waniewski J, Heimbürger O, et al. A quantitative analysis of sodium transport and removal during peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1997;52:1609-16.

White R, Korthuis R, Granger DN. The peritoneal microcirculation in peritoneal dialysis. In: Gokal R, Nolph, editors. The textbook of peritoneal dialysis. 2<sup>o</sup>ed. Netherlands: Kluwer Academic publishers Dorchet. 1994;45-68.

Wong TY, Szeto CC, Szeto CY, et al. Association of ENOS polymorphism with basal peritoneal membrane function in uremic patients. *Am J Kidney Dis* 2003;42:781-6.

World Health Organization, International Society of Hypertension writing Group. 2003 World Health Organization (WHO) / International Society of Hypertension (ISH) statement on the management of hypertension. *J Hypertens* 2003;21:1983-92.

# **ANEXOS**

**ANEXO A**  
**APROVAÇÃO COMISSÃO CIENTÍFICA**



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA

Ofício nº 056/02-PG

Porto Alegre, 02 de abril de 2002 .

Ilm<sup>o</sup>. Sr<sup>o</sup>.  
Enf<sup>a</sup>. Ana Elizabeth P. L. Figueiredo  
Doutorado em Clínica Médica/Nefrologia  
N/Faculdade

Prezada Pós-Graduanda :

Comunicamos que a proposta de tese intitulada "Avaliação do papel da via L-Arginina/Óxido Nítrico nas características de transporte peritoneal e na eficiência da diálise em pacientes com insuficiência renal crônica em diálise peritoneal ambulatorial contínua" foi **aprovada** pela Comissão Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica e em Ciências da Saúde .

Informamos que a mesma deve ser encaminhada ao Comitê de Ética em Pesquisa, através do CINAPE, 2º andar do HSL, ramal 2687. Anexo cópia da avaliação .

Atenciosamente,

Dr. Carlos Cezar Fritscher  
Coordenador Geral dos Cursos de  
Pós-Graduação em Medicina

**C/c: Prof. Dr. Domingos Otávio Lorenzoni d'Ávila**  
**Prof. Dr. Carlos Eduardo Poli de Figueiredo**

Av. Ipiranga, 6690 - 3º andar  
90610-000 Porto Alegre  
RS- Brasil

Fone (51) 320-3318  
Fax (51) 320-3316  
E\_mail: Posmed@pucrs.br



**ANEXO B**  
**APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA E PESQUISA**



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP - PUCRS



Of. nº 290/02-CEP

Porto Alegre, 28 de junho de 2002.

Ilmo(a) Sr(a)  
Enf Ana Elizabeth Prado Lima Figueiredo  
N/Universidade

Senhor(a) Pesquisador(a):

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS  
apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa intitulado: "Avaliação do  
papel da via L-Arginina/Óxido Nítrico nas características de transporte  
peritoneal e na eficiência da diálise em pacientes com insuficiência renal  
crônica em diálise peritoneal ambulatorial contínua"

Atenciosamente,

Prof. Dr. Délio José Kipper  
Coordenador do CEP-PUCRS

**ANEXO C**  
**DIÁLISE PERITONEAL E A VIA L-ARGININA/ÓXIDO NÍTRICO**  
**PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS**

Nome:..... Registro: .....

Idade: ..... Sexo: M F Raça: B NB ..... Data: .....

Etiologia da IRC: Nefropatia diabética (tipo 1 ou 2) Glomerulopatia primária  
 Rins policísticos Nefrosclerose hipertensiva LES  
 Indeterminada Outra: .....

Tempo em diálise (meses): ..... Data do início: .....

Tempo em diálise peritoneal (meses): ..... Data do início: .....

Sistema de diálise peritoneal: CAPD APD – Baxter® Fresenius®

Número de trocas (número por dia): .....

Concentração de glicose nas bolsas: 1,5% 2,5% 4,25%

Frequência de cada concentração de glicose /dia:.....

Volume total das bolsas (L por dia): .....

Número de peritonites (número): .....

Tempo desde a última peritonite (meses): .....

Diurese residual (mL): .....

Cirurgias abdominais prévias (descrever): .....

.....

Tabagismo: sim não Etilismo: sim não

Drogas ( listar): .....

Dados de exame físico:

pressão arterial (mmHg) altura(cm)

peso (kg)

Presença de edema com cacifo (sim/não)

Jejum (sim/não)

**Amostras para Kt/V:**

Volume total (V1)  
 Amostra de 24 horas LP1 ( creatinina/uréia/ amostra/Bartira) 10ml

**Amostra para PET:**

Volume pré PET (V2)  
 Amostra tempo zero (LP2) 10 ml  
 Amostra tempo 2 (LP3) 10 ml  
 Colher sangue venoso com duas horas de permanência (S1)  
 Amostra tempo 4 ( LP4)  
 Pesar e anotar o volume drenado (V3)  
 Acrescentar o volume retirado para as dosagens à medida do volume final (V4).

Resultado do transporte glicose- classificação  
 LP3/LP2 LP4/LP2

Resultado transporte creatinina: classificação  
 LP2/S1 LP3/S1 LP4/S1

**ANEXO D**  
**TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO**  
**FOLHA DE INFORMAÇÕES FORNECIDAS AOS PACIENTES**

LINHA DE PESQUISA EM NEFROLOGIA: DIÁLISE EXTRA-RENAL  
 ENFOQUE NA DIÁLISE PERITONEAL

**Título:** Avaliação do papel da via L-arginina/óxido nítrico nas características de transporte peritoneal e na eficiência da diálise em pacientes com JRC em diálise peritoneal ambulatorial contínua

Deleted: insuficiência renal crônica

**Equipe de pesquisa:** Ana Elizabeth Prado Lima Figueiredo, Patrícia Barcellos Ogando, Priscilla Barcelos de Almeida, Adriana Conti.

**Orientadores:** Bartira E. Pinheiro, Carlos Eduardo Poli de Figueiredo, Domingos Lorenzoni d'Ávila.

**Nome da paciente:** .....

**Objetivos:** A presente Linha de Pesquisa visa investigar diversos aspectos da diálise peritoneal, regulação da função do peritônio para as trocas de diálise (bolsa), e da pressão arterial. É parte da linha de pesquisa do Programa de Pós-graduação em Clínica Médica e Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina, Laboratório de Nefrologia do Instituto de Pesquisas Biomédicas da PUCRS.

Deleted: peritônio

Deleted: peritônio

Deleted: peritônio

O objetivo deste estudos é avaliar os fatores que estejam relacionados ao funcionamento do peritônio, qualidade de diálise, disfunção do peritônio e evolução clínica.

Deleted: peritônio

Deleted: peritônio

Deleted: peritônio

Deleted: peritônio

Deleted: peritônio

Deleted: peritônio

**Procedimentos a serem utilizados:** Você está sendo convidado para uma entrevista com um dos pesquisadores, na qual será perguntado se deseja participar da pesquisa. Caso concorde, após assinar este Termo de Consentimento Informado, serão coletados dados de sua história médica pregressa, e explicados os procedimentos a serem realizados, incluindo a rotina de avaliação do programa de diálise peritoneal para o teste de adequação de diálise (Kt/V e PET). Parte das amostras do dialisado, sangue e urina serão separadas para realização de testes específicos da pesquisa. Os procedimentos são os mesmos de sua avaliação periódica rotineira. Será coletado um volume aproximado de até 10 ml de sangue venoso, além das 3 coletas do dialisado no início da troca, após 2 horas e ao completar 4 horas de permanência. Ao término, uma nova troca de rotina é realizada. Também serão consultados os dados de seu prontuário médico.

**Riscos e benefícios:** Os riscos ou desconfortos dessa pesquisa são considerados mínimos, restritos às coletas de sangue. Os demais riscos são aqueles inerentes aos procedimentos de sua diálise peritoneal que é feita diariamente. A presente pesquisa se propõe a colaborar no aumento do conhecimento sobre o peritônio, e seus distúrbios, não trazendo, necessariamente, benefícios adicionais para as pacientes participantes.

Deleted: peritônio

Deleted: peritônio

Deleted: peritônio

**Confidencialidade:** Os registros serão mantidos em sigilo e usados somente para fins da presente linha de pesquisa, permanecendo a sua identidade em segredo.

**Liberdade:** A sua participação na pesquisa é totalmente voluntária e o consentimento poderá ser retirado a qualquer momento, sem prejuízo para o seu tratamento e sem a necessidade de explicar o motivo.

## TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

**Título: Avaliação do papel da via l-arginina/óxido nítrico nas características de transporte peritoneal e na eficiência da diálise em pacientes com JRC em diálise peritoneal ambulatorial contínua**

Deleted: insuficiência renal crônica

### DECLARAÇÃO

Eu,....., fui informada pelo(a) Enf(a)/Dr(a) ..... dos objetivos específicos e das justificativas dessa pesquisa de forma bem clara e detalhada. Recebi informações sobre cada procedimento que estarei envolvida, dos riscos previstos e dos benefícios esperados.

Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza, e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento.

Estou ciente que as informações por mim fornecidas serão de caráter confidencial e usadas somente para a presente pesquisa.

Fui informada que, se existirem danos à minha saúde, causados diretamente pela pesquisa, terei direito a tratamento médico e indenização, conforme estabelece a lei. Também sei que, se existirem gastos adicionais, diretamente relacionados à pesquisa, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Caso tiver novas perguntas sobre a presente investigação, posso chamar o investigadores pelo telefone 33367700 ou 3320 3000 - Ramais 2174 ou 2344, para qualquer dúvida sobre os meus direitos como participante deste estudo. Se algum possível prejuízo surgir pela minha participação, posso chamar os orientadores da presente pesquisa igualmente pelos mesmos telefones.

Esta pesquisa tem aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS.

Sob as condições acima mencionadas, concordo em participar do presente estudo.

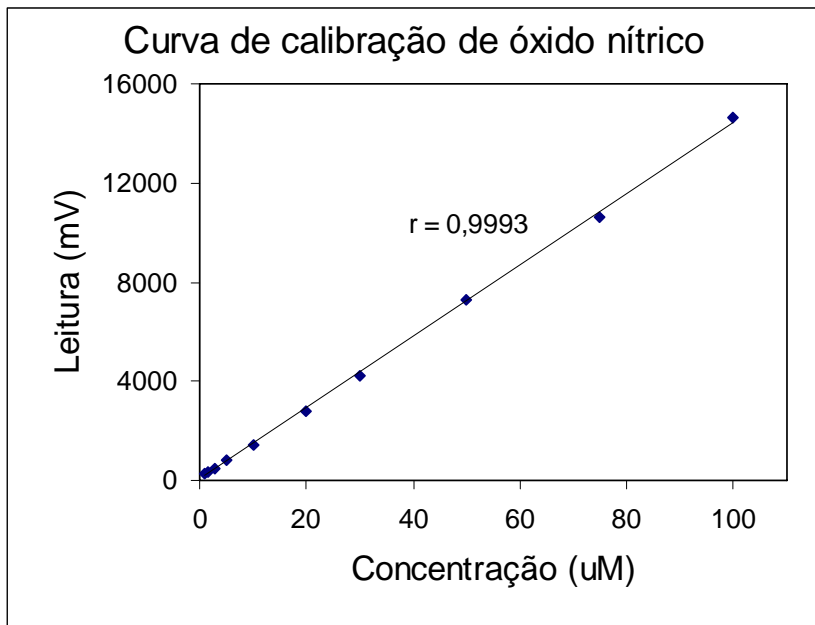
Declaro que recebi cópia do presente Termo de Consentimento Informado, aprovando-o e assinando-o após lê-lo com todo o cuidado possível.

Porto Alegre, de de 200 .

.....  
Paciente ou Responsável  
CI:.....

.....  
Investigador  
CRM/COREN:

ANEXO E  
CURVA DE CALIBRAÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO



## ANEXO F

ARTIGO PUBLICADO NO *ADVANCES IN PERITONEAL DIALYSIS*

*Advances in Peritoneal Dialysis*, Vol. 18, 2002

## Influence of the Preceding Exchange on Peritoneal Equilibration Test Results

Ana E. Figueiredo, Adriana Conti, Carlos E. Poli de Figueiredo

*The present study evaluates the influence of the preceding exchange on peritoneal equilibration test (PET) results in patients on automated peritoneal dialysis (APD).*

*A standard PET was performed following a 24-hour CAPD period with a preceding long overnight dwell of 8–10 hours ( $PET_{ST}$ ), and following the usual APD regimen with short overnight dwell ( $PET_{APD}$ ).*

*We evaluated 9 patients of mean age  $59 \pm 18$  years. Mean time on peritoneal dialysis was  $31 \pm 17$  months, and mean APD duration was  $15 \pm 11$  months. Mean D/P creatinine at 4 hours was  $0.77 \pm 0.12$  ( $PET_{ST}$ ) and  $0.77 \pm 0.13$  ( $PET_{APD}$ ,  $p = 0.901$ ). Mean D/D<sub>0</sub> glucose was  $0.33 \pm 0.07$  ( $PET_{ST}$ ) and  $0.36 \pm 0.09$  ( $PET_{APD}$ ,  $p = 0.347$ ). A significant correlation was seen between the D/P creatinine ratios ( $r = 0.946$ ,  $p < 0.001$ ) for the two PET methods and the D/D<sub>0</sub> glucose ratios ( $r = 0.554$ ,  $p = 0.017$ ) for the two PET methods. Transport classification did not change in any patient.*

*The current data support the use of the PET for peritoneal membrane evaluation immediately after cycler therapy in APD patients. We suggest that there is no need to change the dialysis regimen to a long dwell for the preceding exchange to evaluate peritoneal membrane characteristics when D/P creatinine and D/D<sub>0</sub> glucose ratios are measured.*

### Key words

Automated peritoneal dialysis, peritoneal transport

### Introduction

Peritoneal membrane characteristics can be evaluated using the peritoneal equilibration test (PET) introduced by Twardowski *et al* (1) for continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) patients. To assess peritoneal function, the dialysate-to-plasma creatinine ratio (D/P creatinine) and the ratio of dialysate glucose concentration divided by baseline glucose concentration (D/D<sub>0</sub> glucose) are measured. Based on the ratios

after a 4-hour dwell, the peritoneal transport type is classified as low, low-average, high-average, or high (1). The PET result can be used to individualize dialysis prescription, and helps in diagnosing ultrafiltration failure (1–3).

Recently, automated peritoneal dialysis (APD) has been prescribed as a treatment option, especially in patients with high peritoneal transport rates. The APD modality is performed overnight, using a cycler to achieve short dwell times (4).

The PET should be performed after a long night dwell of 8–12 hours (1). Evaluating peritoneal membrane transport in APD patients requires changing the treatment prescription on the day before the diagnostic procedure, which was originally developed for CAPD patients. Information on the influence of the preceding exchange on PET results is scarce (5,6). The aim of the present study was to evaluate the influence of the preceding bag exchange dwell time on the PET results of patients on APD.

### Patients and methods

The study was performed in the renal unit of Hospital S o Lucas (a university hospital in Porto Alegre, Brazil). We included 9 APD patients and performed two PETs. All patients had been on peritoneal dialysis treatment for at least 6 months. A standard PET was performed after a 24-hour CAPD period, with a preceding long overnight dwell of 8–10 hours ( $PET_{ST}$ ). Membrane function was also assessed following the usual APD regimen, with short overnight dwells ( $PET_{APD}$ ).

Each PET was performed according to the previously described method (1). After complete drainage of the peritoneal cavity, 2 L of 2.5% glucose dialysate solution was infused intraperitoneally within 10 minutes. Dwell time was 4 hours. A blood sample was obtained at 2 hours. Dialysate samples were obtained at 0, 2, and 4 hours dwell time. Creatinine and glucose were measured in blood and dialysate at the various dwell times.

From: Renal Unit, Hospital S o Lucas, Porto Alegre, Brazil.

The D/P creatinine ratio was performed at 0, 2, and 4<sup>h</sup> dwell, and D/D<sub>0</sub> glucose at 2 and 4<sup>h</sup> dwell. The peritoneal membrane transport characteristics of the patients were classified as high, high-average, low-average, and low as suggested by Twardowski<sup>1</sup>(1).

Results are presented as mean $\pm$  standard deviation. The paired Student *t*-test was used for comparison between the two PETs. The Pearson correlation coefficient was employed to evaluate the correlation between PET<sub>ST</sub> and PET<sub>APD</sub>. Data were processed and analyzed using the Excel and Oxstat<sup>®</sup> V software programs (Microsoft Corporation, Redmond, WA, U.S.A.).

### Results

We evaluated 9 patients (7<sup>♂</sup>men, 2<sup>♀</sup>women) of mean age 59 $\pm$  18<sup>years</sup> (range: 30<sup>—</sup> 78<sup>years</sup>). Mean time on peritoneal dialysis was 31 $\pm$  17<sup>months</sup> (range: 7<sup>—</sup> 60<sup>months</sup>), and mean APD duration was 15 $\pm$  11<sup>months</sup> (range: 0.5<sup>—</sup> 39<sup>months</sup>). Table 1 shows the D/P creatinine and D/D<sub>0</sub> glucose for PET<sub>ST</sub> and PET<sub>APD</sub>. No significant difference was present.

The D/P creatinine was significantly correlated between the two PET results ( $r^2 = 0.946$ ,  $p < 0.001$ ), as was the D/D<sub>0</sub> glucose ( $r^2 = 0.554$ ,  $p < 0.017$ ).

In all cases, the peritoneal membrane classification was the same for PET<sub>ST</sub> and PET<sub>APD</sub>: 3<sup>♂</sup>patients were classified as high transporters; 5<sup>♂</sup>patients, as high-average transporters; and 1<sup>♂</sup>patient, as a low-average transporter.

### Discussion

The present study shows that the PET results of patients on APD are similar, whether peritoneal function is evaluated following a 24-hour CAPD period with a

TABLE 1 Dialysate-to-plasma (D/P) creatinine and dialysate-to-instilled (D/D<sub>0</sub>) glucose ratios for standard and automated peritoneal dialysis (APD) peritoneal equilibration tests (PETs)

Ratio	Dwell time (hours)	PET (Mean $\pm$ SD)		p Value <sup>a</sup>
		Standard	APD	
D/P creatinine	0	0.217 $\pm$ 0.06	0.227 $\pm$ 0.09	0.764
	2	0.514 $\pm$ 0.09	0.482 $\pm$ 0.11	0.217
	4	0.766 $\pm$ 0.12	0.769 $\pm$ 0.13	0.901
D/D <sub>0</sub> glucose	2	0.607 $\pm$ 0.19	0.703 $\pm$ 0.19	0.331
	4	0.334 $\pm$ 0.07	0.360 $\pm$ 0.09	0.347

<sup>a</sup> By paired Student *t*-test.

preceding long overnight dwell of 8<sup>—</sup> 10<sup>h</sup> hours, or following the usual APD regimen with short overnight dwells. The D/P creatinine and D/D<sub>0</sub> glucose ratios were similar at all time points, and the peritoneal transport classification profile was not different whether the PET was preceded by a short or long dwell.

The PET is usually performed after a preceding dwell of 8<sup>—</sup> 12<sup>h</sup> hours (1,3), and APD is performed overnight using short dwell times. In evaluating the peritoneal membrane in APD patients, the dialysis prescription is altered on the previous day, so that peritoneal function is characterized in a standardized way (1,3,7). The change is annoying and exposes patient to a different routine, and may therefore increase the risk of peritonitis. In addition, patients with high peritoneal solute transfer rates who are likely to have inadequate ultrafiltration on standard CAPD (7) may become fluid-overloaded.

Little information on the influence of the preceding exchange on PET results is available (5,6). Interference of a preceding exchange on PET results has been previously described. A preceding dry period significantly changes PET results: the D/P ratios from a PET performed after a dry period would overestimate peritoneal transport rates in CAPD patients (5). An icodextrin exchange preceding a PET also increases the D/P creatinine and glucose absorption (8). In our study, the only patient who was kept dry during the day had similar results on both PETs.

It has also been suggested that no significant difference exists between PET results performed after a preceding short or long dwell time when D/P ratios of small solutes (creatinine and glucose) are measured (5,6). However, differences were seen in the case of D/P protein and albumin (5). Our study examined permeability for glucose and creatinine, and it agrees with the results reported by Lilaj *et al*'(5).

The current data support the use of the PET for peritoneal membrane evaluation immediately after cyclical therapy in APD patients. The data also suggest that, when D/P creatinine and D/D<sub>0</sub> glucose ratios are measured, changing the dialysis regimen to a long dwell for the preceding exchange is not necessary to evaluate peritoneal membrane characteristics.

### References

- 1 Twardowski ZJ, Nolph KD, Khanna R, *et al*. Peritoneal equilibration test. *Perit Dial Bull* 1987; 7:138—47.

## Preceding Exchange and PET Results

77

- 2 Heimburger O, Waniewski J, Werynski A, Tranus A, Lindholm B. Peritoneal transport in CAPD patients with permanent loss of ultrafiltration capacity. *Kidney Int* 1990; 38:495—506.
- 3 Twardowski ZJ. Clinical value of standardized equilibration tests in CAPD patients. *Blood Purif* 1989; 7:95—108.
- 4 Diaz-Buxo JA. Automated peritoneal dialysis. A therapy in evolution. *Contrib Nephrol* 1999; 129:1—14.
- 5 Lilaj T, Vychytil A, Schneider B, Herl WH, Haag-Weber M. Influence of the preceding exchange on peritoneal equilibration test results: a prospective study. *Am J Kidney Dis* 1999; 34:247—53.
- 6 Kaya G, Oztarhan S, Unal B, Kardeniz D. Pet performance in automated peritoneal dialysis [Abstract]. *Perit Dial Int* 2001; 21(Suppl 2):S142.
- 7 Twardowski ZJ, Khanna R, Nolph KD. Peritoneal dialysis modification to avoid CAPD drop-out. *Adv CAPD* 1987; 3:171—8.
- 8 Lilaj T, Dittrich E, Puttinger H, *et al.* A preceding exchange with polyglucose versus glucose solution modifies peritoneal equilibration test results. *Am J Kidney Dis* 2001; 38:118—26.

*Corresponding author:*

Ana Elizabeth Figueiredo, Miracema 407, Bairro Chacara das Pedras, CEP 91330.490, Porto Alegre, Brazil.



**ANEXO G**  
**ARTIGO EM FASE DE ENCAMINHAMENTO AO**  
***PERITONEAL DIALYSIS INTERNATIONAL***

ENDOTHELIUM-DEPENDENT VASODILATION AND MEMBRANE FUNCTION IN  
PERITONEAL DIALYSIS

Ana Elizabeth Figueiredo, Bartíra E. Pinheiro da Costa, Adriana Conti, André A.  
Poitevin, Breno Acauan Filho, Elton Torres, Domingos O. d'Ávila, Carlos E. Poli de  
Figueiredo

Programa de Pós-graduação em Medicina e Ciências da Saúde (Nefrologia),  
IPB/HSL/FAMED/FAENFI from PUCRS. Porto Alegre, Brazil.

Supported by CNPq, SCT, Fapergs and PUCRS.

Correspondence:

Ana Elizabeth Figueiredo

Rua Miracema 407

Bairro Chácara das Pedras

Porto Alegre, RS, Brazil

CEP 91330.490

e-mail: [anaef@pucrs.br](mailto:anaef@pucrs.br)

Phone: + 55 51 33348151 or +55 51 33367700

Fax: + 55 51 33367700

Running title: Endothelial function in PD

## ENDOTHELIUM-DEPENDENT VASODILATION AND MEMBRANE FUNCTION IN PERITONEAL DIALYSIS

### ABSTRACT

**BACKGROUND:** Peritoneal dialysis patients have different membrane characteristics regarding solute transport and ultrafiltration. It is possible that endothelial function influences peritoneal membrane transport. The aim of the present study was to evaluate endothelial function in peritoneal dialysis patients with different categories of peritoneal membrane transport.

**METHODS:** A transversal study was performed in 31 adult clinically stable peritoneal dialysis patients free of peritonitis for at least one month, and not using nitric oxide donors. The 4-h dialysate/plasma ratios of creatinine (D/Pcr) *quartiles* were used to classify patient's peritoneal membrane transport as low (0.39 – 0.50), low average (0.52 – 0.60), high average (0.62 – 0.71) and high transporters (0.73 – 0.95). Nitric oxide metabolites were measured by chemiluminescence. Endothelial function was evaluated by flow-mediated dilation using a linear 7.0 MHz transducer (Acuson 128XP/10).

**RESULTS:** Median (interquartile range) flow-mediated dilation was 12.3% (1.6-14.2), 13.5% (3.7-19), 9.6% (4.5-14.2) and 19.8% (10.9-28.4) for high, high average, low average and low transporters (Anova= 0.070).

**CONCLUSIONS:** No significant difference between the groups regarding brachial artery flow-mediated dilation was detected between the different categories of membrane transport function. Peritoneal dialysis prescription does not need to be adjusted based on endothelial function.

### KEY WORDS

Endothelium-dependent relaxing factors; Endothelium, vascular; Nitric oxide; Peritoneal equilibration test; Peritoneal membrane function; Solute transport.

## INTRODUCTION

The vascular endothelium is a complex organ, with multiple functions, including regulation of the cardiovascular system. It produces vasoactive substances, vasoconstrictors and vasodilators, acting upon vascular smooth muscles cells, inhibiting platelet adhesion and aggregation, and interacting with leukocytes. The endothelial cell is able to detect minimal changes in blood pressure and blood flow, participates in the oxidative balance, coagulation, inflammation and immune system activation. The endothelial function is closely related to cardiovascular risk factors and cardiovascular diseases (1, 2).

There are several methods to evaluate endothelial function. The endothelium-dependent vasodilation, an index of endothelial function, can be measured non-invasively in peripheral arteries, such as the brachial artery, using a high-resolution ultrasound. This method evaluates the changes in brachial artery diameter by reactive hyperemia induced by blood flow following a period of induced ischemia. Reactive hyperemia occurs when blood flow is restored following the occlusion of an artery for a short period, leading to the release of mediators that results in peripheral vasodilation (3, 4).

Peritoneal dialysis (PD) is one of the main life-supporting therapies for patients with chronic renal failure, which uses the patient own peritoneal membranes to perform exchange between the blood and the dialysate. There are large differences in solute and fluid exchange between individual patients treated with PD (5). Solute transport is currently the single most important aspect of membrane function that should be monitored longitudinally in long-term PD patients (6). Solute clearances depend upon effective peritoneal surface area, i.e. the functional area of exchange between blood and dialysate, which is mainly determined by the perfused capillary surface area (7). So peritoneal membrane function is dependent on vascular function and permeability, influences dialysis prescription, clinical outcome and may change with time on treatment (6).

Endothelial dysfunction is associated with several diseases, including cardiovascular disorders. PD patients have a high cardiovascular mortality, not completely explained by the traditional risk factors. Other factors related to chronic renal failure or dialysis can lead to endothelial dysfunction, which has been associated with reduced nitric oxide activity in end-stage renal failure patients. Endothelium-dependent vasodilation is altered in hemodialysis and PD patients (8,

9). Nitric oxide (NO) is synthesized from L-arginine by nitric oxide synthases (NOS), and is a key factor in controlling blood flow, vascular tone and permeability (10-12). NO has a very short half-life and is metabolized to its stable end products nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) and nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ), together referred as  $\text{NO}_x$ , which can be measured to estimate NO levels.

It is conceivable that endothelial function may act upon the peritoneum permeability and affect peritoneal function in peritoneal dialysis. Considering that PD patients have different membrane characteristics regarding solute transport and ultrafiltration, and the possible influence of endothelial function on peritoneal membrane transport. A study to evaluate endothelial function in PD patients with different categories of peritoneal membrane transport, classified by the peritoneal equilibration test (PET) was performed.

## METHODS

A transversal study was performed in adult PD patients free of peritonitis for at least one month, from the Renal Unit of *Hospital São Lucas* from *PUCRS* in Porto Alegre, Brazil. They were all clinically stable, with no inflammatory or infectious complications, and were not using NO donors.

A standard PET evaluated peritoneal membrane transport as previously reported (13, 14), following an overnight fasting period. The 4-h dialysate/plasma ratios of creatinine (D/Pcr) *quartiles* were used to classify patient's peritoneal membrane transport as low (0.39 – 0.50), low average (0.52 – 0.60), high average (0.62 – 0.71) and high transporters (0.73 – 0.95). This adapted classification resulted in similar values to the ones proposed by Twardowski et al (13): low (0.34-0.50), low average (0.51-0.64), high average (0.65-0.80) or high (0.81-1,03) transporters.

Adequacy of dialysis was estimated by measurements of total weekly urea clearance (Kt) normalized to total body water (V). Peritoneal Kt was estimated from a 24-h dialysate urea and serum urea concentration at the completion of the collection. Dialysate creatinine concentration was corrected, for glucose interference, using a correction factor determined in our laboratory.

NO metabolites were measured by chemiluminescence's, using the 280 Nitric Oxide Analyzer (Sievers, Ionics Instrument Business Group, Boulder, CO, USA). Nitrates and nitrites (NOx) measurements were performed in a purge vessel at 94°C using vanadium chloride (8%) as the reducing agent diluted into hydrochloric acid (1M). Calibration curves were obtained in duplicate concentrations from 1 a 100 µM. The correlation coefficient of the calibration curve was 0,9993. Samples were stored at -80°C. Serum samples were deproteinized by incubation (3:1) with ethanol in ice-cold water bath for 30 minutes, while dialysate samples were measured without previous treatment. Centrifugation at 14,000 rpm was then performed, and the supernatant was retrieved for analysis. The concentration of NOx was corrected, against the standard solutions. Results of the duplicate determinations were also corrected for previous dilutions. NOx were measured in the samples drawn to evaluate Kt/V and PET: serum, 24-h and 4-h dialysate.

Flow-mediated dilation (FMD) was performed at the Ultrasound Unit at using the recommendations of the International Brachial Artery Reactivity Task Force (4). No patients were using drugs with NO donors or phosphodiesterase inhibitors. A linear 7.0 MHz transducer (Acuson 128XP/10) was used. Longitudinal scanning of the

brachial artery was used to assess artery diameter at the end of diastole. Following the initial reading, a cuff was inflated at the middle of the arm to a pressure of 300 mmHg for 4.5 minutes. The second reading was done 45 to 60 seconds after deflating the cuff. FMD was calculated for each patient as the percentage of diameter increase during the increased flow (reactive hyperemia), in relation to its basal condition (15).

Results are expressed as mean (standard deviation), median (interquartile range) or percentages. Statistics employed analysis of variance (ANOVA) using the Duncan *post hoc* test to localize differences. Chi-square or Fisher exact test were also used for comparisons and Pearson correlation coefficient employed to verify associations. Simple linear regression of logarithm-transformed data was used to evaluate linear tendencies. *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS version 11 for Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) was used.

## RESULTS

Clinical and demographic variables from 31 patients are shown in Table 1. The main causes for renal replacement therapy were diabetic nephropathy (n=3), chronic glomerulonephritis (n=3), hypertensive nephropathy (n=12), polycystic kidney disease (n=3), systemic lupus erythematosus (n=2) and others (n=8). Comparison of the variable D/P ratio of creatinine between the standard PET and the *quartile* PET, for the different peritoneal membrane functions is presented in Table 2. In the new classification, dividing the categories by *quartile*, 5 patients previously classified as high average were considered high, 3 low average became high average and further 2 low average became low transporters. Mean D/P ratios of creatinine were significantly different, between the two classifications, only in the high average category.

Table 3 shows brachial artery FMD in all the categories of membrane transport function. There was no significant difference between the groups regarding FMD or pre-flow occlusion vessel diameter. Despite that FMD seems to be higher in the low transporters group (Figure 1). To evaluate trend a simple regression of the FMD values on the different peritoneal membrane categories was performed. The linear tendency had a P value of 0.052, while analysis of log transformed data resulted in a P value of 0.062.

Pearson correlation coefficient of FMD with the clinical, peritoneal permeability, quality of dialysis and NO variables were performed. FMD was inversely correlated with initial vessel diameter ( $r=-0.443$ ,  $p=0.013$ ). It was also inversely correlated with 24-h ( $r=-0.393$ ,  $p=0.029$ ) and 4-h ( $r=-0.358$ ,  $p=0.048$ ) peritoneal NOx, and directly correlated with D/D<sub>0</sub> glucose ( $r=0.358$ ,  $p=0.048$ ). On the other hand, FMD was not significantly correlated with other peritoneal function parameters (D/P creatinine, Kt/V or ultrafiltration) or with serum NOx.

## DISCUSSION

The present study evaluated FMD in stable PD patients with different PET categories. No significant difference in FMD was detected between the different peritoneal membrane function categories.

Twardowski et al in 1987 (13), employed D/P creatinine means and its standard deviations to classify peritoneal transport. In the present study, patient

classification using the original values resulted in an unbalanced patient distribution, with many borderline values. In order to improve data analysis, we opted to separate categories using D/P creatinine *quartiles*. Such approach led to a more uniform patient distribution, and categories with values minimally different to the standard test. Despite that, all data was analyzed using the standard classification, and the results interpretation was the same.

FMD in the low transporters group seemed to be higher than in the other groups. Trend was evaluated using a simple regression of the FMD values, and its log transformed data, on the different peritoneal membrane categories, and statistical significance was also not reached.

Several evidence points to altered endothelial function in renal failure patients. Kim et al (16) showed that endothelial injury, evaluated by measuring von Willenbrand factor in plasma, is more pronounced in PD patients with ultrafiltration failure compared to those without. The present study did not assess patients with ultrafiltration failure, because none of patients had ultrafiltration failure. Endothelial function was impaired in advanced chronic renal failure and CAPD patients examined by forearm plethysmography to measure blood flow and the changes induced by carbachol, a endothelium-dependent vasodilator (17). Using a pulse-wave analysis methodology, combined with provocative pharmacological testing, marked endothelial dysfunction was demonstrated in well hemodialyzed patients (18). Endothelial-dependent vasodilation is impaired in chronic hemodialysis (19), and factors intrinsic to the uremic state could cause endothelial dysfunction (8). A single hemodialysis treatment causes transient increase in brachial artery FMD, but automated peritoneal dialysis had no acute effect (9). An impaired endothelium-dependent brachial vasodilation in dialysis patients may reflect generalized increase atherogenic and thrombogenic endothelial properties (8, 20, 21). ED has been proposed to be an early event of physiopatological importance in the atherosclerotic process (22, 1). Thambyrajah et al (23) used FMD to demonstrate that endothelial function was affected in chronic renal failure patients even with mild renal insufficiency.

FMD was inversely correlated with 24-h and 4-h peritoneal NOx, but not with serum NOx. Increased NOx peritoneal levels (24, 25, 26, 27, 28, 29) and nitric oxide synthase upregulation (30, 31) during peritonitis and have been shown in PD patients. In stable CAPD patients, correlation between the mass transfer area



coefficient of nitrate with that of creatinine (25) and the dialysate/plasma ratio of nitrate lower than one (25, 32) indicates diffusion from the circulation instead of local production. In chronic renal failure patients, and those treated with hemodialysis, total production of NO has been shown to be low (33,34), which may contribute to hypertension, endothelial dysfunction, and disease progression in chronic renal failure (33, 34). Lack of correlation between FMD and plasma NO has already been reported in healthy subjects (35) and systemic sclerosis (36). As far as we are aware, the correlation between brachial artery FMD and peritoneal NO has not been previously described. Furthermore, no studies in uremic or dialysis patients examining brachial artery FMD and direct NOx measurements simultaneously could be found. FMD in patients with different cardiovascular risk factors respond differently to L-arginine administration (37), indicating differing underlying pathophysiologies for patients with different risk factors. The concept that altered FMD is dependent on NO has been challenged, and the Framingham Heart Study group recently reported that impaired FMD of the brachial artery may be due not to impaired release of NO from the vascular endothelium (38).

Endothelial function in the present study, evaluated by brachial artery FMD, does not seem to determine the peritoneal membrane function categories in peritonitis-free patients treated with peritoneal dialysis.

Studies with an increased sample size, and using other methodologies to evaluate endothelial function will be needed to confirm our findings. Our study suggests that peritoneal dialysis prescription do not need to be adjusted based on the endothelial function.

## REFERENCES

1. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340:1111-5.
2. Schächinger V, Britten MB, Zheisher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 2000; 101:1899-906.

3. Faulx MD, Wright AT, Hoit BD. Detection of endothelial dysfunction with brachial artery ultrasound scanning. *Am Heart J* 2003; 145:943-51.
4. 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* 2002; 39:257-65.
5. Haraldsson B. Assessing the peritoneal dialysis capacities of individual patients. *Kidney Int* 1995; 47:1187-98.
6. Davies SJ. Monitoring of long-term peritoneal membrane function. *Perit Dial Int* 2000; 21:225-30.
7. Devuyst O. Molecular mechanisms involved in the peritoneal membrane exposed to peritoneal dialysis. *Nefrología* 2003; 23(suppl 3):32-7.
8. van Guldener C, Janssen MJFM, Lambert J, Steyn M, Donker AJM, Stenhouwer CDA. Endothelium-dependent vasodilatation is impaired in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13:1782-6.
9. Cross JM, Donald A, Vallance PJ, Deanfield JE, Woolfson RG, MacAllister J. Dialysis improves endothelial function in humans. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16:1823-9.
10. Combet S, Miyata T, Moulin P, Pouthier D, Goffin E, Devuyst O. Vascular proliferation and enhanced expression of endothelial nitric oxide synthase in human peritoneum exposed to long-term peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11:717-28.
11. Kubes P. Nitric oxide affects microvascular permeability in the intact and inflamed vasculature. *Microcirculation* 1995; 2:235-244.

12. Kone BC. Nitric oxide in renal health and disease. *Am J Kidney Dis* 1997 30:311-333.
13. Twardowski ZJ, Nolph KD, Khanna R, Prowant BF, Ryan LP, Moore HL, Nielsen MP. Peritoneal Equilibration Test. *Perit Dial Bull* 1987; 7:138-47.
14. Figueiredo AE, Conti A, Poli de Figueiredo CE. Influence of the preceding exchange on peritoneal equilibration test. *Adv Perit Dial* 18:75-7, 2002.
15. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24:1468-74.
16. Kim SB, Lee SK, Park JS. Endothelial injury in peritoneal dialysis patients with ultrafiltration failure. *Ren Fail* 2004; 26:45-8.
17. Morris STW, McMurray JJV, Rodger SC, Jardine AG. Impaired endothelium-dependent vasodilatation in uraemia. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15:1194-200.
18. Covic A, Goldsmith DJA, Gusbeth-Tatomir P, Covic M. Hemodialysis acutely improves endothelium-independent vasomotor function without significantly influencing the endothelium-mediated abnormal response to a  $\beta$ 2-agonist. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19:637-43.
19. van Guldener C, Lambert J, Janssen MJFM, Donker AJM, Stenhouwer CDA. Endothelium-dependent vasodilatation and distensibility of large arteries in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12(Suppl 2):14-8.
20. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrangre D, Lieberman EH, Ganz P, Creager MA, Yeung AC, Selwyn AP. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26:1235-41.

21. Neunteufl T, Katzenschlager R, Hassan A, Klaar U, Schwarzacher S, Glogar D, Bauer P, Weidinger F. Systemic endothelial dysfunction is related to the extent and severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1997; 129:111-8.
22. Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:1983-92.
23. Thambyrajah J, Landray MJ, McGlynn FJ, Jones HJ, Wheeler DC, Townend JN. Abnormalities of endothelial function in patients with predialysis renal failure. *Heart* 2000; 83:205-9.
24. Davenport A, Fernando R, Varghese Z. Intraperitoneal nitric oxide production in patients treated by continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Blood Purif* 2004; 22:216-23.
25. Douma CE, de Waart DR, Zemel D, Imholz ALT, Koomen GCM, Struijk DG, Krediet RT. Nitrate in stable CAPD patients and during peritonitis. *Adv Perit Dial* 1995; 11:36-40.
26. Yang CW, Hwang TL, Wu CH, Wu MS, Lai PC, Huang JY, Yu CC, Shyl MH, Huang CC. Peritoneal nitric oxide is a marker of peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11:2466-71.
27. Oymak Y, Velioglu A, Haklar G, Ozener C, Yalcin AS. Early detection of peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients by cytokine measurements. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41(5):640-5.
28. Suh H, Wadhwa NK, Peresleni T, McNurlan M, Garlik P, Goligorsky MS. Decreased L-arginine during peritonitis in ESRD patients on peritoneal dialysis. *Adv. Perit Dial* 1997; 13:205-9.
29. Suh H, Peresleni T, Wadhwa N, McNurlan M, Garlik P, Goligorsky MS. Amino acid profile and nitric oxide pathway in patients on continuous peritoneal dialysis: L-arginine depletion in acute peritonitis. *Am J Kid Dis* 1997; 29:712-9.

30. Devuyst O, Nilsen S, Cosyns JP, Smith BL, Agre P, Squifflet JP, Pouthier D, Goffin E. Aquaporin-1 and endothelial nitric oxide synthase expression in capillary endothelia of human peritoneum. *Am J Physiol* 1998; 275:H234-H242.
31. Devuyst O, Combet S, Cnops Y, Stoenoiu MS. Regulation of NO synthase isoforms in the peritoneum: implications for ultrafiltration failure in peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16:675-8.
32. Plum J, Tabatabaei MM, Lordnejad MR, Pipinika O, Razeghi P, Huang C, Meyer-Kirchrath J, Grabensee B. Nitric Oxide production in peritoneal macrophages from peritoneal dialysis patients with bacterial peritonitis. *Perit Dial Int* 1999; 19(Suppl 2):s378-s383.
33. Schmidt RJ, Yokota S, Tracy T, Sorkin MI, Baylis C. Nitric oxide production is low in end-stage renal disease patients on peritoneal dialysis. *Am J Physiol* 1999; 276:F794-F797.
34. Schmidt RJ, Baylis C. Total nitric oxide production is low in patients with chronic renal disease. *Kidney Int* 2000; 58:1261-66.
35. Li R, Lyn D, Lapu-Bula R, Oduwole A, Igho-Pemu P, Lankford B, Morgan J, Nkemdechi S, Liu G, Pack C, Silvestrov N, von Deutsch DA, Song Q, Abukhalaf IK, Ofili E. Relation of endothelial nitric oxide synthase gene to plasma nitric oxide level, endothelial function, and blood pressure in African Americans. *Am J Hypertens* 2004;17:560-7.
36. Andersen GN, Mincheva-Nilsson L, Kazzam E, Nyberg G, Klintland N, Petersson AS, Rantapää-Dahlqvist S, Waldenström A, Caidahl K. Assessment of vascular function in systemic sclerosis: indications of the development of nitrate tolerance as a result of enhanced endothelial nitric oxide production. *Arthritis Rheum* 2002; 46:1324-32.

37. Thorne S, Mullen MJ, Clarkson P, Donald AE, Deanfield JE. Early endothelial dysfunction in adults at risk from atherosclerosis: different responses to L-arginine. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:110-6.

38. Mitchell GF, Parise H, Vita JA, Larson MG, Warner E, Keaney Jr JF, Keyes MJ, Levy D, Vasan RS, Benjamin EJ. Local shear stress and brachial artery flow-mediated dilation. The Framingham Heart Study. *Hypertension* 2004; 44:134-9.

## TABLES

**Table 1:** Clinical and demographical variables (n=31)

Variable	Summary
Age (years)	49±18
Female gender, n (%)	16 (52)
Skin color, White, n (%)	27 (87)
Treatment system, n (%)	
CAPD	26 (84)
APD	5 (16)
Time on dialysis (months)	23 (9-50)
Smokers, n (%)	10 (32)
Regular alcohol consumption, n (%)	1 (3.2)
Blood pressure	
Systolic, (mmHg)	136±22
Diastolic, (mmHg)	85±16
Peritoneal dialysis data	
Weekly Kt/V	1.86±0.33
D/D <sub>0</sub> glucose	0.54±0.11
D/P creatinine	0.63±0.14
Ultrafiltration, (mL)	300 (200-400)
Residual diuresis, (mL)	200 (0-500)
Nitric oxide metabolites	
Serum (uM)	47 (31-84)
D <sub>24h</sub> (uM)	40 (23-59)
D <sub>4h</sub> (uM)	33 (20-46)

Data are shown as mean ± standart deviation, median (interquartil range:P25 – P75) or frequency (percentual). D<sub>24h</sub>=24 hour dialysate; D<sub>4h</sub>=4 hour dialysate.

**Table 2:** Comparison of D/P ratio of creatinine in the different categories of peritoneal function between the standard PET and the *quartile* PET (n=31).

Categories		Standard (n)	Quartile (n)	P*
High	Mean (SD)	0.90±0.05	0.81±0.08	0,107
	Lower – Higher	0.85 – 0.95 (3)	0.73 – 0.95 (8)	
High average	Mean (SD)	0.71 ± 0.05	0.66 ± 0.03	<b>0.008</b>
	Lower – Higher	0.65 ± 0.78 (11)	0,62 ± 0,71 (9)	
Low average	Mean (SD)	0.56 ± 0.05	0.56 ± 0.03	0.752
	Lower – Higher	0.50 – 0.62 (13)	0.52 – 0.60 (8)	
Low	Mean (SD)	0.43 ± 0.04	0.45 ± 0.05	0.419
	Lower – Higher	0.39 – 0.48 (4)	0.39 – 0.50 (6)	

Data are shown as mean ± standard deviation. \*Student t test.

**Table 3:** Flow-mediated dilation (FMD) in the different peritoneal membrane categories.

	Total (n=31)	Peritoneal equilibration test categories			P*	
		High (n=8)	High Average (n=9)	Low average (n=8)		Low (n=6)
Initial diameter (mm)	3.9 ± 0.65	3.7 ± 0.56	4.3 ± 0.77	3.9 ± 0.56	3.6 ± 0.49	0.119
DMF (%)	12.8 (5.1-17.8)	12.3 (1.6-14.2)	13.5 (3.7-19)	9.6 (4.5-14.2)	19.8 (10.9-28.4)	0.070

Data are presented as mean ± standard deviation or median (interquartile range, P25 – P75).  
\* ANOVA.



FIGURE 1

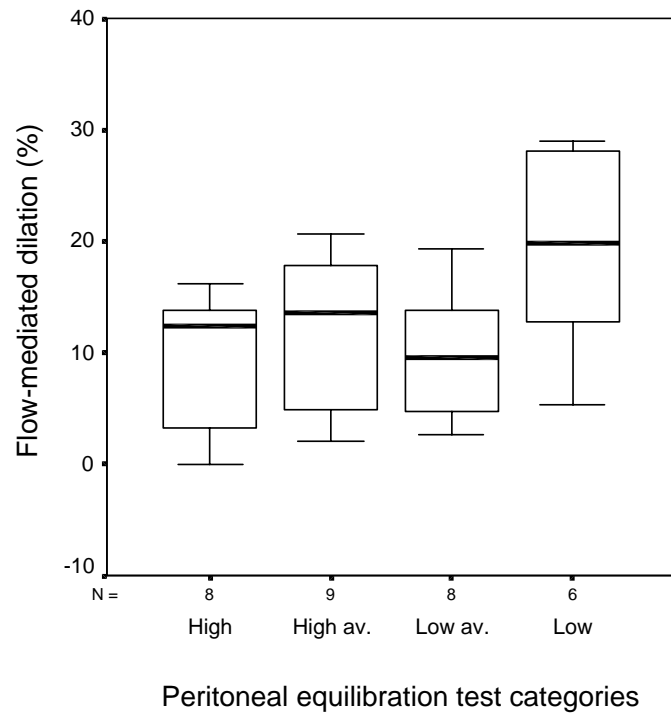


FIGURE LEGEND

Box-plot of flow-mediated dilation in the different PET categories.

**ANEXO H****ARTIGO EM FASE DE ENCAMINHAMENTO AO *KIDNEY INTERNATIONAL***

PERITONEAL EQUILIBRATION TEST AND NITRIC OXIDE IN PERITONEAL  
DIALYSIS.

Ana Elizabeth Figueiredo, Bartira E. Pinheiro da Costa, Adriana Conti, Domingos O.  
d'Ávila, Carlos E. Poli de Figueiredo

Programa de Pós-graduação em Medicina e Ciências da Saúde (Nefrologia),  
IPB/HSL/FAMED/FAENFI from PUCRS. Porto Alegre, Brazil.

Supported by CNPq, SCT, Fapergs and PUCRS.

Correspondence:

Ana Elizabeth Figueiredo

Rua Miracema 407

Bairro Chácara das Pedras

Porto Alegre, RS, Brazil

CEP 91330.490

e-mail: [anaef@pucrs.br](mailto:anaef@pucrs.br)

Phone: + 55 51 33348151 or +55 51 33367700

Fax: + 55 51 33367700

**SHORT TITLE:** PET AND NITRIC OXIDE IN PD

**ABSTRACT**

**BACKGROUND:** Peritoneal dialysis (PD) patients have different peritoneal membrane characteristics regarding solute transport and ultrafiltration. Nitric oxide (NO) is a vasodilator, modifies vascular permeability and may be a critical factor in mediating peritoneal vasodilation during peritonitis. The aim of the present study was to evaluate serum ( $S_{NOx}$ ) and dialysate ( $D_{NOx}$ ) NO in patients with different peritoneal equilibration test (PET) categories.

**METHODS:** Transversal study in stable PD patients, free of peritonitis for at least a month. The 4-h dialysate/plasma (D/P) ratios of creatinine *quartiles* were used to classify patient's peritoneal membrane transport as low, low average, high average and high transporters. Nitric oxide metabolites were measured by chemiluminescence (n=41).

**RESULTS:** Serum, 24-h and 4-h dialysate NO were not different among PET categories. The 4-h dialysate/serum NO ratio ( $D/P_{NO}$ ) was also not different ( $p=0,096$ ), but data suggested increasing trend, from lower towards higher transporters. There was a correlation between 4-h dialysate and serum NO ( $r=0.891$ ,  $p<0.001$ ).  $D/P_{NO}$  was inversely correlated with glucose transport ( $r=-0.579$ ,  $p<0.001$ ) and ultrafiltration ( $r=-0.422$ ,  $p<0.001$ ) and directly correlated to D/P creatinine ( $r=0.533$ ,  $p<0.001$ ).

**CONCLUSION:** It is suggested that NO levels reflect peritoneal permeability. Dialysate nitric oxide is not a sensible marker of the local production of NO in peritonitis free patients.

**KEY-WORDS:**

Endothelium-dependent relaxing factors; Endothelium, vascular; Peritoneal membrane function; Solute transport.

## PERITONEAL EQUILIBRATION TEST AND NITRIC OXIDE IN PERITONEAL DIALYSIS.

### INTRODUCTION

Peritoneal dialysis (PD) is one of the main substitutive therapies for patients with chronic renal failure. In contrast to membranes used in hemodialysis, the functional characteristics of individual peritoneal membranes are not previously known. It has been early recognized that there are large differences in solute and fluid transport, among individual patients, treated with continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). Therefore, for some patients CAPD provides only temporary treatment, due to refractory peritonitis and loss of ultrafiltration (1).

Twardowski et al (2) introduced a simple transport evaluation test - the peritoneal equilibration test (PET) - that greatly improved our knowledge of individual patients and dialysis treatment prescription. Solute transport is currently the single most important aspect of membrane function that should be monitored longitudinally in long-term PD patients (3). Solute clearances depend on effective peritoneal surface area, i.e. the functional area of exchange between blood and dialysate, which is mainly determined by the perfused capillary surface area (4). The peritoneal membrane function influences dialysis prescription and clinical outcome and may change with time (3).

Nitric oxide (NO), synthesized from L-arginine by nitric oxide synthases (NOS), is a key factor in controlling blood flow, vascular tone and permeability (5, 6). NO production contributes to the angiogenic properties of vascular endothelial growth factor (VEGF) (7, 8). NO has a very short half-life and is metabolized to its stable end products ( $\text{NO}_x$ ): nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) and nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ), which can be measured to estimate NO levels (9). Considering that PD patients have different membrane characteristics, regarding solutes transport, ultrafiltration and the biological actions of nitric oxide, it is possible that NO is involved in peritoneal membrane transport in PD patients.

Studies have evaluated the NO pathway in patients on PD in several ways. Increased NO peritoneal levels during peritonitis have been shown (10-15), possible resulting from peritoneal mesothelial cells production (10,16) and peritoneal macrophages (17). Besides, dialysate/plasma nitrate ratio is greater during peritonitis

than on recovery (11,12, 17, 18), and NOS has been shown to be upregulated in PD patients with peritonitis and inflammation (19,20). NO generation, during episodes of peritonitis, could affect peritoneal transport by increasing capillary dilation and peritoneal permeability (10).

Total production of NO has been shown to be low in end stage renal disease patients (21, 22). In stable CAPD patients, correlation between the mass transfer area coefficient (MTAC) of nitrate with that of creatinine (11) and the dialysate/plasma ratio of nitrate lower than one (11, 17) indicates diffusion from the circulation instead of local production. The NO<sub>x</sub> concentrations in plasma were correlated with its dialysate concentration (23).

NOS activity was found to be increased in peritoneal biopsies from long-term PD patients, suggesting that NO and NOS play a role in the permeability changes and in the increased effective peritoneal surface area (20, 24). Furthermore, intraperitoneally administered NO donors, in CAPD patients, increase MTACs of low molecular weight solutes and of proteins (25, 26).

Apparently no previous studies have examined NO levels in relation to different categories of peritoneal membrane function measured by a clinically useful test, such as PET. The current paper is aimed at evaluating serum and dialysate NO in peritoneal dialysis patients in different categories of peritoneal membrane transport, as classified by PET.

## **METHODS**

A cross-sectional study was performed in 41 adult PD patients, free of peritonitis for at least one month, at the Renal Unit of Hospital São Lucas (PUCRS, Porto Alegre, Brazil). All patients were clinically stable, with no inflammatory or infectious complications, and not using NO donors. The Ethics Committee approved the protocol.

A standard PET test evaluated peritoneal membrane transport as previously reported (2, 27), following an overnight fasting period. The 4-h samples of dialysate/plasma ratios of creatinine (D/P<sub>Cr</sub>) was separated by quartiles in orders to classify patient's peritoneal membrane transport as low (0.39 – 0.49), low average (0.50 – 0.60), high average (0.62 – 0.72) and high transporters (0.73 – 0.95). This adapted classification resulted in similar values to those proposed by Twardowski et

al (2): low (0.34-0.50), low average (0.51-0.64), high average (0.65-0.80) or high (0.81-1,03) transporters.

Adequacy of dialysis was estimated by measuring the total weekly urea clearance (Kt) normalized to total body water (V). Peritoneal Kt was estimated from a 24-h dialysate urea and serum urea concentration obtained at the completion of the collection period. Dialysate creatinine concentration was corrected, for glucose interference, using a correction factor determined in our laboratory.

NO metabolites were measured by chemiluminescence's, using the 280 Nitric Oxide Analyzer (Sievers, Ionics Instrument Business Group, Boulder, CO, USA). Nitrates and nitrites (NO<sub>x</sub>) measurements were performed in a purge vessel at 94°C using vanadium chloride (8%) as the reducing agent diluted into hydrochloric acid (1M). Calibration curves were obtained in duplicate concentrations from 1 a 100 µM. The correlation coefficient of the calibration curve was 0,9993. Samples were stored at -80°C. Serum samples were deproteinized by incubation (3:1) with ethanol in ice-cold water bath for 30 minutes, while dialysate samples were measured without previous treatment. Centrifugation at 14,000 rpm was then performed, and the supernatant was retrieved for analysis. The concentration of NO<sub>x</sub> was corrected, against the standard solutions. Results of the duplicate determinations were also corrected for previous dilutions.

NO<sub>x</sub> were measured in the samples drawn to evaluate Kt/V and PET: 24-h dialysate; zero, two and four-hour PET dialysate; and two-hour PET serum sample. The results were used to calculate 24-h and 4-h dialysate/serum ratios of NO<sub>x</sub> ( $D_{24h}/P_{NO}$  and  $D_{4h}/P_{NO}$ ). Blood sample was obtained after a fast of at least 12 hours.

Results are expressed as mean ( $\pm$  standard deviation), median (interquartile range), or percentages. Statistics employed Analysis of variance (ANOVA) with Duncan *post hoc* test to localize differences. All asymmetric variables were rank transformed prior to analysis. Chi-square, or Fisher exact test, were used for comparisons, and Pearson correlation coefficient employed to verify associations. Linear regression analysis of logarithm-transformed data was used to evaluate linear tendencies. *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS, version 11 for Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) was used.

## RESULTS

Clinical and demographic variables are shown in Table 1. The causes for renal replacement therapy were diabetic nephropathy (n=5), chronic glomerulonephritis (n=3), hypertensive nephropathy (n=17), polycystic kidney disease (n=4), systemic lupus erythematosus (n=3) and others (n=9).

Comparison of the D/P ratio of creatinine on standard PET and on the *quartile* PET, for different peritoneal membrane categories is presented in Table 2. By the separation in *quartiles*, 7 patients previously classified as “high average” were considered “high” and 3 “low average” became “high average”. All the remaining was kept in the same category. Mean D/P ratios of creatinine between the two classifications were significantly different, only for “high average” category.

The NO levels for different PET categories are shown in Table 3. Serum, 24-h and 4-h dialysate NO were not different among PET categories.  $D_{24h}/P_{NO}$  was also not different ( $p=0,096$ ), but data suggested an increasing trend, from lower towards higher transporters. A simple linear regression analysis to assess this  $D_{24h}/P_{NO}$  tendency was significant ( $P=0,012$ ).  $D_{4h}/P_{NO}$  in “low” and “low average” groups were significantly different from that in “high average” and “high” transport groups.

No significant differences among groups, regarding age, race, gender, smoking, regular alcohol-consumption, blood pressure, Kt/V, ultrafiltration and residual diuresis were detected. Time on dialysis was greater in the “high average” group when compared with the “low” and “low average” ( $p=0,04$ , ANOVA). There was a significant difference in D/P ratio of creatinine and D/D<sub>0</sub> ratio of glucose between the four categories, as expected.

Possible associations between variables were evaluated using Pearson's correlation coefficient. D/D<sub>0</sub> ratio of glucose and D/P ratio of creatinine were inversely correlated ( $r=-0,913$ ,  $P<0,001$ ). D/P ratio of creatinine was inversely correlated with ultrafiltration ( $r=-0,364$ ,  $P=0,019$ ), and directly correlated with the NO permeability parameters  $D_{24h}/P_{NO}$  ( $r=0,379$ ,  $P=0,016$ ) and  $D_{4h}/P_{NO}$  ( $r=0,476$ ,  $P=0,002$ ). The opposite occurred with D/D<sub>0</sub> glucose (Ultrafiltration,  $r=0,326$ ,  $P=0,022$ ;  $D_{24h}/P_{NO}$ ,  $r=-0,436$ ,  $P=0,005$ ; and  $D_{4h}/P_{NO}$ ,  $r=-0,533$ ,  $P<0,001$ ). Ultrafiltration was also inversely correlated with  $D_{24h}/P_{NO}$  ( $r=-0,568$ ,  $P<0,001$ ). It is worth mentioning that Kt/V was not significantly correlated with serum and peritoneal NO or with  $D_{24h}/P_{NO}$  and  $D_{4h}/P_{NO}$ .

## DISCUSSION

The current study evaluated serum and dialysate NO metabolites in stable PD patients in different PET categories. There was no difference in serum and peritoneal NO<sub>x</sub> concentration in any of the categories of peritoneal membrane function. Creatinine peritoneal transport parameters were directly correlated with NO<sub>x</sub> peritoneal transport, while an inverse relationship was present for glucose transport. It suggests that NO<sub>x</sub> levels reflect peritoneal solute permeability, and that dialysate NO is not a sensible enough marker of local production of NO in peritonitis-free patients.

The groups were homogeneous regarding demographic characteristics, except for a small difference in time on dialysis. As expected D/P ratio of creatinine and D/D<sub>0</sub> ratio of glucose were significantly different among groups, showing the clear division of membrane function among the four groups.

In the present study, patient classification using the values proposed by Twardowski et al (2) resulted in an unbalanced patient distribution, with many borderline values. In order to improve data analysis, we opted to separate categories using D/P creatinine *quartiles*. Such approach led to a more uniform distribution, with values minimally different to the ones obtained by the standard PET. The standard PET by Twardowski et al (2) was proposed after employing D/P creatinine means and standard deviations to classify peritoneal transport. Despite that, our data was also analyzed using the standard classification, and the results interpretation was equal. The only differences between the two classifications were that time on dialysis was not significantly different between categories, and that ultrafiltration in the high transporters was significantly lower in comparison with the other groups, all the remaining results were similar to the ones presented here.

The results are in contrasts with findings described during episodes of peritonitis and inflammation where D/P of nitrates are above one, indicating that the increased NO is due to generation during peritonitis (10-15, 17, 18). Median and mean D<sub>4h</sub>/P<sub>NO</sub> and D<sub>24h</sub>/P<sub>NO</sub> were below one, in the present study. However we could not rule out that the slightly above 1 median D<sub>24h</sub>/P<sub>NO</sub> in the “high transporter” and in some “high average” patients could be the result of the increased inflammatory state described in patients with higher solute transport rates (28, 29). NOS activity is upregulated in uraemic patients in association with the inflammatory changes that



occurs in end-stage renal disease, despite suggestion of low total production of NO (21, 22). Stable PD patients lack the activation of inflammatory cells, and do not up-regulate NOS in the same way as during peritonitis and inflammation (19, 20). Peritoneal NOS activity was found to be increased in biopsies from long-term PD patients, suggesting that NO and NOS play a role in the permeability changes and the increased effective peritoneal surface area in those patients (24, 30). Uremia may also affect the peritoneal membrane permeability. Several molecular mechanisms are associated with uremia, such as up-regulation of NOS, high levels of reactive carbonyl compounds and advanced glycation end-products and increased VEGF, that may interfere with the peritoneal membrane (4, 30-33). NO may also have detrimental effects, by forming peroxynitrate in the presence of superoxide anions (34), and causing tissue damage.

Our data support the idea that the differences in peritoneal NO permeability among groups simply reflects the intrinsic peritoneal membrane permeability to solute that is characterized clinically by the evaluation of glucose and creatinine transport. This interpretation is supported by previous studies reporting correlation between the mass transfer area coefficient (MTAC) of nitrate with the MTAC of creatinine (11), and a dialysate/plasma ratio of nitrate lower than one (11, 17) indicates diffusion from the circulation, and not local production. Besides,  $\text{NO}_x$  concentrations in serum were correlated with 24-h ( $r=0.590$ ,  $p<0.001$ ) and 4-h ( $r=0.684$ ,  $p<0.001$ ) dialysate concentration, in agreement with Matsumoto et al (23). The described magnitude of the correlations between the NO permeability parameters and  $D/D_0$  and  $D/P$  ratios of glucose and creatinine suggests that they can be partially and significantly explained by their parallel modifications, furthermore indicating that other factors not measured in the current study, such as blood flow and surface area, among others, may be involved in determining permeability to each different solute.

In stable CAPD patients, nitric oxide plays a possible role in maintaining baseline vascular tone and peritoneal permeability, but our study could not confirm that. The total  $\text{NO}_x$  production do not necessarily reflect production of the "hemodynamically active" component of total body NO (21). It is also true that NO can modulate peritoneal transport as intraperitoneally administration of NO donors in CAPD patients produces an increase in MTACs of low molecular weight solutes and of proteins (25, 26). NOS inhibitors, administered intraperitoneally lead to increased ultrafiltration (35). In resting conditions, plasma and dialysate NO levels are possibly

poor markers, not sensitive enough indicators, of a local action in the peritoneal membrane and adjacent vessels. Inherited characteristics may play a part in determining peritoneal membrane permeability function. In a cross-sectional study, intron 4 eNOS gene polymorphism was associated with basal peritoneal membrane function: patients with “low” and “low average” transport characteristics had a greater prevalence of eNOS aa/ab genotypes than “high” and “high average” patients (36). On the other hand, no significant difference was detected in the Glu298Asp variant in exon 7 of the eNOS gene, between control and dialysis patients (37). Other factors determine NOS reactivity: increased activity and expression of NOS isoenzymes, and accumulation of advanced glycation end products in the peritoneum, in long-term PD patients were related with to up regulation of VEGF (24). High glucose dialysis solutions increase VEGF synthesis (38), which is a mediator of neoangiogenesis.

In conclusion, different PET categories serum and dialysate NO metabolites levels in stable PD patients are not different. It is suggested that NO metabolites levels may reflect peritoneal solute permeability, and that dialysate NO is not a sensible marker of local production of NO in peritonitis-free patients.

## REFERENCES

1. Haraldsson B: Assessing the peritoneal dialysis capacities of individual patients. *Kidney Int* 47:1187-1198, 1995.
2. Twardowski ZJ, Nolph KD, Khanna R, Prowant BF, Ryan LP, Moore HL, Nielsen MP: Peritoneal equilibration Test. *Perit Dial Bull* 7:138-47, 1987.
3. Davies SJ: Monitoring of long-term peritoneal membrane function. *Perit Dial Int* 21:225-230, 2000.
4. Devuyst O: Molecular mechanisms involved in the peritoneal membrane exposed to peritoneal dialysis. *Nefrología* 23(Suppl 3):32-37, 2003.
5. Kubes P: Nitric oxide affects microvascular permeability in the intact and inflamed vasculature. *Microcirculation* 2:235-244, 1995.

6. Kone BC: Nitric oxide in renal health and disease. *Am J Kidney Dis* 30:311-333, 1997.
7. Papapetropoulos A, Garcia-Cardena G, Madri JA, Sesa WC: Nitric oxide production contributes to the angiogenic properties of vascular endothelial growth factor in human endothelial cells. *J Clin Invest* 100:3131-3139, 1997.
8. Murohara T, Asahara T, Silver M et al: Nitric oxide synthase modulates angiogenesis in response to tissue ischemia. *J Clin Invest* 101:2567-2578, 1998.
9. Viinikka L: Nitric oxide as a challenge for the clinical chemistry laboratory. *Scan J Clin Lab Invest* 56:577-581, 1996.
10. Davenport A, Fernando R, Varghese Z: Intraperitoneal nitric oxide production in patients treated by continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Blood Purif* 22:216-223, 2004a.
11. Douma CE, de Waart DR, Zemel D et al: Nitrate in stable CAPD patients and during peritonitis. *Adv Perit Dial* 11:36-40, 1995.
12. Yang CW, Hwang TL, Wu CH et al: Peritoneal nitric oxide is a marker of peritonitis on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 11: 2466-2471, 1996.
13. Oymak Y, Velioglu A, Haklar G, Ozener C, Yalcin AS: Early detection of peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients by cytokine measurements. *Clin Chem Lab Med* 41(5):640-5, 2003.
14. Suh H, Wadhwa N, Peresleni T, McNurlan M, Garlick P, Goligorsky MS: Decreased L-arginine during peritonitis in ESRD patients on peritoneal dialysis. *Adv. Perit Dial* 13:205-209, 1997a.
15. Suh H, Peresleni T, Wadhwa N, McNurlan M, Garlick P, Goligorsky MS: Amino acid profile and nitric oxide pathway in patients on continuous peritoneal dialysis: L-arginine depletion in acute peritonitis. *Am J Kid Dis* 29:712-719, 1997.

16. Davenport A, Fernando R, Robson R, Varghese Z: Nitric oxide production by human peritoneal mesothelial cells. *Int J Artif Organs* 27:15-23, 2004.
17. Plum J, Tabatabaei MM, Lordnejad MR, Pipinika O, Razeghi P, Huang C, Meyer-Kirchrath J, Grabensee B: Nitric Oxide production in peritoneal macrophages from peritoneal dialysis patients with bacterial peritonitis. *Perit Dial Int* 19(Suppl 2):s378-s383, 1999.
18. Choi K, Jeong T, Lee SC et al: Nitric oxide is a marker of peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Adv. Perit Dial* 14:173-179, 1998.
19. Devuyst O, Nilsen S, Cosyns JP et al: Aquaporin-1 and endothelial nitric oxide synthase expression in capillary endothelia of human peritoneum. *Am J Physiol* 275:H234-H242, 1998.
20. Devuyst O, Combet S, Cosyns JP et al: Regulation of NO synthase isoforms in the peritoneum: implications for ultrafiltration failure in peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 16:675-678, 2001.
21. Schmidt R, Yokota S, Tracy T et al: Nitric oxide production is low in end-stage renal disease patients on peritoneal dialysis. *Am J Physiol* 276:F794-F797, 1999.
22. Schmidt R, Baylis C: Total nitric oxide production is low in patients with chronic renal disease. *Kidney Int* 58:1261-1266, 2000.
23. Matsumoto A, Hirata Y, Kakoki M, Nagata D, Momomura S, Sugimoto T, Tagawa H, Omata M: Increased excretion of nitric oxide in exhaled air of patients with chronic renal failure. *Clin Sci (Lond)* 96(1):67-74, 1999.
24. Combet S, Miyata T, Moulin P et al. Vascular proliferation and enhanced expression of endothelial nitric oxide synthase in human peritoneum exposed to long-term peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol* 11:717-728, 2000.
25. Douma CE, Hiralall JK, de Waart DR, Struijk DG, Krediet RT: Icodextrin with nitroprusside increases ultrafiltration and peritoneal transport during long CAPD dwells. *Kidney Int* 53(4):1014-21, 1998.

26. Douma CE, de Waart DR, Struijk DG et al: The nitric oxide donor nitroprussiate intraperitoneally affects peritoneal permeability in CAPD *Kidney Int* 10:1885-1892, 1997.
27. Figueiredo AE, Conti A, Poli de Figueiredo CE: Influence of the preceding exchange on peritoneal equilibration test. *Adv Perit Dial* 18: 75-77, 2002.
28. Stenvinkel P, Chung SH, Heimbürger O, Lindholm B: Malnutrition, inflammation and atherosclerosis in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 21(Suppl 3):s157-s162, 2001.
29. Voinescu CG, Khanna R, Nolph KD: High peritoneal transport: a blessing or curse? *Adv Perit Dial* 18:106-111, 2002.
30. Devuyst O: Molecular mechanisms of peritoneal permeability – research in growth factors. *Perit Dial Int* 21(Suppl 3):S19-S23, 2001.
31. Miyata T, Devuyst O, Kurokawa K, Strihou C: Towards better dialysis compatibility: Advances in the biochemistry and pathophysiology of the peritoneal membranes. *Kidney Int* 61:375-386, 2002.
32. Lau T, Owen W, Yu YM, Noviski N, Lyons J, Zurakowski D, Tsay R, Ajami A, Young VR, Castillo L: Arginine, citrulline, and nitric oxide metabolism in end-stage renal disease patients. *J Clin Invest* 105(9):1217-25, 2000.
33. Muchaneta-Kubara EC, Sayed-Ahmed N, el Nahas AM: Subtotal nephrectomy: a mosaic of growth factors. *Nephrol Dial Transplant* 10(3):320-7, 1995.
34. Koppenol WH, Moreno JJ, Pryor WA, Ischiropoulos H, Beckman JS: Peroxynitrite, a cloaked oxidant formed by nitric oxide and superoxide. *Chem Res Toxicol* 5(6):834-42, 1992.
35. Breborovicz A, Wieczorowska-Tobus K, Korybalska K et al: The effect of nitric oxide inhibitor (L-NAME) on peritoneal transport during peritoneal dialysis in rats. *Perit Dial Int* 18:188-192, 1998.

36. Wong TY, Szeto CC, Szeto CY, Lai KB, Chow KM, Li PK: Association of ENOS polymorphism with basal peritoneal membrane function in uremic patients. *Am J Kidney Dis* 42:781-6, 2003.
37. De Prado A, Do arte T, Martinez E, Herreros A, Cabezas A, Andreas E, Ortiz A, Cubero J, Pou J: Endothelial nitric Oxide synthase gene polymorphism in dialysis patients. *Adv Perit Dial* 18:18-20, 2002.
38. Seo MJ, Oh SJ, Kim SI, Cho KW, Jo I, Schaub T, Schilling H, Passlick-Deetjen J, Han DC: High glucose dialysis solutions increase synthesis of vascular endothelial growth factors by peritoneal vascular endothelial cells. *Perit Dial Int* 21(Suppl 3):S35-S40, 2001.

## TABLES

**Tabela 1:** Clinical and demographical variables (n=41)

Variable	Summary
Age (years)	49.9±17.3
Female gender (%)	56.1
Skin colour, White f (%)	36 (87.8)
Treatment system, f (%)	
CAPD	35 (85.5)
APD	6 (14.5)
Time on dialysis (months)	25 (8.5-49)
Smokers (%)	32
Regular alcohol consumption (%)	10
Blood pressure	
Systolic, (mmHg)	134±23
Diastolic, (mmHg)	84±16
Peritoneal dialysis data	
Weekly Kt/V	1.81±0.33
D/D <sub>0</sub> glucose	0.54±0.11
D/P creatinine	0.62±0.14
Ultrafiltration, (ml)	200 (0-500)
Residual diuresis, (mL)	400 (300-450)

Data are shown as mean ± standart deviation, median (interquartil range:P25 – P75) or frequency (percentual).

**Tabela 2:** Comparison of D/P ratio of creatinine in the different categories of peritoneal function between the standard PET and the *quartile* PET.

Categories		Standard (n)	Quartile (n)	P
High	Mean (SD)	0.90±0.05	0.80±0.07	0.060
	Lower – Higher	0.85 – 0.95 (3)	0.73 – 0.95 (10)	
High average	Mean (SD)	0.73 ± 0.05	0.67 ± 0.04	<b>0.005</b>
	Lower – Higher	0.65 ± 0.81 (15)	0,62 ± 0,72 (11)	
Low average	Mean (SD)	0.56 ± 0.05	0.55 ± 0.04	0.397
	Lower – Higher	0.50 – 0.62 (14)	0.50 – 0.60 (11)	
Low	Mean (SD)	0.44 ± 0.03	0.44 ± 0.03	1.000
	Lower – Higher	0.39 – 0.49 (9)	0.39 – 0.49 (9)	

Data are shown as mean ± standard deviation. \*Student t test.



**Table 3** – Nitric oxide metabolites (NOx)

Nox	Classification					P*
	Total (n=40)	High (n=10)	High average (n=10)	Low average (n=11)	Low (n=9)	
Serum (uM)	47 (31-85)	37 (25-91)	45 (18-85)	52 (37-82)	58 (30-136)	0.593
D <sub>24h</sub> (uM)	39 (22-50)	44 (23-62)	38 (17-52)	43 (22-53)	29 (20-43)	0.619
D <sub>24h</sub> /P <sub>NO</sub> (uM)	0.78 (0.50-1.05)	1.05 (0.68-1.28)	0.77 (0.67-1.01)	0.84 (0.44-0.95)	0.64 (0.22-0.79)	0.096
D <sub>4h</sub> (uM)	33 (20-46)	37 (27-97)	42 (19-60)	33 (15-46)	28 (16-40)	0.437
D <sub>4h</sub> /P <sub>NO</sub> (uM)	0.77 (0.54-1.00)	0.96 (0.75-1.15) <sup>a</sup>	0.96 (0.78-1.06) <sup>a</sup>	0.63 (0.34-0.78) <sup>b</sup>	0.57 (0.28-0.68) <sup>b</sup>	<b>0.003</b>

Data are presented as median (interquartile range: P25 – P75). D<sub>24h</sub>=24 hour dialysate; D<sub>24h</sub>/P<sub>NO</sub>= D<sub>24h</sub> over serum NO; D<sub>4h</sub>=4 hour dialysate; D<sub>4h</sub>/P<sub>NO</sub>= D<sub>4h</sub> over serum NO. \* One-way ANOVA, all asymmetric variables were rank transformed prior to analysis. Different index letters localizes categories with significant differences (p<0.05) identified by the *post hoc* Duncan test.

**ANEXO I**  
**PRODUÇÃO CIENTÍFICA**

Abaixo estão listados os trabalhos relacionados a esta tese que foram publicados ou enviados para avaliação:

Figueiredo A, Conti A, Poli de Figueiredo CE. Influence of preceding exchange on PET results. *Peritoneal Dialysis International* 2002; 22(s1):s48.

Annual Dialysis Conference, 22<sup>nd</sup> Annual Conference on Peritoneal Dialysis, 8<sup>th</sup> International Symposium on Hemodialysis, 13<sup>th</sup> Annual Symposium on Pediatric Dialysis. Tampa, Florida, 04-06/03/2002.

Figueiredo AE, Conti A, Poli de Figueiredo CE. Influence of the preceding exchange on peritoneal equilibration test results. *Adv Perit Dial.* 2002;18:75-7.

Figueiredo AE, Conti A, Poli de Figueiredo CE. Teste de equilíbrio peritoneal: Influência da troca prévia nos resultados. *Jornal Brasileiro de Nefrologia* 2002; XXIV (S2): 89.

XXI Congresso Brasileiro de Nefrologia e XI Congresso Brasileiro de Enfermagem em Nefrologia, Brasília/DF, 14-18/09/2002.

Figueiredo AE, Pinheiro da Costa BE, Conti A, Poitevin A, d'Avila DO, Almeida PB, Poli de Figueiredo CE. Serum and peritoneal nitric oxide metabolites in peritoneal dialysis patients. *Peritoneal Dialysis International* 2004; 24(s1):s9.

Annual Dialysis Conference: 24<sup>th</sup> Annual Conference on peritoneal dialysis, 10<sup>th</sup> International Symposium on Hemodialysis, 15<sup>th</sup> Annual Symposium on Pediatric Dialysis. San Antonio, Texas, USA. 9-11/02/2004.

Figueiredo AE, Conti A, d'Avila DO, Poli de Figueiredo CE. Creatinine correction factor impact on the interpretation of the peritoneal equilibration test. *Peritoneal Dialysis International* 2004; 24(s1):s5-s5.

Annual Dialysis Conference: 24<sup>th</sup> Annual Conference on peritoneal dialysis, 10<sup>th</sup> International Symposium on Hemodialysis, 15<sup>th</sup> Annual Symposium on Pediatric Dialysis. San Antonio, Texas, USA. 9-11/02/2004.

Figueiredo AE, Poitevin A, Conti A, Pinheiro da Costa BE, d'Ávila DO, Almeida PB, Torres E, Acauan Filho B, Poli de Figueiredo CE. Brachial artery flow-mediated dilation to evaluate endothelial function in peritoneal dialysis.

Peritoneal Dialysis International 2004; 24(s1):s9.

Annual Dialysis Conference: 24<sup>th</sup> Annual Conference on peritoneal dialysis, 10<sup>th</sup> International Symposium on Hemodialysis, 15<sup>th</sup> Annual Symposium on Pediatric Dialysis. San Antonio, Texas, USA. 9-11/02/2004.

Figueiredo A, Pinheiro da Costa B, Conti A, Almeida PB, d'Ávila DO, Poli de Figueiredo CE. Peritoneal equilibration test and nitric oxide in peritonitis free patients. Peritoneal Dialysis International 2004; 24(s2):s15.

ISPD EuroPD 2004 em Amsterdam. Amsterdam RAI Congress Centre 28/8/2004 a 31/8/2004.

Figueiredo AE, Pinheiro da Costa BE, Conti A, Poitevin A, d'Ávila DO, Almeida PB, Poli de Figueiredo CE. Metabólitos do óxido nítrico no soro e líquido peritoneal em pacientes em diálise peritoneal. Jornal Brasileiro de Nefrologia 2004; XXVI(3s2):132.

Pinheiro da Costa BE, Poli de Figueiredo CE, Almeida PB, Conti A, Figueiredo AE. Captação eritrocitária de L-arginina em pacientes que realizam CAPD. Jornal Brasileiro de Nefrologia 2004; XXVI(3s2):115.

Figueiredo AE, Poitevin A, Conti A, Pinheiro da Costa BE, d'Ávila DO, Almeida PB, Torres E, Acauan Filho B, Poli de Figueiredo CE. Avaliação da função endothelial através da dilatação mediada por fluxo da artéria braquial em pacientes submetidos a diálise peritoneal. Jornal Brasileiro de Nefrologia 2004; XXVI(3s2):111.

Figueiredo AE, Conti A, d'Ávila DO, Poli de Figueiredo CE. Impacto do fator de correção de creatinine na interpretação do teste de equilíbrio peritoneal. Jornal Brasileiro de Nefrologia 2004; XXVI(3s2):43.

Almeida PB, Pinheiro da Costa B, d'Ávila DO, Poli de Figueiredo CE, Figueiredo A. Erythrocyte L-arginine uptake in peritoneal dialysis patients. *Peritoneal Dialysis International* 2005 (enviado).

Encaminhado para o Annual Dialysis Conference: 25<sup>th</sup> Annual Conference on peritoneal dialysis, 11<sup>st</sup>International Symposium on Hemodialysis, 16<sup>th</sup> Annual Symposium on Pediatric Dialysis. Tampa, Florida, USA. 28/02 a 02/03/2005.

Figueiredo AE, Pinheiro da Costa BE, Conti A, d'Ávila DO, Poli de Figueiredo CE. Peritoneal equilibration test and nitric oxide in peritoneal dialysis. *Kidney International* (em fase de envio).

Figueiredo AE, Pinheiro da Costa BE, Conti A, Poitevin A, Torres E, Acauan Filho B, d'Ávila DO, Poli de Figueiredo CE. Endothelium-dependent vasodilation and peritoneal membrane function in peritoneal dialysis patients. *Peritoneal Dialysis International* (em fase de envio).

## ANEXO J

### CAPTAÇÃO ERITROCITÁRIA DE L-ARGININA EM DIÁLISE PERITONEAL

Cópia do resumo submetido para apresentação no *Annual Dialysis Conference: 25<sup>th</sup> Annual Conference on peritoneal dialysis, 11<sup>st</sup> International Symposium on Hemodialysis, 16<sup>th</sup> Annual Symposium on Pediatric Dialysis*, em Tampa (Florida, USA), no período de 28/02 a 02/03/2005:

#### **Erythrocyte L-arginine uptake in peritoneal dialysis patients.**

Chronic renal failure is associated with endothelial dysfunction and abnormal cell membrane transport. L-arginine is the substrate for nitric oxide synthesis, and may enter the cells via  $y^+$  and  $y^+L$  amino acid transport systems. Peritoneal membrane characteristics may be dependent on the vascular function and L-arginine/nitric oxide pathway. **Objective:** The aim of this study was to evaluate L-arginine erythrocyte membrane transport by measuring the amino acid uptake via systems  $y^+$  and  $y^+L$  systems, in patients with different categories of peritoneal function. **Methods:** Transversal study. Patients on PD and free of peritonitis for at least 1 month, with no clinical, inflammatory or infectious complications, and not using nitric oxide donors were included. PET and Kt/V were assessed in all patients. Maximal capacity of transport ( $V_{max}$  in  $\mu\text{mol/L cell/h}$ ) and half-saturation constant ( $k_m$  in  $\mu\text{M}$ ) were measured in erythrocyte using  $^{14}\text{C}$  as marker, and N-ethyl-maleimide as inhibitor of  $y^+$  system. Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation. Statistics employed ANOVA, and Person Correlation Coefficient. **Results:** The sample consisted of 41 patients, mean age  $50 \pm 17$  years-old, including five diabetics and 18 male. Mean D/P creatinine was  $0.62 \pm 0.14$ . Peritoneal membrane was classified as high, high average, low average or low transporters in 10, 11, 11 and 9 patients, respectively. Mean (SD)  $y^+L$   $V_{max}$  were  $208 \pm 111$ ,  $494 \pm 893$ ,  $222 \pm 59$  and  $193 \pm 63$  ( $p=0.404$ ); and mean (SD)  $y^+$   $V_{max}$  were  $963 \pm 1034$ ,  $843 \pm 366$ ,  $639 \pm 254$  and  $774 \pm 378$  ( $p=0.647$ )  $\mu\text{mol/L cell/h}$  for the high, high average, low average and low transporters, respectively. The  $y^+L$  and  $y^+$  half-saturation constant ( $k_m$ ) were also not significantly different between peritoneal membrane categories. There were negative correlations between total  $V_{max}$  and Kt/V ( $r=-0.391$ ,  $p<0.012$ ) and  $y^+$   $V_{max}$  and Kt/V ( $r=-0.393$ ,  $p=0.011$ ). **Conclusion:** L-arginine erythrocyte membrane transport does not change

in the different PET peritoneal membrane categories, although maximal capacity of transport is higher in patients with lower Kt/V.

Almeida PB, Pinheiro da Costa BE, d'Avila DO, Poli de Figueiredo CE, Figueiredo AE.

Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde (Nefrologia),  
IPB/HSL/FAMED/FAENFI from PUCRS. Porto Alegre, Brazil.