



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

1
2
3 JULIANA CARVALHO ROMAGNOLLI PLASTINA
4
5
6
7
8
9
10
11

12 **DEFICIÊNCIA FUNCIONAL DE FERRO EM PACIENTES EM**
13 **HEMODIÁLISE:**
14 **PREVALÊNCIA, AVALIAÇÃO NUTRICIONAL E DE**
15 **BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO E DE**
16 **INFLAMAÇÃO**
17
18
19
20
21
22
23
24

25 Londrina
26 2015

27 JULIANA CARVALHO ROMAGNOLLI PLASTINA

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40 **DEFICIÊNCIA FUNCIONAL DE FERRO EM PACIENTES EM**
41 **HEMODIÁLISE:**
42 **PREVALÊNCIA, AVALIAÇÃO NUTRICIONAL E DE**
43 **BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO E DE**
44 **INFLAMAÇÃO**

45

46

47 Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
48 Graduação em Ciências da Saúde da Universidade
49 Estadual de Londrina como requisito para obtenção do
50 título de Mestre.

51

52

Orientador: Prof Dr. Vinicius Daher Alvares Delfino.

53

54

55

56

57

Londrina
2015

|

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

P715d Plastina, Juliana Carvalho Romagnolli.

Deficiência funcional de ferro em pacientes em hemodiálise : prevalência, avaliação nutricional e de biomarcadores de estresse oxidativo e de inflamação / Juliana Carvalho Romagnolli Plastina. – Londrina, 2015.
105 f. : il.

Orientador: Vinicius Daher Alvares Delfino.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2015.

Inclui bibliografia.

1. Insuficiência renal crônica – Teses. 2. Hemodiálise – Avaliação nutricional – Teses. 3. Estresse oxidativo – Teses. 4. Deficiência de ferro – Teses. I. Delfino, Vinicius Daher Alvares. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDU 616.61

58 JULIANA CARVALHO ROMAGNOLLI PLASTINA

59

60

61

62

63

64

65 **DEFICIÊNCIA FUNCIONAL DE FERRO EM PACIENTES EM**
66 **HEMODIÁLISE:**

67 **PREVALÊNCIA, AVALIAÇÃO NUTRICIONAL E DE BIOMARCADORES DE**
68 **ESTRESSE OXIDATIVO E DE INFLAMAÇÃO**

69

70

71

72

73

74

75

76

77

78

79

80

81

82

83

84

85

86

87

88

89

90

91

92

93

94

95

96

97

98

99

100

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina como requisito para obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Vinicius Daher Alvares Delfino
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Isaías Dichi
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Luis Alberto Batista Peres
Universidade do Oeste do Paraná - UNIOESTE

Londrina, 03 de julho de 2015.

101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
136
137

DEDICA

À minha família, razão de todos os meus esforços.

138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173

AGRADECIMENTOS

Aos pacientes do Instituto do Rim de Londrina, todo meu respeito.
Aos mestres Prof. Dr. Altair Jacob Mocelin e Prof. Dr. Waldir Eduardo Garcia, pelo exemplo de
profissionalismo e ética.
Ao bioquímico Vitor Obara pela participação fundamental neste projeto.
Ao Prof. Dr. Vinicius D. A. Delfino pela oportunidade e confiança.
À Universidade Estadual de Londrina pela possibilidade de tornar este projeto viável.

174 **PLASTINA, JULIANA C. R. Deficiência Funcional de Ferro em Pacientes em Hemodiálise:**
175 Prevalência, Avaliação Nutricional e de Biomarcadores de Estresse Oxidativo e de Inflamação. 2015.
176 105 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências da Saúde) Universidade Estadual de Londrina.
177 Programa de Pós-Graduação, 2015.

178
179
180
181
182

RESUMO

183 **Introdução:** a anemia é uma das principais comorbidades presentes em pacientes renais crônicos e
184 está associada à maior mortalidade cardiovascular vista nesta população. A anemia observada em
185 indivíduos com doença renal crônica pode ser dividida em anemia sem deficiência funcional de ferro e
186 com deficiência funcional de ferro (ADFF), esta última caracterizada por baixa saturação de
187 transferrina frente a níveis elevados de ferritina. Particularmente no tratamento da ADFF dos pacientes
188 renais crônicos, existe risco de sobrecarga corporal de ferro em decorrência da ferroterapia parenteral
189 utilizada com o intuito de se elevar as concentrações de transferrina. Diante do aumento dos casos de
190 hemossiderose descritos em pacientes em hemodiálise, atribuídos à reposição excessiva de ferro
191 endovenoso, maiores conhecimentos sobre os fatores envolvidos na gênese da ADFF nesta população
192 são importantes.

193 **Objetivos:** documentar a prevalência de ADFF em pacientes renais crônicos em hemodiálise (HD).
194 Caracterizar clínica e laboratorialmente os portadores de ADFF em HD e avaliar o estado nutricional,
195 estresse oxidativo e inflamação nestes pacientes.

196 *Pacientes e Métodos:* Estudo transversal com amostra de conveniência envolvendo 183 renais
197 crônicos em hemodiálise em duas unidades de Londrina, PR. Foram excluídos os pacientes menores
198 de 18 anos, em uso de catéteres temporários, com história de internação nos últimos 3 meses,
199 portadores de hepatite B, C e HIV. Os pacientes foram separados em dois grupos, portadores de
200 anemia com e sem deficiência funcional de ferro. A ADFF foi caracterizada por ferritina > 200 mg/dL e
201 % saturação de transferrina < 20%. Todos os participantes foram submetidos a questionário sócio-
202 epidemiológico, análise antropométrica com medidas de altura, peso, circunferência abdominal e
203 média do braço, análise laboratorial sérica de hemoglobina, hematócrito, albumina, paratormônio,
204 creatinina, cálcio, fósforo, ferro, ferritina, proteína C-reativa, interleucina-6, produtos de oxidação
205 proteica avançada (AOPP), grupamento sulfidríla, paraoxonase, metabólitos do óxido nítrico (NOx),
206 glutatona total, reduzida e oxidada, após esclarecimento sobre a pesquisa e assinatura do termo de
207 consentimento livre e esclarecido.

208 **Análise Estatística :** realizada através do programa GraphPad InStat versão 3.1. Teste de
209 Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para verificar a normalidade dos dados. As variáveis foram expressas
210 como médias \pm desvio padrão ou medianas e intervalos interquartílicos, como ditado pela normalidade
211 dos dados. Foram utilizados os testes qui-quadrado, t de Student e Mann-Whitney. O nível de
212 significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

213 **Resultados:** a prevalência de ADFF encontrada foi de 36,9%. Não houve diferenças significativas nos
214 marcadores de inflamação utilizados entre os dois grupos estudados. Entretanto, houve diferenças
215 significativas nos níveis séricos de hemoglobina, ferro e albumina, transferrina calculada, capacidade
216 total de ligação do ferro (CTLF), percentagem de saturação de transferrina, índice de massa corporal
217 (IMC), e circunferências abdominal e média do braço entre os grupos, sendo estes significativamente
218 menores nos pacientes com ADFF. Pacientes do grupo ADFF receberam doses mais elevadas de ferro
219 parenteral ($p < 0,05$).

220 **Discussão:** ADFF esteve associada a valores menores de marcadores nutricionais, como evidenciado
221 pela presença de concentrações séricas menores de albumina, de transferrina calculada, de menores
222 índices de massa corporal, menores valores de circunferência abdominal e de circunferência média do
223 braço, mas não esteve associada à marcadores inflamatórios ou de estresse oxidativo aumentados.
224 Nossos resultados divergem da visão corrente na literatura, que associa a presença de ADFF em
225 pacientes renais crônicos a aumento do estado inflamatório. Os dados sugerem que, nos pacientes
226 estudados, a ADFF esteve associada a menores valores de marcadores nutricionais.

227
228 **Palavras-chave:** Doença renal crônica. Anemia funcional. Estresse oxidativo. Inflamação.
229 Nutrição.

230 **PLASTINA, JULIANA C. R. Functional Iron Deficiency in Patients on Hemodialysis:**
231 **Prevalence, Nutritional Assessment and Oxidative Stress Biomarkers and Inflammation**
232 **Biomarkers.** 2015. 105 p. Master Thesis (Master Thesis in Health Sciences) Universidade
233 Estadual de Londrina, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2015.

234

235

236

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

253

254

255

256

257

258

259

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

276

277

278

279

280

281

282

283

ABSTRACT

Introduction: anemia is a major comorbidity in chronic renal patients and it is associated with the increased cardiovascular mortality seen in this population. The anemia observed in individuals with chronic kidney disease can be divided into anemia with no functional deficiency of iron and with functional deficiency of iron (AWFID), the latter characterized by low transferrin saturation front to high levels of ferritin. Particularly in the treatment of AWFID of chronic renal patients, there is a risk of iron body overload due to the parenteral iron therapy that is used to try to elevate the saturation of transferrin. By reason of the increase in cases of hemosiderosis on hemodialysis patients, attributed to excessive replacement of intravenous iron, greater knowledge about the factors involved in the genesis of AWFID in this population is important .

Purpose: to document the prevalence of AWFID in chronic renal patients on hemodialysis (HD). To characterize clinical and laboratory parameters in HD patients with AWFID as well as to assess their nutritional, oxidative stress, and inflammation status

Methods: cross-sectional study with a convenience sample involving 183 HD patients of two hemodialysis units of Londrina, PR. Patients were excluded if younger than 18 years, in use of temporary catheters, had hospital admissions in the last three months, were carriers of hepatitis B, C or HIV virus. Patients were divided into two groups: patients with anemia without functional iron deficiency and AWFID patients. Functional iron deficiency anemia were characterized by ferritin > 200 mg/dL and % transferrin saturation < 20%. All participants underwent socio-epidemiological questionnaire, anthropometric analysis with measurements of height, weight, waist and arm circumference, laboratory analyses of serum hemoglobin, hematocrit, albumin, parathyroid hormone, creatinine, calcium, phosphorus, iron, ferritin, C-reactive protein, interleukin-6, advanced oxidation protein products (AOPP), sulfhydryl group, paraoxonase, nitric oxide metabolites (Nox), and total, reduced and oxidized glutathione.

Statistical Analysis: held by GraphPad INSTAT version 3.1 program. Kolmogorov-Smirnov test was used to verify the normality of the data. The variables were expressed as means \pm standard deviation or median and interquartile ranges, as dictated by the data normality. The Chi-square test, Student's t and Mann-Whitney tests were used. The significance level was set at 5% ($p < 0.05$).

Results: there were no significant differences in the used oxidative stress and inflammation markers between the two studied groups. However, there were significant differences in hemoglobin, iron, and albumin serum levels, calculated transferrin, total iron binding capacity (TIBC), percentage of transferrin saturation, body mass index (BMI), and waist and arm circumferences between the groups, which are significantly lower AWFID patients. Patient DPPA group received higher doses of parenteral iron ($p < 0.05$).

Discussion: AWFID was associated with lower values of nutritional markers, as evidenced by the presence of lower serum albumin, calculated transferrin, smaller body mass indexes, lower values of waist and mid-arm circumference, but it was not associated with inflammatory markers and increased oxidative stress. Our results differ from the current view in the literature that the presence of AWFID in chronic renal patients with increased inflammatory state suggest that, in the studied patients, AWFID was associated with lower values of markers.

Keywords: Chronic kidney disease. Functional anemia. Oxidative stress. Inflammation. Nutrition.

284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação dos mecanismos de anemia da DRC.	16
Figura 2 -	Regulação sistêmica do ferro.....	19
Figura 3 -	Captação de ferro pelos enterócitos.	20
Figura 4 -	Reações químicas envolvidas na análise de NOx.	35

LISTA DE ABREVIATURAS

317		
318		
319	AFFF	Anemia com deficiência funcional de ferro.
320	AOPP	Produtos de oxidação protéica avançada
321	AWFID	Anemia with functional deficiency of iron
322	BMI	Body mass index
323	BRA	Bloqueadores dos receptores de angiotensina.
324	CA	Circunferência abdominal
325	CTLF	Capacidade total de ligação do ferro
326	DCV	Doença cardiovascular
327	DRC	Doença renal crônica
328	DTNB	5,5-Ditióbis 2-nitrobenzóico
329	EO	Estresse oxidativo
330	EPO	Eritropoetina
331	EROs	Espécies reativas de oxigênio
332	ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
333	ESA	Agentes estimuladores de eritropoiese
334	GDF15	Fator de diferenciação de crescimento 15
335	GS	Grupamento sulfidrila.
336	IECA	Inibidores da enzima de conversão da angiotensina.
337	IGF-1	Insulin-like growth fator 1
338	IIQ	Intervalo interquartilico
339	IC 95%	Intervalo de confiança de 95%
340	IL-6	Interleucina-6
341	KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
342	KDOQI	Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
343	IMC	Índice de massa corpórea.
344	MIA	Má nutrição, inflamação e aterosclerose.
345	NOx	Metabólitos do óxido nítrico
346	PCR	Proteína C reativa.
347	QL	Quimiluminescência
348	RCO	Compostos reativos das carbonilas
349	SRE	Sistema retículo endotelial
350	TIBC	Total iron binding capacity
351	TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
352	TSWG1	Proteína homóloga de gastrulação 1
353	UEL	Universidade Estadual de Londrina

SUMÁRIO

354			
355			
356	1 INTRODUÇÃO		15
357	1.1	Anemia da doença renal crônica	15
358	1.2	Metabolismo do ferro e papel da hepcidina	17
359	1.3	Deficiência absoluta e funcional de ferro em pacientes em	
360		hemodiálise	21
361	1.4	Inflamação e estresse oxidativo no paciente renal crônico	22
362	1.5	Desnutrição na doença renal crônica	25
363			
364	2	JUSTIFICATIVA DA PESQUISA CLÍNICA	28
365			
366	3 OBJETIVOS		30
367	3.1 Objetivo	primário	30
368	3.2 Objetivo	secundário	30
369			
370	4	CASUÍSTICA E MÉTODOS	32
371	4.1 Delineamento		32
372	4.2 População		32
373	4.3 Amostragem		32
374	4.4	Mensuração dos parâmetros antropométricos	33
375	4.5 Análises	bioquímicas	33
376	4.6	Mensuração de parâmetros de inflamação	34
377	4.7	Mensuração do estresse oxidativo	34
378	4.7.1	Metabólitos do óxido nítrico (NOx)	34
379	4.7.2	Determinação de produtos avançados da oxidação de	
380		proteínas (AOPP)	35
381	4.7.3	Determinação da atividade da paraoxonase 1 (PON-1)	35
382	4.7.4	Determinação do grupamento tiol (SH-grupo)	36
383	4.7.5	Glutathiona total, reduzida e oxidada	36
384	4.8 Análise	estatística	36
385			
386	5 RESULTADOS		39
387			
388	6 DISCUSSÃO		45
389			
390	7 CONCLUSÕES		48

391	8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
392		
393	REFERÊNCIAS	53
394		
395	ARTIGO Deficiência funcional de ferro em pacientes em hemodiálise:	
396	prevalência e avaliação de biomarcadores de estresse	
397	oxidativo e de inflamação	59
398	REFERÊNCIAS DO ARTIGO	69
399	TABELAS DO ARTIGO	71
400		
401	APÊNDICE	75
402	APÊNDICE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	76
403		
404	ANEXOS	79
405	ANEXO I - Parecer do comitê de ética em pesquisa UEL.....	80
406	ANEXO II - Determinação dos metabólitos do óxido nítrico	81
407	ANEXO III - Determinação de produtos avançados da oxidação de	
408	proteínas	85
409	ANEXO IV - Determinação da atividade da paraoxonase	88
410	ANEXO V - Determinação do grupamento Tiol.....	91
411	ANEXO VI - Protocolo para determinação das glutatona em hemácias	92
412	ANEXO VII - Portaria nº 226 MS 10/05/2010.....	95
413		
414		
415		
416		
417		
418		
419		
420		

437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
465
466
467
468
469
470
471

INTRODUÇÃO

472 1. INTRODUÇÃO

473

474

475 1.1. Anemia da doença renal crônica

476

477 Indivíduos portadores de doença renal crônica (DRC) em terapia dialítica apresentam
478 mortalidade 20-100 vezes maior que a população controle, sendo as causas
479 cardiovasculares as principais responsáveis por esta mortalidade excessiva. Fatores
480 tradicionais de risco cardiovascular como hipertensão arterial, diabetes mellitus, tabagismo,
481 dislipidemia, sedentarismo, dentre outros, concentram-se nesta população, mas não
482 explicam completamente o motivo desta mortalidade tão elevada (1).

483 Outros fatores, ditos não tradicionais, vem sendo implicados como causas adicionais
484 da mortalidade cardiovascular aumentada destes pacientes. Dentre eles incluem-se:
485 anemia, expansão volêmica crônica, hiperhomocisteinemia, estresse oxidativo, inflamação
486 crônica, desnutrição e desordens do metabolismo mineral e ósseo da DRC (2,3).

487 A anemia foi relacionada à DRC pela primeira vez há 170 anos por Richard Bright.
488 Surge precocemente no decorrer da DRC e sua prevalência aumenta à medida que se
489 acentua a redução da função renal. Caracteriza-se por ser normocítica, normocrômica e
490 hipoproliferativa (4).

491 O diagnóstico de anemia em adultos portadores de DRC, independentemente do
492 estágio da doença, pode ser estabelecido de acordo com os seguintes critérios
493 estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Nefrologia: para homens, considerar nível de
494 hemoglobina menor que 13,0 g/dL e para mulheres e homens acima de 65 anos, considerar
495 nível de hemoglobina menor que 12,0 g/dL.

496 O manejo da anemia do paciente com DRC foi revolucionado em meados de 1980,
497 com a introdução da eritropoetina (EPO), o primeiro dos agentes estimuladores da
498 eritropoiese (ESA). Os ESA constituem importante ferramenta no cuidado de pacientes
499 renais crônicos, visto que a anemia é um dos principais fatores na etiologia da mortalidade
500 cardiovascular nesses pacientes (5).

501 A etiologia da anemia na DRC é multifatorial e os principais fatores contributivos são:
502 deficiência de síntese de EPO pelos rins doentes, deficiência absoluta ou funcional de ferro,
503 deficiência de micronutrientes como ácido fólico e vitamina B12, redução da eritropoiese por
504 toxinas urêmicas e estado inflamatório crônico, como ilustrado na figura 1 (6).

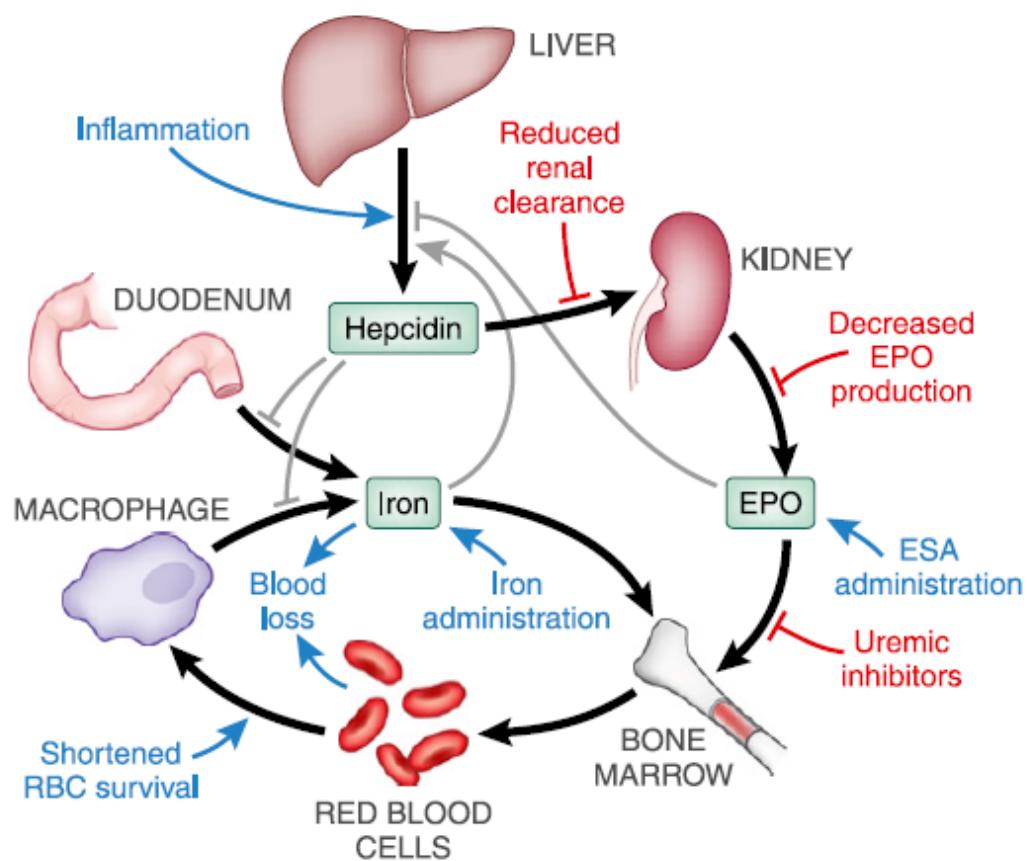
505

506

507

508

509
510
511
512
513
514
515



516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527

Figura 1. Representação esquemática dos mecanismos subjacentes à anemia de DRC. *J Am Soc Nephrol* 23: 1631-1634, 2012. Artigo disponível para *download* na internet.

528

529 **1.2. Metabolismo do ferro e o papel da hepcidina**

530

531 O ferro é essencial para a maioria dos seres vivos, mas em excesso pode ser tóxico.
532 Existe um equilíbrio de ferro sistêmico e celular. Sua homeostase está prejudicada na DRC
533 e contribui para a prevalente anemia nestes pacientes. A suplementação de ferro é um dos
534 pilares para o manejo da anemia em renais crônicos. Por ser um metal de transição que doa
535 e recebe elétrons, o ferro tem papel fundamental em processos biológicos como oxigenação
536 e transporte de elétrons, respiração celular e síntese de DNA, porém em excesso pode levar
537 a produção de radicais livres e morte celular (7).

538 Os humanos tem necessidade diária de 25 mg de ferro, dos quais 80% são utilizados
539 para eritropoiese. Uma pequena fração advém da dieta (1-2 mg), enquanto que a maior
540 parte provém da reciclagem de eritrócitos senescentes pelos macrófagos hepáticos,
541 esplênicos e da medula óssea, como ilustrado na figura 2 (7).

542 A absorção de ferro da dieta ocorre primariamente no duodeno. O ferro dietético
543 existe em duas formas: heme e não-heme, mas os mecanismos envolvidos na absorção do
544 ferro na forma não-heme são pouco estudados. A liberação do ferro não-heme dos
545 alimentos e sua solubilização acontecem devido ao pH ácido do estômago. O ferro solúvel é
546 reduzido da forma férrica Fe^{3+} para a forma ferrosa Fe^{2+} em um processo que envolve
547 ferriredutases, localizadas na membrana celular apical do intestino, e ácido ascórbico. Estes
548 mecanismos de absorção de ferro são controlados pelo hormônio hepcidina, como ilustrado
549 na figura 3 (8).

550 A hepcidina é o o regulador central da homeostase do ferro, e exerce um papel
551 importante na patogênese da anemia da DRC. Seus níveis estão aumentados em renais
552 crônicos, devido à diminuição do clearance renal e presença de inflamação. É
553 essencialmente produzida nos hepatócitos, mas também em neutrófilos, monócitos,
554 linfócitos, adipócitos, células beta do pâncreas e renais. Sua forma ativa, hepcidina 25, é um
555 peptídeo formado por 25 aminoácidos, que circula no plasma e é excretado pela urina. Três
556 outras isoformas de hepcidina (20, 22 e 24) foram identificadas, mas suas funções
557 biológicas são desconhecidas (8).

558 A expressão da hepcidina é regulada essencialmente por quatro tipos de sinais: de
559 aumento da atividade eritropoiética, de resposta à concentração de ferro circulante, de
560 resposta inflamatória e de estresse retículo-endoplasmático.

561 A síntese de hepcidina é inibida em situações de estímulo da atividade eritropoiética, para
562 garantir a mobilização de ferro para a medula óssea. O uso de ESA é um potente inibidor da
563 síntese de hepcidina in vivo. Os mecanismos envolvidos neste último fenômeno
564 provavelmente envolvem a ação de moléculas liberadas por precursores eritróides como o

565 GDF 15 (growth differentiation fator 15), TSWG1 (twisted gastrulation protein homologue 1)
566 e eritroferrona (9).

567 O hormônio hepcidina atua como regulador do influxo de ferro para o plasma a partir
568 dos tecidos, mais precisamente dos enterócitos que absorvem o ferro da dieta, dos
569 macrófagos que reciclam o ferro a partir dos eritrócitos senescentes, e dos hepatócitos que
570 constituem o principal reservatório de ferro. A nível molecular, a hepcidina liga-se ao único
571 exportador celular de ferro conhecido, a ferroportina, induzindo sua internalização e
572 degradação lisossomal (10).

573 A regulação sistêmica de ferro e a internalização de ferro pelos enterócitos com
574 subsequente absorção sistêmica é apresentada de forma esquemática nas figuras 2 e 3,
575 com legendas traduzidas das publicações originais, disponíveis livremente na internet (11).

576

577

578

579

580

581

582

583

584

585

586

587

588

589

590

591

592

593

594

595

596

597

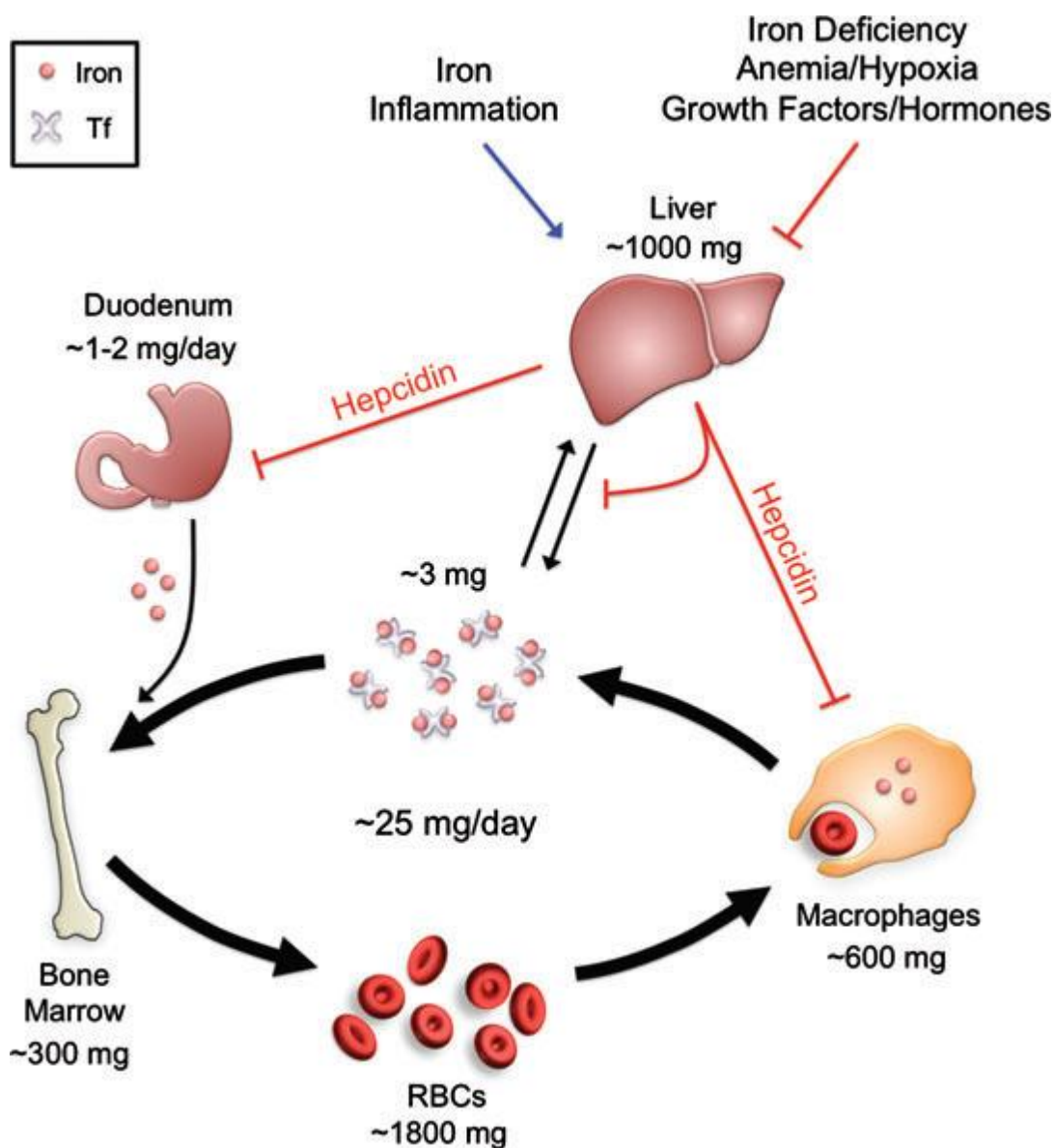
598

599

600

601

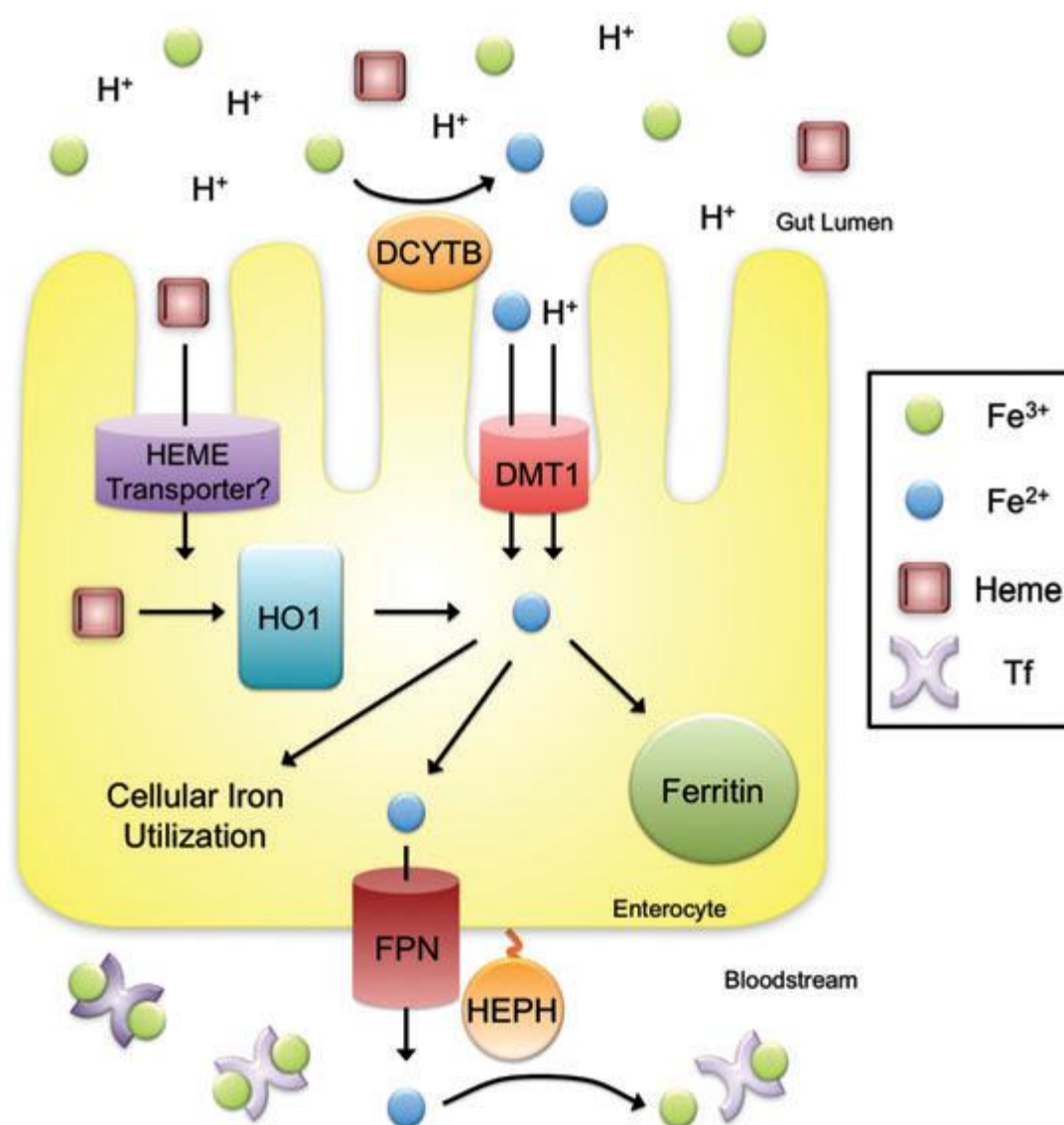
602
603
604
605
606



607
608 FIGURA 2. Regulação sistêmica de ferro. Zumbrennen-Bullough K, Babitt JL. The iron cycle
609 in chronic kidney disease (CKD): from genetics and experimental models to CKD patients
610 *Nephrol Dial Transplant* (2014); 29: 263–273 doi: 10.1093/ndt/gft443 Advance Access
611 publication 13 November 2013.

612
613
614
615
616

617



618

619

620 FIGURA 3. A absorção de ferro do enterócito. Absorção de ferro da dieta ocorre através da
 621 redução da forma de ferro férrica (Fe^{3+}) para ferrosa (Fe^{2+}) por ferriredutases, tais como
 622 DCYTB. A forma ferrosa é então transportada através da membrana apical do enterócito
 623 duodenal pela DMT1. O ferro heme é também uma importante fonte de ferro da dieta,
 624 embora o mecanismo para sua absorção ainda não seja claro. Acredita-se que a heme
 625 oxigenase 1 (HO1) facilita a degradação do heme em ferro, biliverdina e monóxido de
 626 carbono. Ferro citoplasmático pode ser armazenado pelo complexo ferritina utilizado por
 627 várias enzimas moleculares ou exportado para a corrente sanguínea pela ferroportina
 628 (FPN). O *hephaestin multicopper ferroxidase* (HEPH) funciona em conjunto com a
 629 ferroportina para facilitar a exportação de ferro juntamente com a oxidação de Fe^{2+} a Fe^{3+}
 630 e carregamento pela transferrina (Tf). Zumbrennen-Bullough K, Babitt JL. The iron cycle in
 631 chronic kidney disease (CKD): from genetics and experimental models to CKD patients
 632 *Nephrol Dial Transplant* (2014); 29: 263–273 doi: 10.1093/ndt/gft443 Advance Access
 633 publication 13 November 2013.

634

635

636 1.3. Deficiência absoluta e funcional de ferro em pacientes em hemodiálise

637

638 A deficiência de ferro refere-se à redução dos estoques de ferro que precede a
639 anemia por deficiência de ferro ou persiste sem progressão; ou seja sem levar ao quadro de
640 anemia. Anemia por deficiência de ferro é uma condição mais grave na qual baixos níveis de
641 ferro estão associados com anemia e presença de eritrócitos hipocrômicos e microcíticos
642 (12).

643 Eritropoiese diminuída por restrição de ferro indica que a entrega; a disponibilidade
644 de ferro para os precursores eritróides está prejudicada, não importa o quanto os estoques
645 estejam repletos (12). Nos casos de anemia da inflamação crônica, observada em
646 portadores de desordens auto-imunes, cânceres e DRC os estoques podem estar normais
647 ou até mesmo aumentados devido ao sequestro de ferro.

648 Em pacientes tratados por hemodiálise, deficiência absoluta de ferro ocorre devido à
649 perda de ferro, estimada em 1 a 3 g por ano, em decorrência de sangramentos crônicos, por
650 disfunção plaquetária causada pela uremia, pelos sangramentos durante as punções
651 frequentes de fístulas arterio-venosas e/ou próteses vasculares, por perdas sanguíneas nas
652 linhas e filtros de hemodiálise e por redução da absorção intestinal de ferro (13).
653 Caracteriza-se em termos numéricos por níveis de ferritina < 200 ng/mL e índice de
654 saturação de transferrina < 20% (14).

655 Por outro lado, ADFE também ocorre nestes pacientes e é caracterizada por baixa
656 saturação de transferrina, proteína plasmática transportadora de ferro, e níveis normais ou
657 elevados de ferritina sérica, marcador dos estoques corporais de ferro. Em termos
658 numéricos o diagnóstico pode ser feito na vigência de ferritina > 200 ng/mL e índice de
659 saturação de transferrina < 20% (14).

660 Em pacientes nos quais os ESA são utilizados para o tratamento da anemia
661 associada à DRC, a resposta melhora quando a suplementação parenteral de ferro é feita.
662 O uso de ferro parenteral frequentemente reduz as doses de ESA necessárias para o
663 tratamento da anemia nestes pacientes, e é recomendado pelas diretrizes nacionais e
664 internacionais sobre o tema (15).

665 A ADFE é um estado onde há incorporação insuficiente de ferro aos precursores
666 eritróides em face de estoques adequados de ferro. A ADFE é um estado de eritropoiese
667 pobre em ferro, no qual há mobilização insuficiente de ferro dos estoques na presença de
668 demanda aumentada, como é observado após tratamento com ESA (16).

669 Dois tipos de ADFE podem estar presentes em pacientes renais crônicos. O primeiro
670 envolve redução na absorção duodenal de ferro e redução na liberação de ferro dos seus
671 reservatórios corpóreos, num mecanismo orquestrado pela elevação da hepcidina,
672 detalhado anteriormente. O segundo tipo de deficiência funcional de ferro ocorre por

673 insuficiente mobilização do ferro da medula eritróide, frente ao aumento da demanda, como
674 ocorre, por exemplo, quando a medula eritróide é estimulada por ESA (17).

675

676

677 **1.4.Inflamação e estresse oxidativo no paciente renal crônico**

678

679 A inflamação crônica está associada à diminuição da sobrevida dos pacientes
680 portadores de doença renal crônica em estágio avançado. Cerca de 30-50% dos portadores
681 de DRC apresentam níveis séricos elevados de proteína C reativa (PCR) e de citocinas pró-
682 inflamatórias, especialmente, o fator de necrose tumoral alfa, e as interleucinas IL-1 e IL-6. A
683 IL-6, através da estimulação da via Jak/STAT-3, promove regulação transcripcional positiva
684 da hepcidina (18).

685 A hepcidina, um peptídeo chave no metabolismo de ferro, é sintetizada
686 principalmente no fígado, embora estudos recentes tenham mostrado que pode ser
687 sintetizada em outros sítios, como neutrófilos, monócitos, linfócitos, células B do pâncreas e
688 células tubulares renais (alça de Henle e ductos coletores) (19).

689 Em estudos com pacientes renais crônicos em hemodiálise, a medida de hepcidina
690 se mostrou inferior à saturação de transferrina em prever a resposta à terapia com ferro.
691 Os níveis de hepcidina em renais crônicos podem não ser de grande valor diagnóstico
692 comparados à medida de transferrina sérica para o manejo da anemia destes pacientes (20,
693 21). O fato da depuração corporal da hepcidina ocorrer por meio de sua degradação celular
694 nos seus sítios de ação e pelo tecido renal, principalmente este último sítio, as mutações e
695 os polimorfismos em genes codificadores das proteínas envolvidas na expressão de
696 hepcidina e a redução na sua síntese hepática em estados inflamatórios contribuem para
697 este achado. De fato, vem sendo recentemente proposto, que a hepcidina tem o potencial,
698 possivelmente por represar ferro intracelular nos macrófagos de placas ateroscleróticas em
699 estados inflamatórios, aumentando o estresse oxidativo local, de vir a ser utilizada como um
700 marcador de risco cardiovascular aumentado em algumas populações, incluindo a dos
701 pacientes com DRC (21).

702 O uso relativamente liberal de ferro endovenoso, recomendado em diretrizes para o
703 tratamento da anemia do paciente renal crônico, tais como o KDOQI 2006, visa favorecer a
704 ação da eritropoetina (EPO), mas deixa em segundo plano a possibilidade de altos níveis de
705 ferritina acarretarem hemossiderose. As diretrizes clínicas do KDOQI 2006 estabeleceram
706 como alvos terapêuticos na terapia com ferro endovenoso em renais crônicos em
707 hemodiálise, ferritina sérica maior que 200 ng/mL e saturação de transferrina maior que
708 20%. Na opinião deste grupo as evidências são insuficientes para manter a administração
709 de ferro endovenoso se os níveis de ferritina ultrapassarem 500 ng/mL. As diretrizes do

710 KDIGO 2012, estabeleceram como alvos terapêuticos na terapia com ferro endovenoso,
711 ferritina de até 500 mg/mL e saturação de transferrina de 30% (22,23). De acordo com o
712 estudo DRIVE já citado anteriormente, até agora os dados publicados são insuficientes para
713 determinar se ferritina acima de 500 ng/mL ou até limites superiores a 800 ng/mL poderiam
714 excluir o uso de ferro.

715 Estudos têm demonstrado estresse oxidativo (EO) exacerbado em pacientes com
716 DRC em diferentes estágios da doença. O EO pode resultar da uremia per se. Níveis
717 plasmáticos elevados de peroxidação lipídica e protéica e intra-nucleares de ácidos
718 nucléicos e redução na atividade anti-oxidante são relatados em pacientes urêmicos,
719 comparados a indivíduos normais. O EO tem sido considerado um importante fator
720 associado à inflamação, disfunção endotelial, aterogênese e doença cardiovascular em
721 pacientes com DRC (24).

722 Em relação ao estresse oxidativo, este pode ser definido como o dano tecidual
723 resultante de um desequilíbrio entre a geração excessiva de componentes oxidantes contra
724 a produção insuficiente de mecanismos de defesa antioxidantes (25). Ainda que seja
725 essencial em mecanismos de inflamação, cicatrização/reparação e combate a
726 microrganismos e células malignas, o excesso de substâncias oxidativas é mal adaptativo
727 (26). Assim, estados de geração aumentada de espécies reativas de oxigênio (EROs) levam
728 subsequentemente a estados inflamatórios, já que EROs são liberadas dos monócitos e
729 polimorfonucleares juntamente com citocinas pró-inflamatórias, as quais amplificam, por sua
730 vez, a geração de oxidantes (27).

731 Pequenas quantidades de espécies reativas de oxigênio (EROs), incluindo ânions de
732 superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e
733 radical hidroxila (OH^-), são formados no organismo de maneira constante durante o
734 processo de geração de energia mitocondrial e pela redução do oxigênio durante a
735 respiração anaeróbica, além de ser uma resposta a estímulos internos e externos.
736 Habitualmente são neutralizados de maneira eficaz pelas enzimas superóxido dismutase
737 (SOD), catalase, glutathione peroxidase e substâncias não enzimáticas como a glutathione
738 reduzida e as vitaminas C e E. EROs e ERNs fazem parte da defesa do organismo, quando
739 em equilíbrio, mas em quantidades elevadas podem produzir lesão celular pela interação
740 com proteínas, lipídeos ou ácidos nucléicos (28). O endotélio talvez seja ao mesmo tempo a
741 principal fonte de EROs em nosso organismo e, também, a principal vítima destas espécies
742 reativas (29).

743 Por mecanismos diretos ou indiretos, intra e extracelulares, produtos do meio
744 urêmico; próprios dos indivíduos com DRC, podem causar inflamação e promover aumento
745 do estresse oxidativo ao interagirem com vários componentes celulares (ácidos nucléicos,

746 membranas e proteínas, por exemplo) promovendo alterações estáveis nestes
747 componentes, as quais podem ser utilizadas como marcadores de estresse oxidativo (30).

748 Com a progressão da insuficiência renal e consequente retenção de toxinas
749 urêmicas, o LDL é carbamylado e oxidado, e posteriormente capturado por macrófagos da
750 camada íntima dos vasos, iniciando o processo de formação da placa aterosclerótica.
751 Compostos reativos das carbonilas (RCOs), formados pela oxidação de carboidratos e
752 lipídeos podem resultar em glicação ou lipoxidação avançadas de proteínas, que geram
753 alterações biológicas, como resposta inflamatória, secreção de citocinas pró-inflamatórias
754 por macrófagos, estímulo à agregação plaquetária e proliferação de células musculares lisas
755 dos vasos. Neste contexto o EO tem sido considerado um importante fator associado à
756 inflamação, disfunção endotelial, aterogênese e doença cardiovascular em renais crônicos
757 (30).

758 Os pacientes renais crônicos representam uma população submetida
759 constantemente a estados de inflamação e estresse oxidativo aumentados, seja por suas
760 características próprias (alta prevalência de diabetes mellitus e idade avançada), seja por
761 características relacionadas à uremia (30) e à terapia dialítica, como tempo em diálise (31),
762 biocompatibilidade das membranas dialíticas (quanto menor a capacidade da membrana de
763 ativar o sistema complemento quando em contato com o sangue, maior sua
764 biocompatibilidade), exposição a endotoxinas e administração parenteral de ferro (32).

765 As consequências deste estado inflamatório e de estresse oxidativo aumentados são
766 bastante prejudiciais, e incluem a síndrome da aterosclerose-desnutrição-inflamação (MIA) e
767 maior suscetibilidade a infecções (33, 34). O gasto protéico energético e a inflamação estão
768 fortemente inter-relacionados em pacientes sob hemodiálise. Estudos mostram que o gasto
769 energético é consequência do processo inflamatório crônico em pacientes portadores de
770 doença renal crônica em estadios avançados. Fatores como citocinas pró-inflamatórias,
771 estresse oxidativo e toxinas urêmicas exercem seus papéis nesta associação (35).

772 O estado inflamatório leva ao aumento plasmático e tecidual de citocinas catabólicas,
773 tais como TNF-alfa, que promovem anorexia. Pacientes dialíticos, inflamados, evoluem com
774 redução de peso e balanço protéico negativo apesar do apetite preservado. A síntese de
775 albumina é reduzida à medida que a proteína C reativa (PCR) torna-se elevada (35).

776 Entre os diversos biomarcadores utilizados para mensurar a presença de inflamação,
777 a PCR é o mais amplamente utilizado, seguido da mensuração das citocinas pró-
778 inflamatórias como IL-6 e IL-8. A IL-6 é secretada por células como os macrófagos,
779 monócitos, linfócitos T, adipócitos e astrócitos. Exerce papel importante na resposta
780 inflamatória de fase aguda e responde pela ativação e proliferação de linfócitos,
781 diferenciação de linfócitos B, recrutamento leucocitário, regulação e síntese de fibrinogênio e
782 albumina (36).

783 Na elucidação dos mecanismos fisiopatológicos associados à anemia dos pacientes
784 renais crônicos em hemodiálise e a resposta aos ESAs, vários estudos demonstraram a
785 associação entre hiporresponsividade aos ESAs, desnutrição e inflamação em pacientes
786 submetidos à hemodiálise (37). Os níveis elevados de citocinas inflamatórias, IL-6
787 especialmente, verificados na presença de inflamação acarretam aumento dos níveis
788 séricos de hepcidina, levando à hipoferremia, além de diminuir a sensibilidade dos
789 precursores eritróides aos ESAs. O estado inflamatório interfere, ainda, com a síntese e a
790 degradação da albumina, completando o ciclo de anemia-desnutrição e inflamação
791 encontrado em pacientes renais crônicos e com outras inflamações crônicas (38).

792

793

794 **1.5. Desnutrição na doença renal crônica**

795

796 A desnutrição protéico-calórica é um dos principais fatores que afetam adversamente
797 o prognóstico do renal crônico, e tem sido associada ao aumento da morbidade e
798 mortalidade nessa população. Estudos mostram evidência de desnutrição em 23-76% dos
799 pacientes em HD (39).

800 A fisiopatologia da desnutrição protéico-calórica em renais é complexa, envolve
801 vários fatores que contribuem para anorexia e catabolismo, tais como: ingestão insuficiente
802 de nutrientes, dietas restritivas, distúrbios hormonais e gastrointestinais, acidose metabólica,
803 uso de medicamentos que interferem na absorção alimentar, doenças intercorrentes, perdas
804 de nutrientes durante a terapia dialítica e diálise inadequada (39).

805 Existem dois tipos de desnutrição na DRC: desnutrição tipo 1 ou pura e tipo 2 ou
806 inflamatória. A desnutrição tipo 1 caracteriza-se por uma modesta redução dos níveis de
807 albumina sérica e está associada à presença da síndrome urêmica, inatividade física,
808 subdiálise e restrições dietéticas. Na desnutrição tipo 2, encontramos hipoalbuminemia mais
809 acentuada, maior gasto energético de repouso, aumento do estresse oxidativo e aumento do
810 catabolismo protéico. Comorbidades são frequentemente encontradas neste segundo tipo
811 de desnutrição (40). Este segundo tipo de desnutrição está inserido dentro do contexto de
812 *MIA Syndrome* - Má nutrição, Inflamação e Aterosclerose, proposto por Bergstrom e
813 Lindholm em 1998 (41).

814 Os elementos desta síndrome parecem estar entre os fatores de risco mais
815 significativos para a elevada morbi-mortalidade e a baixa qualidade de vida desta população
816 de pacientes. Os marcadores inflamatórios tornam-se importantes na diferenciação
817 diagnóstica destes dois tipos de desnutrição dos pacientes com DRC (42).

818 Os métodos de avaliação do estado nutricional podem ser subjetivos (história clínica
819 e exame físico nutricional) e objetivos (antropometria, exames bioquímicos e bioimpedância

820 elétrica, por exemplo). A antropometria avalia o grau de adiposidade e de massa magra do
821 paciente, através da estatura, peso corporal, percentual do peso atual em relação ao ideal,
822 índice de massa corporal (IMC), espessura das pregas cutâneas, circunferência do braço,
823 área muscular do braço entre outras medidas (43).

824 Entre os índices bioquímicos disponíveis para avaliação nutricional de pacientes
825 renais crônicos, a albumina ainda é o mais utilizado. É a proteína plasmática mais
826 abundante, correspondendo a 50% das proteínas totais do soro humano. É uma molécula
827 pequena, formada por uma cadeia de 584 aminoácidos, constituindo-se em um polipeptídeo
828 simples com peso molecular de 69000 Daltons. A principal função da albumina é a
829 manutenção do volume plasmático circulante, sendo responsável por 80% da pressão
830 coloidosmótica do plasma. Desempenha papel importante na manutenção do equilíbrio
831 ácido-básico e atua como reservatório de aminoácidos (44).

832 O fígado é o único órgão capaz de sintetizar albumina, produz diariamente 150 a 250
833 mg de albumina/kg de peso corporal em indivíduos saudáveis. A ingestão alimentar
834 insuficiente causa redução de 50% na síntese hepática de albumina, nas primeiras 24 horas.
835 Fatores como alterações na distribuição dos fluidos corporais, condições de hidratação,
836 perdas corporais e taxas de síntese e catabolismo influenciam as concentrações séricas de
837 albumina (43,44).

838 A albumina possui alta especificidade e baixa sensibilidade para o diagnóstico de
839 desnutrição, pois outras causas como infecções, traumas, doenças hepáticas e perdas
840 aumentadas alteram seus níveis séricos. É um marcador tardio de desnutrição, devido à
841 meia-vida longa (aproximadamente 20 dias) e grande distribuição no organismo (43, 44).
842 Outras proteínas séricas como transferrina, pré-albumina e fator de crescimento semelhante
843 à insulina (IGF-1), tem sido utilizadas como marcadores de desnutrição, juntamente com a
844 albumina. A transferrina sérica é um indicador precoce de concentração protéica visceral.
845 Concentrações de transferrina < 200 mg/dL sugerem desnutrição (45).

846 Um estado inflamatório crônico de baixo grau, como acontece na vigência da uremia,
847 com níveis circulantes aumentados de PCR e citocinas pró-inflamatórias como TNF-alfa e
848 IL-6, tem sido apontado como um dos mais importantes fatores para desnutrição protéica
849 calórica na DRC (46).

850 Inflamação pode causar hipoalbuminemia através da redução da síntese de
851 albumina, pelo aumento do catabolismo de albumina e através da transferência da albumina
852 do espaço vascular para o extra-vascular (47). Estudos demonstraram que a inflamação
853 isolada ou associada a baixa ingestão protéica, exerce importante papel no quadro de
854 hipoalbuminemia dos renais crônicos (48).

855

856

857
858
859
860
861
862
863
864
865
866
867
868
869
870
871
872
873
874
875
876
877
878
879
880
881
882
883
884
885
886
887
888
889
890
891
892
893

JUSTIFICATIVA DA PESQUISA CLÍNICA

894 2. JUSTIFICATIVA DA PESQUISA CLÍNICA

895

896

897 A anemia é altamente prevalente em renais crônicos. Entre as causas de anemia
898 destes pacientes está incluída a deficiência funcional de ferro.

899 O uso relativamente liberal de ferro parenteral neste tipo de anemia pode melhorar a
900 síntese de hemoglobina e reduzir a dose de eritropoietina, mas não é isento de riscos. O
901 conhecimento dos fatores envolvidos na gênese da anemia associada à deficiência
902 funcional de ferro em pacientes brasileiros em hemodiálise pode propiciar um maior
903 entendimento e manejo clínico desta condição.

904

905

906

907

908

909

910

911

912

913

914

915

916

917

918

919

920

921

922

923

924

925

926

927

928

929

930

931
932
933
934
935
936
937
938
939
940
941
942
943
944
945
946
947
948
949
950
951
952
953
954
955
956
957
958
959
960
961
962
963
964
965
966
967

OBJETIVOS

968 **3. OBJETIVOS**

969

970

971 **3.1. Objetivo primário**

972

973 Verificar a prevalência de anemia com e sem deficiência funcional de ferro em renais
974 crônicos em hemodiálise.

975

976

977 **3.2. Objetivo secundário**

978

979 Verificar se há associação entre a presença de anemia com deficiência funcional de
980 ferro, estado nutricional e os níveis séricos de biomarcadores de estresse oxidativo e de
981 inflamação em pacientes renais crônicos em hemodiálise em duas unidades de hemodiálise
982 de Londrina, PR.

983

984

985

986

987

988

989

990

991

992

993

994

995

996

997

998

999

1000

1001

1002

1003

1004

1005
1006
1007
1008
1009
1010
1011
1012
1013
1014
1015
1016
1017
1018
1019
1020
1021
1022
1023
1024
1025
1026
1027
1028
1029
1030
1031
1032
1033
1034
1035
1036
1037
1038
1039
1040

CASUÍSTICA E MÉTODOS

1041 4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

1042

1043

1044 4.1. Delineamento

1045

1046 Estudo transversal

1047

1048

1049 4.2. População

1050

1051 Pacientes renais crônicos em tratamento em duas unidades de hemodiálise em
1052 Londrina (Instituto do Rim de Londrina e Histocom Atividades Médicas)

1053

1054

1055 4.3. Amostragem

1056

1057 Foram convidados a participar do estudo em junho de 2014, pacientes com idade
1058 maior que 18 anos, há pelo menos três meses em hemodiálise. Foram excluídos pacientes
1059 em hemodiálise por cateter venoso central, portadores de neoplasias, infecção ativa ou que
1060 tenha motivado internação nos últimos quinze dias, além de portadores de hepatite B, C ou
1061 vírus da imunodeficiência humana. Todos os pacientes foram instruídos a não interromper o
1062 uso de vitaminas do complexo B, incluindo vitamina B12 e de ácido fólico 5mg durante o
1063 período de estudo, em conformidade com a rotina do serviço. O conceito de raça/cor
1064 utilizado foi o de autodefinição, seguindo as orientações do Instituto Brasileiro de Geografia
1065 e Estatística (IBGE).

1066 As diálises eram realizadas em sessões de 210 a 240 minutos, com fluxo de sangue
1067 de 300 a 450 mL/min e dialisato a 500 mL/min, três vezes por semana. Os capilares
1068 utilizados foram de triacetato de celulose com área de superfície de acordo com a superfície
1069 corpórea do paciente. A qualidade da água do centro de diálise atende todos os requisitos
1070 de água adequada para tratamento dialítico, de acordo com a RDC nº11 de 13/03/2014. A
1071 eficiência da diálise tem como alvo Kt/V não equilibrado de 1,2. O Kt/V é uma unidade
1072 adimensional que avalia a remoção da uréia em uma sessão de hemodiálise, e é utilizado
1073 como uma medida de adequação dialítica.

1074 Os participantes foram orientados sobre o estudo e todos os que concordaram em
1075 participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice). O estudo foi
1076 aprovado e registrado sob o nº CAAE 15842613.0.0000.5231 e parecer 158/2013 pelo
1077 Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Londrina (Anexo I). Utilizando-se

1078 de revisão de prontuários e entrevistas, foram coletados os dados demográficos,
1079 antropométricos, tempo em diálise, doença de base, comorbidades, tabagismo e etilismo
1080 atual e medicações em uso. A dose média de eritropoetina e de ferro parenteral foi baseada
1081 nos últimos 30 dias antes da coleta das amostras de sangue, em U/mês e mg/mês,
1082 respectivamente.

1083 Foram incluídos 200 pacientes no estudo. Destes 17 foram excluídos, seis por óbito,
1084 quatro por infecção ativa, cinco por coleta sanguínea inadequada e dois por necessidade de
1085 inserção de catéter venoso temporário para hemodiálise, de forma que 183 pacientes
1086 completaram o estudo.

1087 ADFD foi definida pela presença de níveis de ferritina sérica > 200 ng/mL e índice de
1088 saturação de transferrina < 20%. E anemia por deficiência absoluta de ferro definida por
1089 ferritina < 200 ng/dL e índice de saturação de transferrina < 20%.

1090

1091

1092 **4.4. Mensuração dos parâmetros antropométricos**

1093

1094 O peso foi medido com os pacientes com roupas leves em uma balança Filizzola,
1095 com precisão para 0,1 Kg. Para o estudo foi registrado o peso seco atual do paciente (peso
1096 na saída da hemodiálise sem sinais de depleção ou excesso de volume extracelular). A
1097 altura foi medida com uso de uma trena, utilizando-se aproximação para o centímetro mais
1098 próximo, com os pacientes em pé, encostados na parede, com os pés unidos. Quando este
1099 processo de medição não foi possível, a altura utilizada foi a referida pelo paciente ou
1100 familiares.

1101 A cintura abdominal foi medida com o paciente ereto, por meio de fita métrica
1102 plástica flexível, com intervalos de 1cm, e subdivisões, com aproximação para o centímetro
1103 mais próximo, no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca ântero-superior. A
1104 circunferência do braço dominante (exceto quando houvesse presença de fístula
1105 arteriovenosa neste segmento corporal, quando foi verificada no braço contralateral) foi
1106 medida com a mesma fita métrica, no ponto médio do braço, sem aproximações.

1107

1108

1109 **4.5 Análises Bioquímicas**

1110

1111 Para as análises bioquímicas, amostras de sangue dos pacientes (aproximadamente
1112 20 mL) foram obtidas no momento da punção para o início da primeira hemodiálise da
1113 semana, em tubos com vácuo (Vacutainer®, Franklin Lakes, NJ USA) sem anticoagulante,
1114 após orientação de oito horas de jejum. Os pacientes estavam sem uso de ferro endovenoso

1115 (Sacarato de Hidróxido de Ferro) há sete dias. Todas as amostras foram centrifugadas a
1116 3000 rpm (830 g) durante 15 minutos. O soro obtido permaneceu armazenado a -70° C até a
1117 realização das análises.

1118 Foram dosados níveis séricos de hemoglobina, hematócrito, creatinina, uréia pré e
1119 pós-sessão (para cálculo da eficiência da diálise, ou Kt/V), ferro sérico, ferritina, saturação
1120 de transferrina, cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, paratormônio (PTH), albumina, segundo
1121 técnicas padrão no laboratório de rotina. A concentração sérica de transferrina e a
1122 capacidade total de ligação do ferro (CTLF) foram calculadas a partir da saturação de
1123 transferrina e ferro sérico através das seguintes equações:

1124 $\text{Transferrina Sérica (mg/dL)} \times 1.25 = \text{CTLF}^* \text{ (mg/dL)}$

1125 $\text{Saturação de transferrina (\%)} = \text{Ferro sérico} / \text{CTLF}$

1126 *CTLF: capacidade total de ligação de ferro

1127

1128

1129 **4.6. Mensuração de parâmetros de inflamação**

1130

1131 A mensuração de parâmetros de inflamação foi feita através da dosagem de
1132 Interleucina-6 (IL-6) e proteína C reativa (PCR) por ELISA.

1133

1134

1135 **4.7. Mensuração do estresse oxidativo**

1136

1137 Para mensuração do estresse oxidativo, utilizamos o seguinte painel: dosagem de
1138 metabólitos do óxido nítrico – NOx, determinação de produtos avançados da oxidação de
1139 proteínas (AOPP), determinação da atividade da paraoxonase 1 (PON-1), grupamento
1140 sulfidril, glutatona reduzida, oxidada e total. A descrição das técnicas utilizadas é
1141 apresentada a seguir.

1142

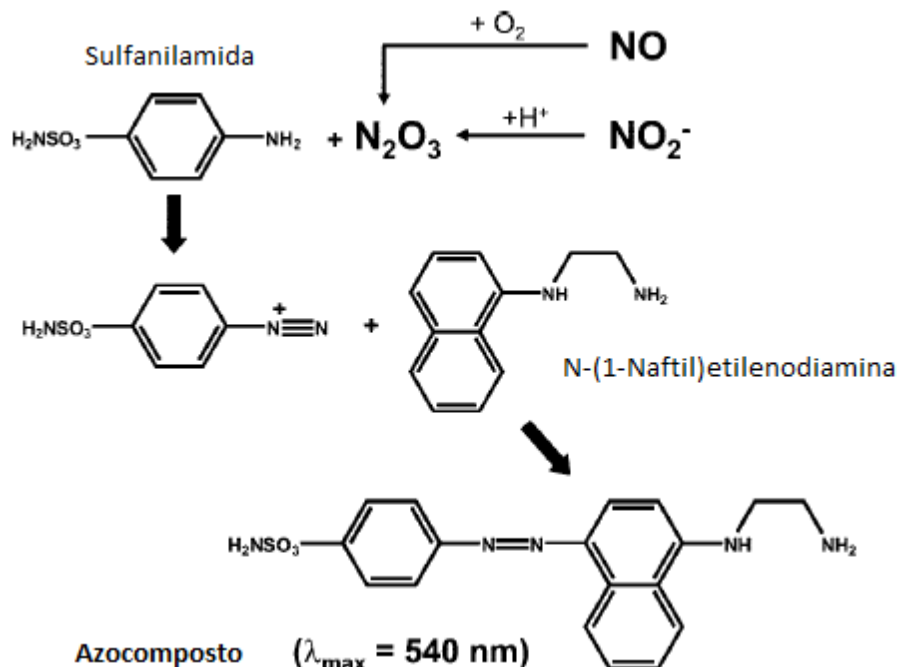
1143

1144 **4.7.1. Metabólitos do óxido nítrico (NOx)**

1145

1146 A determinação da concentração de subprodutos do NOx foi realizada pela técnica
1147 descrita por Navarro-Gonzalez et al. (49), apresentada no Anexo II. O óxido nítrico é um
1148 gás muito instável e rapidamente se degrada nos subprodutos nitratos e nitritos, que podem
1149 ser detectados no soro. O método de detecção baseia-se na redução de nitrato a nitrito,
1150 mediada por reações de óxido-redução ocorridas entre o nitrato presente na amostra e o
1151 sistema cádmio-cobre dos reagentes, com posterior diazotização e detecção colorimétrica do

1152 azocomposto formado pela adição do reagente de Griess. A quantificação de NOx foi feita
 1153 em leitora de microplacas Asys Expert Plus, Biochrom® (Holliston, MA, EUA), sendo as
 1154 leituras feitas em 540 nm. A concentração de óxido nítrico foi expressa em μM .
 1155



1156
 1157

1158 Figura 4 – Reações químicas envolvidas na análise de NOx.

1159 Fonte: Adaptado de Tarpey, Wink, Grisham, 2003.

1160
 1161

1162 4.7.2. Determinação de produtos avançados da oxidação de proteínas (AOPP)

1163

1164 Para a quantificação de AOPP no plasma foi utilizado o método descrito por Witko-
 1165 Sarsat et al. (50), apresentada no Anexo III. Esse teste foi utilizado para medir a oxidação
 1166 protéica. A leitura da reação da AOPP foi feita em um espectrofotômetro, marca Thermo
 1167 Spectronic®, modelo Helios- α (Waltham, MA, EUA) no comprimento de onda de 340 nm. A
 1168 concentração de AOPP foi expressa em $\mu\text{mol/L}$ de equivalente de cloramina T.

1169
 1170

1171 4.7.3. Determinação da atividade da paraoxonase 1 (PON-1)

1172

1173 A atividade total da PON-1 foi determinada pela formação de hidrólise do fenil-
 1174 acetato (fenol), baseado na metodologia descrita por Richter, Jarvink e Furlong (51),

1175 apresentada no Anexo IV. A taxa de hidrólise de fenil-acetato, foi determinada em uma
1176 leitora de microplacas, marca Perkin Elmer®, modelo EnSpire (Waltham, MA, EUA) no
1177 comprimento de onda de 270 nm, medidos durante quatro minutos (16 leituras com intervalo
1178 de 15 segundos entre as leituras) com a temperatura mantida a 25°. A atividade foi expressa
1179 em U/mL com base no coeficiente de extinção molar do fenil-acetato que equivale a 1,31
1180 mMol/Lcm-1.

1181

1182

1183 **4.7.4. Determinação do grupamento tiol (SH-grupo)**

1184 O grupamento tiol de proteínas foi avaliado no plasma por espectrofotometria
1185 descrito previamente por Miao-Lin Hu (52), (Anexo V). O método de análise é baseado na
1186 reação do ácido 5,5-ditiobis 2-nitrobenzóico (DTNB) com o grupo sulfidril de proteínas. A
1187 leitura da reação foi feita em um espectrofotômetro marca Thermo Spectronic®, modelo
1188 Helios- α (Waltham, MA, EUA) com o comprimento de onda de 412 nm. Os resultados foram
1189 expressos em μ M/mg de proteína.

1190

1191

1192 **4.7.5. Glutaciona total, reduzida e oxidada**

1193

1194 A glutaciona eritrocitária foi quantificada pela técnica descrita por Tietze et al. e
1195 modificada por Anderson (53, 54), (Anexo VI). O princípio da técnica se baseia na
1196 quantificação da glutaciona total e reduzida. A concentração eritrocitária de glutaciona
1197 reduzida é dada pela capacidade do DTNB em oxidá-la formando, assim, a glutotiona
1198 oxidada e TNB, cuja coloração amarelada é avaliada por espectrofotometria. A glutaciona
1199 total é quantificada, a partir da redução de glutaciona oxidada, em meio ácido e pela
1200 presença de NADPH, em glutaciona reduzida, esta quantificada pelo DTNB. A glutaciona
1201 oxidada foi calculada conforme protocolo apresentado no Anexo VI. Estes resultados são
1202 corrigidos pela quantidade de hemoglobina da amostra.

1203

1204

1205 **4.8. Análise estatística**

1206

1207 As variáveis quantitativas foram expressas como médias \pm desvios padrões ou
1208 medianas e intervalos interquartílicos, de acordo com a normalidade ou não dos dados. Foi
1209 utilizado o teste Kolmogorov-Smirnov para verificar se as variáveis seguiam distribuição
1210 normal.

1211 Para comparar as proporções de: raça/cor, gênero dos pacientes, tabagistas,
1212 etilistas, hipertensos, diabéticos, paratireoidectomizados, usuários de sevelamer; quelante
1213 de fósforo não-cálcico, usuários de inibidores da enzima de conversão da angiotensina (i-
1214 ECA) e, ou bloqueadores dos receptores de angiotensina (BRA), estatinas, cálcio, calcitriol,
1215 ferro endovenoso e de EPO, foi aplicado o teste do Qui-quadrado.

1216 As variáveis com distribuição normal como idade, GS, hematócrito, hemoglobina e
1217 creatinina foram comparadas utilizando o teste t de Student. O teste de Mann Whitney foi
1218 utilizado para comparar as seguintes variáveis: tempo em hemodiálise, IMC, AOPP, NOx,
1219 glutatona total, reduzida e oxidada, Kt/V, PTH, ferro sérico, ferritina, transferrina, CTLF, %
1220 saturação de transferrina, cálcio sérico, fósforo sérico, fosfatase alcalina, albumina, IL-6,
1221 circunferência abdominal (CA), circunferência do braço, dose de EPO e PCR.

1222 O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

1223 Para as análises estatísticas foi utilizado o software GraphPad InStat version 3.10 for
1224 Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com.

1225

1226

1227

1228

1229

1230

1231

1232

1233

1234

1235

1236

1237

1238

1239

1240

1241

1242

1243

1244

1245

1246

1247

1248
1249
1250
1251
1252
1253
1254
1255
1256
1257
1258
1259
1260
1261
1262
1263
1264
1265
1266
1267
1268
1269
1270
1271
1272
1273
1274
1275
1276
1277
1278
1279
1280
1281
1282
1283

RESULTADOS

1284 5. RESULTADOS

1285

1286

1287 Dos 183 pacientes que concluíram o estudo, sete pacientes com deficiência absoluta
1288 de ferro foram excluídos da análise estatística, correspondendo a 3,82% da amostra.

1289 Dos 176 pacientes selecionados para a análise estatística, 125 (71%) eram homens,
1290 com idade média de 56,1 anos, variando entre 53,4 e 58,8 anos.

1291 Para análise estatística os pacientes foram separados em dois grupos: 65 pacientes
1292 (36,9% da amostra) no grupo com ADFE e 111 pacientes (63,1% da amostra) no grupo com
1293 anemia sem deficiência funcional de ferro (ASDFE). A prevalência de ADFE na amostra
1294 estudada foi, portanto, de 36,9%.

1295 A Tabela 1 apresenta os dados demográficos, epidemiológicos e clínicos dos
1296 pacientes, divididos em portadores de ADFE e portadores de anemia sem deficiência
1297 funcional de ferro. Entre os grupos, não houve diferenças estatisticamente significativas
1298 quanto à idade, sexo, tempo em hemodiálise e Kt/V. Também não houve diferenças no uso
1299 de estatinas, IECA e/ou BRA, eritropoetina, cálcio, calcitriol, sevelamer e ferro endovenoso
1300 entre os grupos, assim como não houve diferenças quanto ao tabagismo e etilismo atual e a
1301 presença de hipertensão, diabetes e paratireoidectomia prévia.

1302 Os níveis de albumina encontravam-se reduzidos no grupo de pacientes com ADFE,
1303 com diferença estatística significativa ($p= 0,002$). As medianas de IMC, CA e circunferência
1304 do braço também eram significativamente menores nos pacientes com ADFE.

1305 Referente aos exames séricos laboratoriais de rotina como cálcio, fósforo, fosfatase
1306 alcalina, PTH, e creatinina, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os
1307 grupos estudados. Os níveis de ferro sérico foram menores ($p < 0,0001$), bem como a % de
1308 saturação de transferrina ($p < 0,0001$), e os níveis de hemoglobina e hematócrito, nos
1309 pacientes do grupo com ADFE. Verificou-se ainda, neste mesmo grupo, menores medianas
1310 de transferrina ($p < 0,0100$), menores medianas de CTLF ($p = 0,0100$) e administração de
1311 maiores doses mensais de ferro parenteral ($p = 0,0027$).

1312 Em relação aos parâmetros de inflamação e estresse oxidativo avaliados, não houve
1313 diferenças estatisticamente significativas entre os portadores de anemia com e sem
1314 deficiência funcional de ferro.

1315

1316

1317

1318

1319

1320 **Tabela 1. Características demográficas, epidemiológicas e clínicas dos pacientes**
 1321 **portadores de DRC com e sem ADFP**
 1322

Variável	Com ADFP (n= 65)	Sem ADFP (n= 111)	p
Sexo Feminino	19 (29,3%)	32 (28,8%)	0,9548
Sexo Masculino	46 (70,7%)	79 (71,2%)	0,9548
Cor/raça			0,3253
Branca	46 (63,0%)	70 (63,6%)	
Preta	10 (13,6%)	30 (27,2%)	
Parda	6 (8,2%)	8 (7,2%)	
Amarela	3 (4,1%)	3 (2,7%)	
Idade (anos) (média) (IC 95%)	55,0 (51,0 - 59,1)	54,5 (21,6 - 57,4)	0,8230
Tempo de HD (meses) (mediana) (IIQ)	48,0 (12,0 - 75,0)	48,0 (24,0 - 81,0)	0,3992
KtV (mediana) (IIQ)	1,370 (1,210- 1,480)	1,390 (1,260-1,530)	0,4788
Creatinina (média) (mg/dL) (IC95%)	8,83 (8,04-9,62)	9,30 (8,71-9,90)	0,3404
Albumina (mediana) (g/dL)(IIQ)	4,05 (3,80-4,30)	4,20 (4,10-4,50)	0,0020§
IMC (mediana) (IIQ)	23,1 (21,0 – 26,1)	25,1 (22,0 – 29,2)	0,0075§
Circunferência abdominal (mediana) (cm) (IIQ)	89,25 (82,00- 99,75)	99,00 (87,25- 108,00)	0,0036§
Circunferência do braço (mediana) (cm) (IIQ)	26,00 (24,00- 29,00)	28,00 (26,00-30,50)	0,0076§
Diabéticos	65 (89,0%)	97 (88,2%)	0,8583
Hipertensos	58 (89,2%)	97 (87,4%)	0,9020
Tabagistas	8 (12,3%)	12 (10,8%)	0,9554
Etilistas	10 (9,2%)	18 (16,2%)	0,8843
PTX prévia	13 (20,0%)	15 (23,1%)	0,3565
Uso de carbonato ou acetato de Cálcio	37 (56,9%)	69 (62,2%)	0,5990
Uso de sevelamer	27 (41,5%)	61 (55,0%)	0,1183
Uso de calcitriol	23 (35,4%)	38 (34,2%)	0,8770
Uso de IECA/BRA	38 (58,5%)	55 (49,5%)	0,3238

Uso de estatina	21 (32,3%)	25 (22,5%)	0,2120
Cálcio sérico (mg/dL) (mediana) (IQI)	8,12 (7,83-8,41)	8,42 (8,21-8,64)	0,0963§
Fósforo sérico (mediana) (mg/dL) (IIQ)	5,70 (4,30-6,60)	5,60 (4,70-7,20)	0,6097
Fosfatase alcalina (mediana) (U/L) (IIQ)	126,0 (85,0-208,0)	161,0 (101,0-215,5)	0,1604
PTH (mediana) (pg/mL) (IIQ)	326,8 (145,30-707,0)	462,7 (165,00-941,35)	0,2561

1323

1324 Valores em mediana (intervalos interquartis), §: teste de Mann-Whitney

1325 Abreviaturas: ADFE: Anemia com deficiência funcional de ferro, IIQ: Intervalo interquartilico,

1326 HD: Hemodiálise, IMC: Índice de massa corpórea, PTX: Paratireoidectomia, IECA: Inibidores

1327 da enzima de conversão da angiotensina, BRA: Bloqueadores dos receptores de

1328 angiotensina, PTH: Paratormônio.

1329

1330

1331

1332

1333

1334

1335

1336

1337

1338

1339

1340

1341

1342

1343

1344

1345

1346

1347

1348

1349 **Tabela 2. Concentrações de hemoglobina, marcadores do metabolismo do ferro,**
 1350 **inflamatórios e de estresse oxidativo em pacientes em hemodiálise com e sem ADFP.**
 1351

Variável	Com ADFP (n= 65)	Sem ADFP (n=111)	p
Hematócrito (%) (média) (IC 95%)	32,84 (31,47-34,22)	34,66 (33,70-35,62)	0,0288
Hemoglobina g/dL (média) (IC 95%)	11,09 (10,64-11,54)	11,83 (11,52-12,14)	0,0063
Ferro sérico (mediana) (µg/dL) (IIQ)	47,40 (41,00-55,40)	90,70 (68,45-122,70)	<0,0001§
Ferritina (ng/mL) (mediana) (IIQ)	1010,0 (568,3-1360,0)	1030,0 (739,4-1455,0)	0,2295
% Sat. transferrina (mediana) (IIQ)	0,170 (0,150-0,185)	0,310 (0,240-0,481)	<0,0001§
Transferrina (mediana) (mg/dL) (IIQ)	208,0 (182,4-248,0)	233,3 (209,8-260,2)	0,0100§
CTLF (mg/dL) (mediana) (IIQ)	260,0 (228,0-310,0)	291,6 (262,2-325,2)	0,0100§
Uso de ferro parenteral	44 (67,7%)	70 (63,1%)	0,6477
Dose mensal de ferro parenteral (mg) (mediana) (IIQ)	400 (200,0-400,0)	200 (200,0-400,0)	0,0027
Dose mensal de Epo (UI)	32.000 (32.000-48.000)	32.000 (24.000-48.000)	0,7846
IL-6 (mediana) (pg/mL) (IIQ)	6,78 (4,54-11,81)	6,96 (3,53-12,02)	0,6270
Proteína C reativa (mediana) (mg/dL) (IIQ)	9,10 (3,40-16,10)	6,30 (3,05-12,60)	0,1169
AOPP (µM de equivalente de cloramina T) (mediana) (IIQ)	175,28 (142,78-224,52)	187,70 (145,33-272,04)	0,2050
NOx (µM) (mediana) (IIQ)	10,43 (8,36-15,16)	11,02 (8,08-15,91)	0,7256
Grupamento sulfidríla (mM/mg de proteína) (média) (IC 95%)	265,39 (249,83-280,95)	272,93 (261,47-284,39)	0,4340

Glutaciona total (mM/g de Hb)	7,12 (5,99-8,22)	6,98 (6,17-7,95)	0,5188
Glutaciona reduzida (mM/g de Hb)	5,07 (4,37-5,90)	4,96 (4,28-5,64)	0,2786
Glutaciona oxidada (mM/g de Hb) (mediana) (IIQ)	0,94 (0,67-1,22)	0,99 (0,83-1,23)	0,7360
Paraoxonase (U/mL) (mediana) (IIQ)	139,77 (105,48-164,76)	146,59 (124,25-175,49)	0,0919

1352

1353 Valores em mediana (intervalos interquartis), §: teste de Mann-Withney

1354 Abreviaturas: ADFE: Anemia com deficiência funcional de ferro, IC: Intervalo de confiança,

1355 IQI: Intervalo interquartilico, CTLF: Capacidade total de ligação de ferro, Epo: Eritropoetina,

1356 IL-6: Interleucina-6, AOPP: Produtos de oxidação protéica avançada, NOx: Metabólitos do

1357 óxido nítrico.

1358

1359

1360

1361

1362

1363

1364

1365

1366

1367

1368

1369

1370

1371

1372

1373

1374

1375

1376

1377

1378

1379

1380
1381
1382
1383
1384
1385
1386
1387
1388
1389
1390
1391
1392
1393
1394
1395
1396
1397
1398
1399
1400
1401
1402
1403
1404
1405
1406
1407
1408
1409
1410
1411
1412
1413
1414
1415

DISCUSSÃO

1416 6. DISCUSSÃO

1417

1418

1419 O presente estudo esperava encontrar presença de maior estresse oxidativo e
1420 inflamação no grupo de pacientes renais crônicos portadores de ADFE, levando-se em
1421 consideração que a literatura mostra que a ADFE está associada a maior grau de
1422 inflamação.

1423 A análise dos dados mostrou que os níveis de inflamação e os parâmetros de
1424 estresse oxidativo foram semelhantes entre os dois grupos estudados. Entretanto, dentre
1425 estes dois grupos, a dose mensal de ferro parenteral foi significativamente maior, enquanto
1426 hemoglobina, hematócrito, CTLF, transferrina, % de saturação de transferrina, albumina
1427 sérica, IMC, CA e circunferência do braço foram significativamente menores no grupo com
1428 ADFE. Embora de interpretação difícil em pacientes com anemia, especialmente na anemia
1429 do paciente renal crônico, os menores valores de transferrina sérica observados neste
1430 estudo podem indicar redução de síntese desta proteína, uma vez que a mesma é
1431 considerada um marcador nutricional também em pacientes com DRC (55).

1432 Os dados de menores concentrações sérica de albumina no grupo dos portadores de
1433 ADFE, assim como menores índices de hemoglobina, hematócrito, IMCs, CA e
1434 circunferência do braço, são indicativos que parâmetros nutricionais menores, mas não
1435 inflamação ou estresse oxidativo encontraram-se associados à ADFE. Estudos clássicos
1436 sobre a síntese de hemoglobina, heme proteína, cuja principal função é o transporte de
1437 oxigênio dos pulmões para o tecido, mostram a importância de nível sérico adequado de
1438 aminoácidos para a síntese das cadeias polipeptídicas das cadeias globina desta proteína
1439 (56).

1440 Preocupa o fato de os pacientes do grupo portador de ADFE terem recebido maior
1441 dose mensal de ferro que os do grupo sem ADFE, pois parece indicar que um equívoco na
1442 ferroterapia pode estar ocorrendo, já que os pacientes deste grupo por apresentarem altos
1443 níveis de ferritina sérica não deveriam ter recebido maiores doses de ferro parenteral
1444 quando comparados aos pacientes com anemia com algum grau de deficiência absoluta de
1445 ferro, pelo risco de hemossiderose. Ressalta-se que a conduta terapêutica destes pacientes
1446 é pautada na portaria nº 226 de 10 de maio de 2010 do Ministério da Saúde - Protocolo
1447 Clínico e Diretrizes Terapêuticas para a Reposição de Ferro e uso de Eritropoetina Humana
1448 Recombinante para tratamento de anemia em pacientes renais crônicos (Anexo VII).

1449 Na portaria 226 considera-se a definição clássica de anemia pela Organização
1450 Mundial de Saúde (OMS): hemoglobina < 13 g/dL para homens e mulheres na pós-
1451 menopausa, e hemoglobina < 12 g/dL em mulheres pré-menopausa. A definição de
1452 deficiência absoluta de ferro é a mesma das diretrizes internacionais, níveis de ferritina <

1453 200 ng/dL e IST < 20%. Para definir deficiência relativa ou funcional de ferro utiliza os
1454 seguintes parâmetros: ferritina entre 200 e 800 e IST < 20%. Como critérios para prescrição
1455 de ferroterapia a portaria 226 preconiza a presença de paciente com DRC, Hb < 11,
1456 presença de deficiência absoluta ou funcional de ferro e hemodiálise. Como critérios de
1457 exclusão para ferroterapia considera a presença de ferritina > 1.200 ng/mL ou IST > 50%
1458 (Anexo VII). As diretrizes internacionais KDOQI 2012 referem que não há evidências
1459 suficientes para recomendar ferroterapia se ferritina > 500 ng/mL (57); as diretrizes
1460 nacionais da Sociedade Brasileira de Nefrologia recomendam interromper o uso de ferro
1461 endovenoso, se ferritina > 800 ng/dL ou saturação de transferrina > 50% (58).

1462 Como parâmetro balizador, estudo feito previamente em pacientes destes mesmos 2
1463 centros de hemodiálise do presente trabalho, mostrou que sob a suplementação de
1464 vitaminas rotineiramente recomendadas, os valores médios de ácido fólico e medianos de
1465 vitamina B12 encontravam-se dentro das faixas de referência em 186 pacientes tratados por
1466 hemodiálise (59).

1467 O presente estudo tem limitações como, por exemplo, ser um estudo transversal,
1468 com um número relativamente pequeno de pacientes, e não ter feito mensuração de
1469 cofatores para a síntese de hemoglobina como vitamina B12 e ácido fólico.

1470 Embora vários trabalhos tenham demonstrado que a ADFE está ligada ao complexo
1471 desnutrição-inflamação, os resultados verificados no presente estudo não apontaram para
1472 esta associação. Tendo sido utilizado um amplo painel de biomarcadores de estresse
1473 oxidativo e de inflamação, bem como vários parâmetros nutricionais, e com a definição da
1474 ADFE utilizada, sua presença esteve associada a menores valores de marcadores
1475 nutricionais, mas não a valores aumentados de biomarcadores de inflamação ou de estresse
1476 oxidativo. Diferenças nas populações em hemodiálise (por exemplo, etnia, mutações e
1477 polimorfismos em proteínas envolvidas no metabolismo do ferro, nível sócio-econômico,
1478 padrão alimentar, uso de suplementação vitamínica, prevalência de anorexia e de
1479 depressão), nas diretrizes de manejo da anemia e na definição de ADFE podem ter
1480 contribuído para estes resultados.

1481

1482

1483

1484

1485

1486

1487

1488

1489

1490
1491
1492
1493
1494
1495
1496
1497
1498
1499
1500
1501
1502
1503
1504
1505
1506
1507
1508
1509
1510
1511
1512
1513
1514
1515
1516
1517
1518
1519
1520
1521
1522
1523
1524
1525

CONCLUSÕES

1526 7. CONCLUSÕES

1527

1528

1529 O estudo não mostrou associações significativas entre ADFE e inflamação e estresse
1530 oxidativo, o que seria esperado segundo dados da literatura atual. Os pacientes
1531 apresentaram níveis elevados de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo,
1532 provavelmente pela própria uremia, mas não foi evidenciado maior grau de inflamação ou de
1533 estresse oxidativo nos pacientes portadores de ADFE.

1534 A ADFE esteve associada a menores valores de marcadores nutricionais, como
1535 evidenciado pela presença de menores índices de IMC, albumina, transferrina, CA e
1536 circunferência do braço.

1537 ADFE pode ser causada por produção acelerada de células vermelhas induzida pelo
1538 uso de ESA, assim como por baixos níveis de transferrina secundários à desnutrição e/ou
1539 redução da mobilização de ferro dos estoques do sistema retículo-endotelial no contexto de
1540 inflamação ou infecção. O estudo que esperava associar ADFE com maior estado
1541 inflamatório e de estresse oxidativo, encontrou dados consistentes que associam ADFE a
1542 valores de marcadores nutricionais mais baixos.

1543 O fato de os pacientes do grupo portador de ADFE terem recebido doses
1544 significativamente maiores de ferro parenteral que o grupo sem ADFE é motivo de
1545 preocupação, pois é bem conhecido que ferroterapia excessiva pode acarretar
1546 hemossiderose. A portaria nº 226 de 10 de maio de 2010 do Ministério da Saúde não libera
1547 o uso de Epo para o tratamento da anemia dos pacientes renais crônicos na vigência de
1548 saturação de transferrina < 20%, mesmo que os níveis de ferritina estejam acima de 500
1549 ng/dL, o que acarreta a manutenção do ferro parenteral com intuito de alcançar saturação
1550 de transferrina > 20% para permitir a dispensação de EPO pelo Ministério da Saúde.
1551 Segundo esta mesma portaria, o tratamento com ferro parenteral deverá ser interrompido
1552 temporariamente quando a saturação de transferrina for maior que 50% ou a ferritina sérica
1553 maior que 800 ng/dL, ou ainda maior que 1200 ng/dL em pacientes necessitando de doses
1554 de alfaepoetina maiores que 225UI/Kg/semana ou 22.500UI/semana.

1555 A diretriz internacional mais recente (KDIGO 2012) preconiza que o uso de ferro
1556 parenteral seja suspenso mediante níveis de ferritina > 500 ng/dL. As diretrizes da
1557 Sociedade Brasileira de Nefrologia para o tratamento da anemia no renal crônico,
1558 consideram a interrupção do uso de ferro endovenoso mediante níveis de ferritina > 500
1559 ng/dL e saturação de transferrina > 30% e tornam obrigatória a suspensão da ferroterapia
1560 mediante ferritina > 800 ng/dL ou saturação de transferrina > 50%. Enquanto a portaria
1561 SAS/MS nº 226, de 10 de maio de 2010, permite uso de ferro parenteral para ferritina entre
1562 500 – 1.200 ng/dL.

1563 O estudo alerta para uma revisão da portaria 226 do Ministério da Saúde, e para um
1564 maior cuidado na prescrição de ferro parenteral.

1565 O presente estudo tem limitações como, por exemplo, número relativamente
1566 reduzido de pacientes, falta da dosagem de ácido fólico e vitamina B12 e de marcadores
1567 hematimétricos adicionais. Por outro lado, foi realizado em pacientes em unidades com
1568 controle adequado de qualidade da água, da adequação da hemodiálise e dos níveis de
1569 hemoglobina, além de utilizar uma variedade relativamente ampla de biomarcadores de
1570 estresse oxidativo e inflamação.

1571

1572

1573

1574

1575

1576

1577

1578

1579

1580

1581

1582

1583

1584

1585

1586

1587

1588

1589

1590

1591

1592

1593

1594

1595

1596

1597

1598

1599

1600
1601
1602
1603
1604
1605
1606
1607
1608
1609
1610
1611
1612
1613
1614
1615
1616
1617
1618
1619
1620
1621
1622
1623
1624
1625
1626
1627
1628
1629
1630
1631
1632
1633
1634
1635
1636

CONSIDERAÇÕES FINAIS

1637 **8. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

1638

1639

1640 O presente trabalho corrobora a necessidade de estudos adicionais, incluindo
1641 estudos clínicos aleatorizados em pacientes em hemodiálise, utilizando-se marcadores mais
1642 específicos de deficiência funcional de ferro (conteúdo de ferro na medula óssea e nos
1643 reticulócitos, por exemplo) e avaliações bioquímicas e antropométricas mais sensíveis para
1644 a avaliação nutricional no intuito de tentar definir o manejo mais apropriado da ADFE nestes
1645 pacientes.

1646 Levando-se o contexto do estudo (pacientes brasileiros em tratamento por
1647 hemodiálise), os resultados apontam para a conveniência da reanálise da portaria SAS/MS
1648 nº 226, de 10 de maio de 2010 no que se refere à ferroterapia no tratamento da anemia dos
1649 pacientes com DRC, de forma a se tentar reduzir o risco de hemossiderose nos pacientes
1650 renais crônicos em tratamento hemodialítico.

1651

1652

1653

1654

1655

1656

1657

1658

1659

1660

1661

1662

1663

1664

1665

1666

1667

1668

1669

1670

1671

1672

1673

1674
1675
1676
1677
1678
1679
1680
1681
1682
1683
1684
1685
1686
1687
1688
1689
1690
1691
1692
1693
1694
1695
1696
1697
1698
1699
1700
1701
1702
1703
1704
1705
1706
1707
1708
1709

REFERÊNCIAS

1710 **REFERÊNCIAS**

1711

1712

- 1713 1. Parfrey PS, Foley N. The clinical epidemiology of cardiac disease in chronic renal
1714 failure. *J Am Sc Nephrol* 1999; 10: 1606-1615
- 1715 2. Block GA, Klassen OS, Lazarus JM, et al. Mineral metabolism, mortality and
1716 morbidity in maintenance dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2208-2218.
- 1717 3. Locatelli F, Canaud B, Eckardt K et al. Oxidative stress in end-stage renal disease:
1718 an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1272-1280.
- 1719 4. Babitt JL, Lin HY. Mechanisms of anemia in CKD. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23: 1631-
1720 1634.
- 1721 5. Francisco ALM, Stenvinkel P, Vaulont S. Inflammation and its impact on anaemia in
1722 chronic kidney disease: from haemoglobin variability to hyporesponsiveness. *Nephrol
1723 Dial Transplant* 2009; 2(suppl1): i18-126.
- 1724 6. Chawla LS, Krishnan M. Causes and consequences of inflammation on anemia
1725 management in hemodialysis patients. *Hemodial Int* 2009; 13: 222-234.
- 1726 7. Camaschella C. Iron deficiency anemia. *N Engl J Med* 2015; 372-370.
- 1727 8. Coyne DW. Heparin: clinical utility as a diagnostic tool and therapeutic target. *Kidney
1728 Int* 2011; 80: 240-244.
- 1729 9. Kautz L, Nemeth E. Molecular liaisons between erythropoiesis and iron metabolism.
1730 *Blood* 2014; 124: 479-482.
- 1731 10. Porto G, Oliveira S, Pinto JP. Heparin: a molécula-chave na regulação do
1732 metabolismo do ferro. *GE-J Port-Gastroenterol* 2012; 19: 26-32.
- 1733 11. Zumbrennen-Bullough K, Babitt JL. The iron cycle in chronic kidney disease (CKD):
1734 from genetics and experimental models to CKD patients. *Nephrol Dial Transplant*
1735 2014; 29: 263-273.
- 1736 12. Hung S, Tarng D. Bone –marrow iron in CKD: correlation with functional iron
1737 deficiency. *Am J Kidney Dis* 2010; 55(4): 617-621.
- 1738 13. Coyne DW, Kapoian T, Suki W, et al. Ferric gluconate is highly efficacious in anemic
1739 hemodialysis patients with high serum ferritin and low transferrin saturation: results of
1740 the dialysis patients' response to IV iron with elevated ferritin (DRIVE) study. *J Am
1741 Soc Nephrol* 2007; 18: 975-984.
- 1742 14. Thomas DW, Hinchliffe RF, Briggs C, et al. Guideline for the laboratory diagnosis of
1743 functional iron deficiency. *British Journal of Haematology* 2013; 161: 639-648.
- 1744 15. KDOQI clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for anemia
1745 in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2006; 47(suppl3): s11-s145.

- 1746 16. Reddy GC, Devaki R, Rao P. Iron índices in patients with functional anemia in chronic
1747 kidney disease. *JIFCC* 24: 3-4.
- 1748 17. Thomas C, Thomas L. Biochemical markers and hematologic índices in the diagnosis
1749 of functional iron deficiency. *Clin Chemistry* 2002; 48: 1066-1076.
- 1750 18. Kaysen GA. The microinflammatory state in uremia: causes and potencial
1751 consequences. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1549-1557.
- 1752 19. Kulaksiz H, Theilig F, Gehrke SG, et al. The iron regulatory peptide hormone
1753 hepcidin: expression. And cellular localization in the mammalian kidney. *Journal of*
1754 *Endocrinology* 2005; 184: 361-370.
- 1755 20. Wish JB. Assessing iron status: beyond sérum ferritin and transferrin saturation. *Clin*
1756 *J Am Soc Nephrol* 2006; 1: S4-S8.
- 1757 21. Van der Weerd NC, Grooteman MPC, Ter Wee PM, et al. Hepcidin in chronic kidney
1758 disease: not an anaemia management tool, but promising as a cardiovascular
1759 biomarker. *The Netherlands Journal of Medicine* 2015; 73(3): 108-118.
- 1760 22. Locatelli F, Bárány P, Covic A, et al. Kidney Disease : Improving Global Outcomes
1761 guidelines on anaemia management in chronic kidney disease: a European Renal
1762 Best Practice position statement. *Nephrol Dial Transpl* 2013; 28(6): 1346-1359.
- 1763 23. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Anemia Work Group KDIGO
1764 Clinical Practice Guideline for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int* 2012; 2:
1765 279-335.
- 1766 24. Dummer CD, Thomé FS, Veronese FV. Doença renal crônica, inflamação e
1767 aterosclerose. Novos conceitos de um velho problema. *Rev Assoc Med Bras* 2007;
1768 53(5): 446-450.
- 1769 25. Sies H. Oxidantes and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82: 291-295.
- 1770 26. Handelman GJ. Evaluation of oxidant stress in dialysis patients. *Blood Purif* 2000; 18:
1771 343-349.
- 1772 27. Latscha BD, Drueke T, Witko-Sarsat V. Dialysis induced oxidative stress: biological
1773 aspects, clinical consequences and therapy. *Semin Dial* 2001; 14: 193-199.
- 1774 28. Del Vecchio L, Locatelli F, Carini M. What we know about oxidative stress in patients
1775 with chronic kidney disease on dialysis-clinical effects. Potential treatment, and
1776 prevention. *Semin Dial*; 2011; 24(1): 56-64.
- 1777 29. Locatelli F, Canaud B, Eckardt K, et al. Oxidative stress in end stage renal disease:
1778 an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 18: 1272-1280.
- 1779 30. Himmelfarb J, Mcmonagle E. Manifestations of oxidant stress in uremia. *Blood Purif*
1780 2001; 19(2): 200-205.

- 1781 31. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt JP, et al. Oxidative stress and haemodialysis
1782 role of inflammation and duration of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2001;
1783 16: 335-340.
- 1784 32. Lim PS, Wei YH, Yu YL, et al. Enhanced oxidative stress in haemodialysis patients
1785 receiving intravenous iron therapy. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 2680-2687.
- 1786 33. Gonçalves MS, Fabris BA, Brinholi FF, et al. Increased oxidative stress in foam cells
1787 obtained from hemodialysis patients. *Hemodial Int* 2013; 17(2): 266-274.
- 1788 34. Pecoits-Filho R, Lindholm B, Stenvinkel P. The malnutrition, inflammation and
1789 atherosclerosis (MIA) syndrome – the heart of the matter. *Nephrol Dial Transplant*
1790 2002; 17(suppl11): 28-31.
- 1791 35. Kaysen GA, Dublin JÁ, Muller HG, et al. Relationships among inflammation, nutrition
1792 and physiologic mechanisms establishing albumin levels in hemodialysis patients.
1793 *Kidney Int* 2002; 61: 2240-2249.
- 1794 36. Maruyama Y, Nordfors L, Stenvinkel P, et al. Interleukin-1 gene cluster
1795 polymorphisms are associated with nutritional status and inflammation in patients with
1796 end-stage renal disease. *Blood Purification* 2005; 23: 384-393.
- 1797 37. Bárány P, Divini-Filho J, Bergstrom J. High C-reactive protein is a strong predictor of
1798 resistance to erythropoietin in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1997; 29: 565-
1799 568.
- 1800 38. Rattanasompattikul M, Molnar M, Zaritsky J, et al. Association of malnutrition-
1801 inflammation complex and responsiveness to erythropoiesis-stimulating agentes in
1802 long-term hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 141-149.
- 1803 39. Oliveira CMC, Kubrusly M, Mota RS, et al. Desnutrição na insuficiência renal crônica:
1804 qual o melhor método diagnóstico na prática clínica? *J Bras Nefrol* 2010; 32(1):57-70.
- 1805 40. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, et al. Are there two types of malnutrition in
1806 chronic renal failure? Evidence for relationship between malnutrition, inflammation
1807 and atherosclerosis (MIA syndrome). *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 953-960.
- 1808 41. Bergstrom J, Lindholm B. Malnutrition, cardiac disease, and mortality: na integrated
1809 point of view. *Am J Kidney Dis* 1998; 32(5): 834-841.
- 1810 42. Kalantar-Zadeh K, Ikizler T-Alp, Block G, et al. Malnutrition-inflammation complex
1811 syndrome in dialysis patients: causes and consequences. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:
1812 864-881.
- 1813 43. Santos NSJ, Draibe AS, Kamimura MA, et al. Albumina sérica como marcador
1814 nutricional de pacientes em hemodiálise. *Rev Nutr Campinas* 2004; 17(3): 339-349.
- 1815 44. Gama-Axelsson T, Heimbürger O, Stenvinkel P, et al. Serum albumin as predictor of
1816 nutritional status in patients with ESRD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7(9): 1446-
1817 1453.

- 1818 45. Ikizler T-Alp, Hakim RM. Nutrition in end-stage renal disease. *Kidney Int* 1996; 50:
1819 343-357.
- 1820 46. Zyga S, Christopoulou G, Malliarou M. Malnutrition-inflammation atherosclerosis
1821 syndrome in patients with end-stage renal disease. *J Renal Care* 2011; 37: 12-15.
- 1822 47. Moshage JH, Janssen JAM, Franssen JH, et al. Study of the molecular mechanism
1823 decreased liver synthesis of albumin in inflammation. *J Clin Investigation* 1987; 79(6):
1824 1635-1641.
- 1825 48. Stenvinkel P, Bárány P. Anaemia, rHuEPO resistance, and cardiovascular disease in
1826 end stage renal failure; links to inflammation and oxidative stress. *Nephrol Dial*
1827 *Transplant* 2002; 17(suppl5): 32-37.
- 1828 49. Navarro-González JA, García-benayas C, Arenas J. Semiautomated measurement
1829 of nitrate in biological fluids. *Clin Chem* 1998; 44(3):679-681.
- 1830 50. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, et
1831 al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in
1832 uremia. *Kidney Int* 1996; 49(5): 1304-13.
- 1833 51. Richter RJ, Jarvik GP, Furlong CE. Determination of paraoxonase 1 status without
1834 the use of use of toxic organophosphate substrates. *Circ Cardiovasc Genet* 2008;
1835 1(2): 147-52.
- 1836 52. Hu ML. Measurement of protein thiol group and glutathione in plasma. *Methods in*
1837 *Enzymology* 1988; 233: 380-385.
- 1838 53. Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of
1839 total and oxidized glutathione: application to mammalian blood and other tissues.
1840 *Anal Biochem* 1969; 27 (3): 502-522.
- 1841 54. Anderson ME. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological
1842 samples. *Methods Enzimol* 1985; 113: 548-555.
- 1843 55. Kalantar-Zadeh K, Kleiner M, Dunne E, et al. Total iron-binding capacity-estimated
1844 transferrin correlates with the nutritional subjective global assessment in hemodialysis
1845 patients. *Am J Kidney Dis* 1998; 31 (2): 263-272.
- 1846 56. Kruh J, Borsook H. Haemoglobin synthesis in rabbit reticulocytes in vitro. *J Biol Chem*
1847 2006; 905-915.
- 1848 57. Coyne DW. The KDOQI US Commentary on KDIGO. Anemia guideline and quality of
1849 life. *Am J Kidney Dis* 2014; 63 (3): 540.
- 1850 58. Abensur H, Castro MCM. Reposição de ferro no tratamento da anemia. *J Bras Nefrol*
1851 2014; 36 (1 Supl.1): 9-12.
- 1852

1853 59. Vianna ACA, Mocelin AJ, Matsuo T et al. Uremic Hyperhomocysteinemia: A
1854 randomized trial of folate treatment for the prevention of cardiovascular events.
1855 *Hemodial Int* 2007; 11: 210-216.

1856

1857

1858

1859

1860

1861

1862

1863

1864

1865

1866

1867

1868

1869

1870

1871

1872

1873

1874

1875

1876

1877

1878

1879

1880

1881

1882

1883

1884

1885

1886

1887

1888

1889

1890
1891
1892
1893
1894
1895
1896
1897
1898
1899
1900
1901
1902
1903
1904
1905
1906
1907
1908
1909
1910
1911
1912
1913
1914
1915
1916
1917
1918
1919
1920
1921
1922
1923
1924
1925

ARTIGO

1926 **ARTIGO**

1927

1928

1929 **DEFICIÊNCIA FUNCIONAL DE FERRO EM PACIENTES EM HEMODIÁLISE:**
1930 **PREVALÊNCIA, AVALIAÇÃO NUTRICIONAL E DE BIOMARCADORES DE ESTRESSE**
1931 **OXIDATIVO E DE INFLAMAÇÃO.**

1932

1933

1934 **Autores:** Juliana Carvalho Romagnolli Plastina¹; Vitor Y. Obara², Décio Sabbatini Barbosa³,
1935 Helena Kaminami Morimoto³, Edna Maria Vissoci Reiche³, Andrea Graciano⁴, Vinicius Daher
1936 Alvares Delfino⁵.

1937 1. Médica, com especialização em Clínica Médica e Nefrologia

1938 2. Farmacêutico e bioquímico, mestrando do programa de pós-graduação em ciências
1939 da saúde, Universidade Estadual de Londrina, UEL

1940 3. Professor Doutor, Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas,
1941 Universidade Estadual de Londrina, UEL

1942 4. Acadêmica do quarto ano de Medicina, UEL

1943 5. Professor Doutor, Departamento de Clínica Médica, Disciplina de Nefrologia, UEL

1944

1945

1946 **Locais de desenvolvimento do projeto:**

1947 Unidades de hemodiálise em Londrina (Instituto do Rim e Histocom Atividades Médicas),
1948 Laboratório de Pesquisa e Pós-Graduação e setor de Bioquímica Clínica do Laboratório de
1949 Análises Clínicas do Hospital Universitário de Londrina.

1950 **Palavras-chave:** doença renal crônica, anemia funcional, estresse oxidativo, inflamação,
1951 desnutrição.

1952

1953

1954

1955

1956

1957

1958

1959

1960

1961

1962

RESUMO

1963
1964
1965
1966
1967
1968
1969
1970
1971
1972
1973
1974
1975
1976
1977
1978
1979
1980
1981
1982
1983
1984
1985
1986
1987
1988
1989
1990
1991
1992
1993
1994
1995
1996
1997
1998
1999
2000
2001
2002
2003
2004
2005
2006
2007
2008
2009
2010
2011
2012
2013
2014
2015
2016
2017

Introdução: a anemia é uma das principais comorbidades presentes em pacientes renais crônicos e está associada à maior mortalidade cardiovascular vista nesta população. A anemia observada em indivíduos com doença renal crônica pode ser dividida em anemia sem deficiência funcional de ferro e com deficiência funcional de ferro (ADFF), esta última caracterizada por baixa saturação de transferrina frente a níveis elevados de ferritina. Particularmente no tratamento da ADFF dos pacientes renais crônicos, existe risco de sobrecarga corporal ferro em decorrência ferroterapia parenteral utilizada. Diante do aumento dos casos de hemossiderose descritos em pacientes em hemodiálise, atribuídos à reposição excessiva de ferro endovenoso, maiores conhecimentos sobre os fatores envolvidos na gênese da ADFF nesta população são importantes.

Objetivos: documentar a prevalência de ADFF em pacientes renais crônicos em hemodiálise (HD). Caracterizar clínica e laboratorialmente os portadores de ADFF em HD e avaliar o estado nutricional, estresse oxidativo e inflamação nestes pacientes.

Pacientes e Métodos: Estudo transversal com amostra de conveniência envolvendo 183 renais crônicos em hemodiálise em duas unidades de Londrina, PR. Foram excluídos os pacientes menores de 18 anos, em uso de catéteres temporários, com história de internação nos últimos 3 meses, portadores de hepatite B, C e HIV. Os pacientes foram separados em dois grupos, portadores de anemia com e sem deficiência funcional de ferro. A ADFF foi caracterizada por ferritina > 200 mg/dL e % saturação de transferrina < 20%. Todos os participantes foram submetidos a questionário sócio-epidemiológico, análise antropométrica com medidas de altura, peso, circunferência abdominal e média do braço, análise laboratorial sérica de hemoglobina, hematócrito, albumina, paratormônio, creatinina, cálcio, fósforo, ferro, ferritina, proteína C-reativa, interleucina-6, produtos de oxidação proteica avançada (AOPP), grupamento sulfidril, paraoxonase, metabólitos do óxido nítrico (NOx), glutatona total, reduzida e oxidada.

Análise Estatística: realizada através do programa GraphPad InStat versão 3.1. Teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para verificar a normalidade dos dados. As variáveis foram expressas como médias \pm desvio padrão ou medianas e intervalos interquartílicos, como ditado pela normalidade dos dados. Foram utilizados os testes qui-quadrado, t de Student e Mann-Whitney. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

Resultados: não houve diferenças significativas nos marcadores de inflamação utilizados entre os dois grupos estudados. Entretanto, houve diferenças significativas nos níveis séricos de hemoglobina, ferro e albumina, transferrina calculada, capacidade total de ligação do ferro (CTLF), percentagem de saturação de transferrina, índice de massa corporal (IMC), e circunferências abdominal e média do braço entre os grupos, sendo estes significativamente menores nos pacientes com ADFF. Pacientes do grupo ADFF receberam doses mais elevadas de ferro parenteral ($p < 0,05$).

Discussão: ADFF esteve associada a menores valores de marcadores nutricionais, como evidenciado pela presença de concentrações séricas menores de albumina, de transferrina calculada, de menores índices de massa corporal, menores valores de circunferência abdominal e de circunferência média do braço, mas não esteve associada à marcadores inflamatórios ou de estresse oxidativo aumentados. Nossos resultados divergem da visão corrente na literatura, que associa a presença de ADFF em pacientes renais crônicos a aumento do estado inflamatório. Os dados sugerem que, nos pacientes estudados, a ADFF esteve associada a menores valores de marcadores nutricionais.

Palavras-chave: Doença renal crônica. Anemia funcional. Estresse oxidativo. Inflamação. Nutrição.

ABSTRACT

2018
2019
2020
2021
2022
2023
2024
2025
2026
2027
2028
2029
2030
2031
2032
2033
2034
2035
2036
2037
2038
2039
2040
2041
2042
2043
2044
2045
2046
2047
2048
2049
2050
2051
2052
2053
2054
2055
2056
2057
2058
2059
2060
2061
2062
2063
2064
2065
2066
2067
2068
2069
2070
2071
2072

Introduction: anemia is a major comorbidity in chronic renal patients and it is associated with the increased cardiovascular mortality seen in this population. The anemia observed in individuals with chronic kidney disease can be divided into anemia with no functional deficiency of iron and with functional deficiency of iron (AWFID), the latter characterized by low transferrin saturation front to high levels of ferritin. Particularly in the treatment of AWFID of chronic renal patients, there is a risk of iron body overload due to the parenteral iron therapy that is used to try to elevate the saturation of transferrin. By reason of the increase in cases of hemosiderosis on hemodialysis patients, attributed to excessive replacement of intravenous iron, greater knowledge about the factors involved in the genesis of AWFID in this population is important .

Purpose: to document the prevalence of AWFID in chronic renal patients on hemodialysis (HD). To characterize clinical and laboratory parameters in HD patients with AWFID as well as to assess their nutritional, oxidative stress, and inflammation status

Methods: cross-sectional study with a convenience sample involving 183 HD patients of two hemodialysis units of Londrina, PR. Patients were excluded if younger than 18 years, in use of temporary catheters, had hospital admissions in the last three months, were carriers of hepatitis B, C or HIV virus. Patients were divided into two groups: patients with anemia without functional iron deficiency and AWFID patients. Functional iron deficiency anemia were characterized by ferritin > 200 mg/dL and % transferrin saturation < 20%. All participants underwent socio-epidemiological questionnaire, anthropometric analysis with measurements of height, weight, waist and arm circumference, laboratory analyses of serum hemoglobin, hematocrit, albumin, parathyroid hormone, creatinine, calcium, phosphorus, iron, ferritin, C-reactive protein, interleukin-6, advanced oxidation protein products (AOPP), sulfhydryl group, paraoxonase, nitric oxide metabolites (Nox), and total, reduced and oxidized glutathione.

Statistical Analysis: held by GraphPad INSTAT version 3.1 program. Kolmogorov-Smirnov test was used to verify the normality of the data. The variables were expressed as means \pm standard deviation or median and interquartile ranges, as dictated by the data normality. The Chi-square test, Student's t and Mann-Whitney tests were used. The significance level was set at 5% ($p < 0.05$).

Results: there were no significant differences in the used oxidative stress and inflammation markers between the two studied groups. However, there were significant differences in hemoglobin, iron, and albumin serum levels, calculated transferrin, total iron binding capacity (TIBC), percentage of transferrin saturation, body mass index (BMI), and waist and arm circumferences between the groups, which are significantly lower AWFID patients. Patient DPPA group received higher doses of parenteral iron ($p < 0.05$).

Discussion: AWFID was associated with lower values of nutritional markers, as evidenced by the presence of lower serum albumin, calculated transferrin, smaller body mass indexes, lower values of waist and mid-arm circumference, but it was not associated with inflammatory markers or increased oxidative stress. Our results differ from the current view in the literature that associates the presence of AWFID in chronic renal patients with increased inflammatory state. The data suggest that, in the studied patients, AWFID was associated with lower values of nutritional markers.

Keywords: Chronic kidney disease. Functional anemia. Oxidative stress. Inflammation. Nutrition.

2073

2074 **INTRODUÇÃO**

2075

2076 A anemia surge precocemente no decorrer da doença renal crônica (DRC) e sua
2077 prevalência aumenta à medida que se acentua a redução da função renal. O manejo da
2078 anemia com agentes estimuladores de eritropoiese (ESA) constitui importante ferramenta no
2079 cuidado de pacientes renais crônicos, visto que a anemia é um dos principais fatores na
2080 etiologia da mortalidade cardiovascular nesses pacientes (1).

2081 A etiologia da anemia na DRC é multifatorial, e os principais fatores contributivos são
2082 deficiência absoluta ou funcional de ferro, deficiência relativa de eritropoetina, deficiência de
2083 micronutrientes como ácido fólico e vitaminas do complexo B, e estado inflamatório crônico
2084 (2). A inflamação crônica está associada à diminuição da sobrevida dos pacientes em
2085 estágio avançado. Cerca de 30-50% dos portadores de DRC apresentam níveis séricos
2086 elevados de proteína C reativa (PCR) e de citocinas pró-inflamatórias, dentre elas, o fator de
2087 necrose tumoral alfa, as interleucinas IL-1 e IL-6 (1,2,3). IL-6 promove aumento dos níveis
2088 séricos da hepcidina, um peptídeo hepático que inibe a absorção duodenal de ferro e a
2089 mobilização de ferro dos seus estoques (células do sistema reticuloendotelial) (2). Níveis
2090 elevados de hepcidina resultam em sequestro de ferro e hipoferremia. A inflamação também
2091 tem sido implicada na redução da biodisponibilidade de ferro para eritropoiese assim como
2092 na redução dos níveis de albumina, um marcador sensível de desnutrição (3,4).

2093 O uso liberal de ferro endovenoso, recomendado em diretrizes para o tratamento da
2094 anemia do paciente renal crônico, visa favorecer a ação da eritropoetina (EPO), mas
2095 negligencia a possibilidade de altos níveis de ferritina acarretarem hemossiderose. Admite-
2096 se o uso de ferro endovenoso em pacientes com níveis de ferritina entre 500 ng/dl e 1200
2097 ng/dl. Para indivíduos saudáveis, tais níveis já poderiam apontar para o diagnóstico de
2098 hemossiderose (5).

2099 Diante destas evidências, a relação entre a presença de anemia com deficiência
2100 funcional de ferro e sua associação com o aumento dos marcadores inflamatórios, de
2101 estresse oxidativo e de desnutrição amplia as possibilidades de intervenção clínica e
2102 terapêutica no manejo desta afecção.

2103

2104 **MATERIAIS E MÉTODOS**

2105

2106 **Delineamento e População**

2107

2108 Foi realizado um estudo transversal em duas unidades de hemodiálise na cidade de
2109 Londrina, PR, Brasil. Os pacientes convidados a participar do estudo, com idade maior que

2110 18 anos, em hemodiálise por fístula arteriovenosa (nativa ou prótese) há pelo menos três
2111 meses, foram recrutados em junho de 2014. Foram excluídos pacientes em hemodiálise com
2112 cateter venoso temporário, portadores de neoplasias, infecção ativa ou que tenha motivado
2113 internação nos últimos quinze dias prévios à coleta de sangue, além de portadores de
2114 hepatite B e C e vírus da imunodeficiência humana. No início do estudo, foram selecionados
2115 200 pacientes que atendiam aos critérios de inclusão. Deste total, foram excluídos para as
2116 análises 17 pacientes, sendo seis por motivo de óbito, quatro por infecção ativa, cinco por
2117 coleta inadequada, dois por uso de introdução de cateter venoso para hemodiálise.

2118 As diálises foram realizadas em sessões de 210 a 240 minutos, com fluxo de sangue
2119 de 300 a 450 mL/min e dialisato a 500 mL/min, três vezes por semana. Os filtros de
2120 hemodiálise utilizados foram de triacetato de celulose com área de superfície de acordo com
2121 a superfície corpórea do paciente. A água utilizada nas sessões de hemodiálise preenchia
2122 os requisitos nacionais de qualidade de água adequada. A diálise tinha como alvo de Kt/V
2123 não equilibrado de 1,2. Os participantes foram orientados sobre o estudo e todos que
2124 concordaram em participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O
2125 estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de
2126 Londrina.

2127

2128 **Coleta de dados**

2129

2130 Através de revisão de prontuários e entrevistas, foram coletados dados
2131 demográficos, antropométricos, tempo em diálise, comorbidades e medicações em uso. As
2132 doses médias de eritropoetina e ferro foram baseadas nos últimos 30 dias antes da coleta
2133 das amostras de sangue, em U/kg/mês e mg, respectivamente. Os pacientes foram ainda
2134 questionados sobre tabagismo e etilismo atual (sim ou não). Raça/cor foi utilizada seguindo
2135 autodefinição.

2136

2137 **Mensuração dos parâmetros antropométricos**

2138

2139 O peso foi medido com os pacientes com roupas leves em uma balança Filizzola,
2140 com precisão para 0,1 kg. Para o estudo foi registrado o peso seco atual do paciente (sendo
2141 o peso seco o peso com o qual o paciente sai, sentindo-se bem e sem edema, ao final das
2142 sessões de hemodiálise). A altura foi medida com uso de uma trena, utilizando-se
2143 aproximação para o centímetro mais próximo, com os pacientes em pé, encostados na
2144 parede, com os pés unidos. Quando este processo de medição não foi possível, a altura
2145 utilizada foi a referida pelo paciente ou familiares.

2146 A cintura abdominal foi medida com o paciente ereto, por meio de fita métrica
2147 plástica flexível, com intervalos de 1cm, e subdivisões, com aproximação para o centímetro
2148 mais próximo, no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca ântero-superior. A
2149 circunferência do braço dominante (exceto quando houvesse presença de fístula
2150 arteriovenosa neste segmento corporal, quando foi verificada no braço contralateral) foi
2151 medida com a mesma fita métrica, no ponto médio do braço, sem aproximações.

2152

2153 **Análises bioquímicas**

2154

2155 Para as análises bioquímicas, amostras de sangue dos pacientes (aproximadamente
2156 20 mL) foram obtidas no momento da punção para início da primeira sessão de hemodiálise
2157 da semana, em tubos com vácuo (Vacutainer®, Franklin Lakes, NJ, USA) sem
2158 anticoagulante, após orientação de 8 horas de jejum. O uso de ferro endovenoso foi
2159 suspenso sete dias antes da coleta das amostras. Todas as amostras foram centrifugadas
2160 a 3000 rpm durante 15 minutos. O soro obtido permaneceu armazenado a -70°C até a
2161 realização das análises. Níveis séricos de creatinina, ureia pré e pós-sessão (para cálculo
2162 da eficiência da diálise, ou Kt/V), ferro sérico, ferritina, saturação de transferrina,
2163 hematócrito, hemoglobina, PTH, cálcio, fósforo, fosfatase alcalina e albumina foram dosados
2164 segundo técnicas padrão no laboratório de rotina.

2165

2166 **Mensuração de parâmetros de inflamação**

2167

2168 A mensuração de parâmetros de inflamação foi feita através da dosagem de IL-6 e
2169 PCR, todos por ELISA.

2170

2171 **Mensuração do estresse oxidativo**

2172

2173 Para mensuração do estresse oxidativo, utilizamos o seguinte painel: dosagem de
2174 metabólitos do Óxido Nítrico – NOx; quantificação dos produtos de oxidação protéica
2175 avançada – AOPP; paraoxonase, grupamento sulfidríla, dosagem de glutathiona total,
2176 reduzida e oxidada.

2177 Os níveis de NO foram avaliados indiretamente por meio da determinação da
2178 concentração de nitritos plasmáticos, utilizando uma adaptação da técnica descrita por
2179 Navarro-Gonzalez et al. (6).

2180 Para a quantificação de AOPP no plasma foi utilizado o método descrito por Witko-
2181 Sarsat et al. (7). Esse teste foi utilizado para medir a oxidação protéica. A leitura da reação
2182 da AOPP foi feita em um espectrofotômetro, marca Thermo Spectronic®, modelo Helios- α

2183 (Waltham, MA, EUA) no comprimento de onda de 340 nm. A concentração de AOPP foi
2184 expressa em $\mu\text{mol/L}$ de equivalente de cloramina T.

2185 A atividade total da PON-1 foi determinada pela formação de hidrólise do fenil-
2186 acetato (fenol), baseado na metodologia descrita por Richter, Jarvink Furlong (8). A taxa de
2187 hidrólise de fenil-acetato, foi determinada em uma leitora de microplacas, marca Perkin
2188 Elmer®, modelo EnSpire (Waltham, MA, EUA) no comprimento de onda de 270 nm,
2189 medidos durante 4 minutos (16 leituras com intervalo de 15 segundos entre as leituras) com
2190 a temperatura mantida a 25°. A atividade foi expressa em U/mL com base no coeficiente de
2191 extinção molar do fenil-acetato que equivale a 1,31mMol/Lcm-1.

2192 O grupamento tiol de proteínas foi avaliado no plasma por espectrofotometria
2193 descrito previamente por Miao-Lin Hu (9). O método de análise é baseado na reação do
2194 ácido 5,5-ditiobis 2-nitrobenzóico (DTNB) com o grupo sulfidril de proteínas. A leitura da
2195 reação foi feita em um espectrofotômetro marca Thermo Spectronic®, modelo Helios- α
2196 (Waltham, MA, EUA) com o comprimento de onda de 412 nm. Os resultados foram
2197 expressos em $\mu\text{M/mg}$ de proteína.

2198 A glutathiona eritrocitária foi quantificada pela técnica descrita por Tietze et al., e modificada
2199 por Anderson (10, 11).

2200

2201 **Análise Estatística**

2202

2203 As variáveis quantitativas foram expressas como média \pm desvio padrão ou mediana
2204 e intervalo interquartil, de acordo com a normalidade ou não dos dados. Foi utilizado o
2205 teste Kolmogorov-Smirnov para verificar se as variáveis seguiam distribuição normal.

2206 Para comparar as proporções de: gênero dos pacientes, tabagistas, etilistas,
2207 hipertensos, diabéticos, paratireoidectomizados, usuários de inibidores da enzima de
2208 conversão da angiotensina, bloqueadores dos receptores de angiotensina, estatinas,
2209 cálcio, sevelamer, calcitriol e ferro endovenoso, foi aplicado o teste do qui-quadrado.

2210 As variáveis que seguiam distribuição normal como idade, grupamento sulfidril, hematócrito,
2211 hematócrito, hemoglobina e creatinina foram comparadas utilizando o teste t de student.

2212 As variáveis: tempo em hemodiálise, IMC, AOPP, NO, glutathiona total, reduzida e
2213 oxidada, Kt/V, PTH, ferro sérico, ferritina, transferrina, CTRF, % saturação de transferrina,
2214 cálcio sérico, fósforo sérico, fosfatase alcalina, albumina, IL-6, CA, circunferência do braço,
2215 dose de EPO e de ferro parenteral e PCR foram comparadas pelo teste de Mann Whitney.

2216 O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

2217 Para as análises estatísticas foi utilizado o software GraphPad InStat version 3.10 for
2218 Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com.

2219

2220

2221

2222 RESULTADOS

2223

2224 Os 183 pacientes que iniciaram o projeto tinham a média de idade de 54.8 anos.
2225 Foram excluídos da análise estatística sete pacientes portadores de deficiência absoluta de
2226 ferro. A maior parte da amostra era composta por homens 125 (71%). A mediana do tempo
2227 em hemodiálise foi de 48 meses. A prevalência de diabetes mellitus foi de 30,1% e de
2228 hipertensão 88%.

2229 A prevalência de anemia com deficiência funcional de ferro neste estudo foi de
2230 36,9%. Os pacientes foram separados em dois grupos após análise dos resultados. Foram
2231 alocados 65 pacientes no grupo dos portadores de anemia com deficiência funcional de
2232 ferro, caracterizada por ferritina > 200 ng/dl e % de saturação de transferrina < 20%, e 111
2233 pacientes no grupo com anemia sem deficiência funcional de ferro.

2234 A tabela 1 mostra os dados demográficos, epidemiológicos e clínicos dos pacientes,
2235 divididos em portadores de ADFE e portadores de anemia sem deficiência funcional de ferro.

2236 Não houve diferenças estatisticamente significativas quanto à idade, sexo, tempo em
2237 hemodiálise e Kt/V entre os grupos estudados. Também não houve diferenças no uso de
2238 estatinas, IECA/BRA, eritropoetina, cálcio, calcitriol, sevelamer e ferro endovenoso entre os
2239 grupos, assim como não houve diferenças quanto ao tabagismo e etilismo atual e a
2240 presença de hipertensão, diabetes e realização de paratireoidectomia.

2241 Em relação aos exames séricos laboratoriais de rotina como cálcio, fósforo, fosfatase
2242 alcalina, PTH, ferritina, e creatinina, não houve diferenças estatisticamente significativas
2243 entre os grupos. Os níveis de hemoglobina e hematócrito foram significativamente menores
2244 nos pacientes portadores de ADFE.

2245 A tabela 2 mostra que em relação aos parâmetros de inflamação e estresse oxidativo
2246 avaliados, não houve diferenças estatísticas entre os portadores de anemia com e sem
2247 deficiência funcional de ferro.

2248 Os parâmetros de ferro sérico, transferrina, CTLF, % de saturação de transferrina,
2249 IMC e albumina sérica, demonstraram diferenças estatísticas significativas.

2250

2251 DISCUSSÃO

2252

2253 O presente estudo visou correlacionar a presença de maior estresse oxidativo e
2254 inflamação no grupo de pacientes renais crônicos portadores de ADFE, levando-se em
2255 consideração que a literatura mostra que a ADFE está associada a maior grau de
2256 inflamação.

2257 A análise dos dados mostrou que os níveis de inflamação e os parâmetros de
2258 estresse oxidativo foram semelhantes entre os dois grupos (com e sem ADFE) estudados.

2259 Entretanto dentre os dois grupos estudados, a dose mensal de ferro parenteral, foi
2260 significativamente maior, enquanto % de saturação de transferrina, albumina sérica,
2261 hemoglobina, hematócrito, IMC, circunferência da cintura e circunferência do braço,
2262 significativamente menores no grupo com ADFE. Embora de interpretação difícil em
2263 pacientes com anemia, especialmente na anemia do paciente renal crônico, os menores
2264 valores de transferrina sérica observados neste estudo podem indicar redução de síntese
2265 desta proteína, uma vez que a mesma é considerada um marcador nutricional em outras
2266 populações, crianças, pacientes cirúrgicos e pacientes em nutrição parenteral e renais
2267 crônicos, por exemplo (12,13).

2268 Os dados de menor concentração sérica de albumina no grupo dos portadores de
2269 ADFE assim como menores índices de hemoglobina, hematócrito, IMCs, CA e circunferência
2270 do braço, na ausência de diferença entre parâmetros inflamatórios e de estresse oxidativo
2271 entre os dois grupos de estudo parecem indicar que com a definição de ADFE utilizada, na
2272 amostra de pacientes estudada, houve associação entre ADFE e desnutrição tipo 1. Estudos
2273 clássicos sobre a síntese de hemoglobina, heme proteína, cuja principal função é o
2274 transporte de oxigênio dos pulmões para o tecido, mostram a importância de nível sérico
2275 adequado de aminoácidos para a síntese das cadeias polipeptídicas das cadeias globina
2276 desta proteína (14).

2277 Preocupa o fato de os pacientes do grupo portador de ADFE terem recebido maior
2278 dose mensal de ferro que os do grupo sem ADFE, pois parece indicar que um equívoco na
2279 ferroterapia pode estar ocorrendo, já que os pacientes deste grupo por apresentarem altos
2280 níveis de ferritina sérica não deveriam ter recebido maiores doses de ferro parenteral
2281 quando comparados aos pacientes com anemia com algum grau de deficiência absoluta de
2282 ferro, pelo risco de hemossiderose. Ressalta-se que a conduta terapêutica destes pacientes
2283 é pautada nas diretrizes nacionais do Ministério da Saúde, portaria nº 226 de 10 de maio de
2284 2010, para tratamento de anemia em renais crônicos.

2285 Embora vários trabalhos tenham demonstrado que a ADFE está ligada ao complexo
2286 desnutrição-inflamação (16), os resultados verificados no presente estudo não apontaram
2287 para esta associação. Tendo sido utilizados, um amplo painel de biomarcadores de estresse
2288 oxidativo e de inflamação, bem como vários parâmetros nutricionais e com a definição da
2289 ADFE utilizada (17), sua presença esteve associada a marcadores de desnutrição, mas não
2290 de inflamação ou de estresse oxidativo aumentados. Diferenças nas populações (por
2291 exemplo, etnia, mutações e polimorfismos em proteínas envolvidas no metabolismo do ferro,
2292 renda, nível sócio-econômico, padrão alimentar, uso de suplementação vitamínica,

2293 prevalência de anorexia e de depressão, nos serviços de hemodiálise, nas diretrizes de
2294 manejo da anemia e na definição de ADFP podem ter contribuído para estes resultados.

2295 O presente estudo tem limitações como, por exemplo, ser um estudo transversal,
2296 com um número relativamente pequeno de pacientes, e não ter feito mensuração de
2297 cofatores para a síntese de hemoglobina como vitamina B12 e ácido fólico. Como parâmetro
2298 balizador, estudo feito previamente em pacientes destes mesmos 2 centros de hemodiálise
2299 do presente trabalho, mostrou que sob a suplementação de vitaminas rotineiramente
2300 recomendadas, os valores médios de ácido fólico e medianos de vitamina B12 encontravam-
2301 se dentro das faixas de referência em 186 pacientes tratados por hemodiálise (15).

2302 Estudos maiores, com mais marcadores de estresse oxidativo, de inflamação e de
2303 desnutrição tornam-se necessários.

2304

2305

2306

2307

2308

2309

2310

2311

2312

2313

2314

2315

2316

2317

2318

2319

2320

2321

2322

2323

2324

2325

2326

2327

2328

2329

2330 **REFERÊNCIAS DO ARTIGO**

2331

- 2332 1. Francisco ALM, Stenvinkel P, Vaulont S. Inflammation and its impact on anaemia in
2333 chronic kidney disease: from haemoglobin variability to hyporesponsiveness. *Nephrol*
2334 *Dial Transplant* 2009; 2(suppl1): i18-126.
- 2335 2. Chawla LS, Krishnan M. Causes and consequences of inflammation on anemia
2336 management in hemodialysis patients. *Hemodial Int* 2009; 13: 222-234.
- 2337 3. Porto G, Oliveira S, Pinto JP. Hepcidina: a molécula-chave na regulação do
2338 metabolismo do ferro. *GE-J Port-Gastroenterol* 2012; 19: 26-32.
- 2339 4. Kaysen GA, Dublin JÁ, Muller HG, et al. Relationships among inflammation, nutrition
2340 and physiologic mechanisms establishing albumin levels in hemodialysis patients.
2341 *Kidney Int* 2002; 61: 2240-2249.
- 2342 5. KDOQI clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for anemia
2343 in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2006; 47(suppl3): s11-s145.
- 2344 6. Navarro-González JA, García-benayas C, Arenas J. Semiautomated measurement
2345 of nitrate in biological fluids. *Clin Chem* 1998; 44(3):679-681.
- 2346 7. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, et
2347 al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in
2348 uremia, *Kidney Int* 1996; 49(5): 1304-13.
- 2349 8. Richter RJ, Jarvik GP, Furlong CE. Determination of paraoxonase 1 status without
2350 the use of use of toxic organophosphate substrates. *Circ Cardiovasc Genet* 2008;
2351 1(2): 147-52.
- 2352 9. Hu ML. Measurement of protein thiol group and glutathione in plasma. *Methods*
2353 *Enzymol* 1994; 233: 380-385.
- 2354 10. Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of
2355 total and oxidized glutathione: application to mammalian blood and other tissues.
2356 *Anal Biochem* 1969; 27 (3): 502-522.
- 2357 11 Anderson ME. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological
2358 samples. *Methods Enzimol* 1985; 113: 548-555.
- 2359 12 Santos NSJ, Draibe AS, Kamimura MA, et al. Albumina sérica como marcador
2360 nutricional de pacientes em hemodiálise. *Ver Nutr Campinas* 2004; 17(3): 339-349.
- 2361 13 Kalanat-Zadeh K, Kleiner M, Dunne E, et al. Total iron-binding capacity-estimated
2362 transferrin correlates with the nutritional subjective global assessment in hemodialysis
2363 patients. *Am J Kidney Dis* 1998; 31 (2): 263-272.
- 2364 14 Kruh J, Borsook H. Haemoglobin synthesis in rabbit reticulocytes in vitro. *J Biol Chem*
2365 2006; 905-915.

- 2366 15 Vianna ACA, Mocelin AJ, Matsuo T et al. Uremic Hyperhomocysteinemia: A
2367 randomized trial of folate treatment for the prevention of cardiovascular events.
2368 *Hemodial Int* 2007; 11: 210-216.
- 2369 16 Pecoits-Filho R, Lindholm B, Stenvinkel P. The malnutrition, inflammation and
2370 atherosclerosis (MIA) syndrome – the heart of the matter. *Nephrol Dial Transplant*
2371 2002; 17(suppl11): 28-31.
- 2372 17 Thomas C, Thomas L. Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis
2373 of functional iron deficiency. *Clin Chemistry* 2002; 48: 1066-1076.

2374

2375

2376

2377

2378

2379

2380

2381

2382

2383

2384

2385

2386

2387

2388

2389

2390

2391

2392

2393

2394

2395

2396

2397

2398

2399

2400

2401

2402 **TABELAS DO ARTIGO**

2403

2404 **Tabela 1. Características demográficas, epidemiológicas e clínicas dos pacientes**
2405 **portadores de DRC com e sem ADFP**

2406

Variável	Com ADFP (n= 73)	Sem ADFP (n= 110)	p
Sexo Feminino	19 (29,3%)	32 (28,8%)	0,9548
Sexo Masculino	46 (70,7%)	79 (71,2%)	0,9548
Cor/raça			0,3253
Branca	46 (63,0%)	70 (63,6%)	
Preta	10 (13,6%)	30 (27,2%)	
Parda	6 (8,2%)	8 (7,2%)	
Amarela	3 (4,1%)	3 (2,7%)	
Idade (anos) (média) (IC 95%)	55,0 (51,0 - 59,1)	54,5 (51,6 - 57,4)	0,8230
Tempo de HD (meses) (mediana) (IIQ)	48,0 (12,0 - 75,0)	48,0 (24,0 - 81,0)	0,3992
KtV (mediana) (IIQ)	1,370 (1,210- 1,480)	1,390 (1,260-1,530)	0,4788
Creatinina (média) (mg/dL) (IC95%)	8,83 (8,04-9,62)	9,30 (8,71-9,90)	0,3404
Albumina (mediana) (g/dL)(IIQ)	4,05 (3,80-4,30)	4,20 (4,10-4,50)	0,0020§
IMC (mediana) (IIQ)	23,1 (21,0 – 26,1)	25,1 (22,0 – 29,2)	0,0075§
Cintura abdominal (mediana) (cm) (IIQ)	89,25 (82,00- 99,75)	99,00 (87,25- 108,00)	0,0036§
Circunferência do braço (mediana) (cm) (IIQ)	26,00 (24,00- 29,00)	28,00 (26,00-30,50)	0,0076§
Diabéticos	65 (89,0%)	97 (88,2%)	0,8583
Hipertensos	58 (89,2%)	97 (87,4%)	0,9020
Tabagistas	8 (12,3%)	12 (10,8%)	0,9554
Etilistas	10 (9,2%)	18 (16,2%)	0,8843
PTX prévia	13 (20,0%)	15 (23,1%)	0,3565
Uso de carbonato ou acetato de cálcio	37 (56,9%)	69 (62,2%)	0,5990
Uso de sevelamer	27 (41,5%)	61 (55,0%)	0,1183

Uso de calcitriol	23 (35,4%)	38 (34,2%)	0,8770
Uso de IECA/BRA	38 (58,5%)	55 (49,5%)	0,3238
Uso de estatina	21 (32,3%)	25 (22,5%)	0,2120
Cálcio sérico (mg/dL) (mediana) (IQI)	8,12 (7,83-8,41)	8,42 (8,21-8,64)	0,0963§
Fósforo sérico (mediana) (mg/dL) (IIQ)	5,70 (4,30-6,60)	5,60 (4,70-7,20)	0,6097
Fosfatase alcalina (mediana) (U/L) (IIQ)	126,0 (85,0-208,0)	161,0 (101,0-215,5)	0,1604
PTH (mediana) (pg/mL) (IIQ)	326,8 (145,30-707,0)	462,7 (165,00-941,35)	0,2561

2407

2408 Valores em mediana (intervalos interquartis), §: teste de Mann-Whitney

2409 Abreviaturas: ADFE: Anemia com deficiência funcional de ferro, IIQ: Intervalo interquartilico,

2410 HD: Hemodiálise, Kt/V: coeficiente de adequação dialítica, IMC: Índice de massa corpórea,

2411 PTX: Paratireoidectomia, IECA: Inibidores da enzima de conversão da angiotensina, BRA:

2412 Bloqueadores dos receptores de angiotensina, PTH: Paratormônio.

2413

2414

2415

2416

2417

2418

2419

2420

2421

2422

2423

2424

2425

2426

2427

2428

2429

2430

2431

2432 **Tabela 2. Concentrações de hemoglobina, marcadores do metabolismo do ferro,**
 2433 **inflamatórios e de estresse oxidativo em pacientes em hemodiálise com e sem**
 2434 **deficiência funcional de ferro.**

2435

Variável	Com ADFE (n= 73)	Sem ADFE (n=110)	p
Hematócrito (%) (média) (IC 95%)	32,84 (31,47-34,22)	34,66 (33,70-35,62)	0,0288
Hemoglobina g/dL (média) (IC 95%)	11,09 (10,64-11,54)	11,83 (11,52-12,14)	0,0063
Ferro sérico (mediana) (μ g/dL) (IIQ)	47,40 (41,00-55,40)	90,70 (68,45-122,70)	<0,0001§
Ferritina (ng/mL) (mediana) (IIQ)	1010,0 (568,3-1360,0)	1030,0 (739,4-1455,0)	0,2295
% Sat. transferrina (mediana) (IIQ)	0,170 (0,150-0,185)	0,310 (0,240-0,481)	<0,0001§
Transferrina (mediana) (mg/dL) (IIQ)	208,0 (182,4-248,0)	233,3 (209,8-260,2)	0,0100§
CTLF (mg/dL) (mediana) (IIQ)	260,0 (228,0-310,0)	291,6 (262,2-325,2)	0,0100§
Uso de ferro parenteral	44 (67,7%)	70 (63,1%)	0,6477
Dose mensal de ferro parenteral (mg) (mediana) (IIQ)	400 (200,0-400,0)	200 (200,0-400,0)	0,0027
Dose mensal de Epo (UI)	32.000 (32.000-48.000)	32.000 (24.000-48.000)	0,7846
IL-6 (mediana) (pg/mL) (IIQ)	6,78 (4,54-11,81)	6,96 (3,53-12,02)	0,6270
Proteína C reativa (mediana) (mg/dL) (IIQ)	9,10 (3,40-16,10)	6,30 (3,05-12,60)	0,1169
AOPP (μ M de equivalente de cloramina T) (mediana) (IIQ)	175,28 (142,78-224,52)	187,70 (145,33-272,04)	0,2050
NOx (μ M) (mediana) (IIQ)	10,43 (8,36-15,16)	11,02 (8,08-15,91)	0,7256
Grupamento sulfidril (mM/mg)	265,39 (249,83-	272,93 (261,47-	0,4340

de proteína) (média) (IC 95%)	280,95)	284,39)	
Glutaciona total (mM/g de Hb)	7,12 (5,99-8,22)	6,98 (6,17-7,95)	0,5188
Glutaciona reduzida (mM/g de Hb)	5,07 (4,37-5,90)	4,96 (4,28-5,64)	0,2786
Glutaciona oxidada (mM/g de Hb) (mediana) (IIQ)	0,94 (0,67-1,22)	0,99 (0,83-1,23)	0,7360
Paraoxonase (U/mL) (mediana) (IIQ)	139,77 (105,48-164,76)	146,59 (124,25-175,49)	0,0919

2436

2437 Valores em mediana (intervalos interquartis), §: teste de Mann-Withney

2438 Abreviaturas: ADFE: Anemia com deficiência funcional de ferro, IC: Intervalo de confiança,

2439 IQI: Intervalo interquartilico, CTFE: Capacidade total de ligação de ferro, Epo: Eritropoetina,

2440 IL-6: Interleucina-6, AOPP: Produtos de oxidação protéica avançada, NOx: Metabólitos do

2441 óxido nítrico

2442

2443

2444

2445

2446

2447

2448

2449

2450

2451

2452

2453

2454

2455

2456

2457

2458

2459

2460

2461

2462

2463
2464
2465
2466
2467
2468
2469
2470
2471
2472
2473
2474
2475
2476
2477
2478
2479
2480
2481
2482
2483
2484
2485
2486
2487
2488
2489
2490
2491
2492
2493
2494
2495
2496
2497
2498
2499

APÊNDICE

2500 **APÊNDICE**

2501

2502

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

2503

Título da pesquisa:

2504

“Deficiência Funcional de Ferro em pacientes em Hemodiálise: Prevalência

2505

Caracterização, Prevalência e Efeito da Pentoxifilina.”

2506

2507 Prezado(a) Senhor(a):

2508

2509 Gostaríamos de convidá-lo (a) a participar da pesquisa **“Deficiência Funcional de**
2510 **Ferro em Pacientes em Hemodiálise: Caracterização, Prevalência e Efeito da**
2511 **Pentoxifilina.”**, realizada no **“Instituto do Rim de Londrina”**.

2512 A anemia está presente em mais de 50% dos pacientes portadores de Insuficiência
2513 Renal Crônica, é responsável pela diminuição da qualidade de vida, assim como aumenta
2514 os riscos de doenças cardiovasculares. Os renais crônicos são submetidos rotineiramente
2515 ao uso de Eritropoetina, um hormônio normalmente produzido pelos rins, para evitar o
2516 aparecimento de anemia e que está em falta nos pacientes com esta doença, além de
2517 suplementação de Ferro; estas são as medidas habituais para o tratamento da anemia dos
2518 pacientes em diálise.

2519 Esta pesquisa busca avaliar a utilidade de se incluir uma nova medicação para
2520 auxiliar no manejo da anemia dos pacientes renais crônicos, que é a Pentoxifilina. Este
2521 medicamento tem seu uso bem estabelecido, há mais de 30 anos, com segurança e
2522 eficácia. Ele tem sido utilizado no tratamento de problemas circulatórios, como a doença
2523 arterial periférica, inclusive em pacientes renais crônicos. O presente estudo tem como
2524 objetivo verificar se o uso da Pentoxifilina, por seu efeito anti-inflamatório, poderá auxiliar no
2525 controle do estado inflamatório exagerado de alguns pacientes renais crônicos e, com isso,
2526 melhorar o efeito da Eritropoetina, reduzindo o grau de anemia e a necessidade de
2527 reposição deste hormônio em altas doses. Este efeito poderá ser particularmente
2528 importante para alguns pacientes que, através dos exames de sangue, demonstram
2529 apresentar altos níveis de estoques de Ferro no organismo, mas na prática, o Ferro
2530 disponível para controlar a anemia se mostra insuficiente; esta situação é chamada de
2531 Deficiência Funcional de Ferro e parece ser devida ao alto grau de inflamação apresentado
2532 por estes pacientes; é nestes casos que a Pentoxifilina poderá se mostrar de grande
2533 utilidade para auxiliar no controle da anemia.

2534 A sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: responder a
2535 um questionário, durante a realização de uma das sessões de hemodiálise e usar

2536 diariamente, durante 90 (noventa) dias, 1 (um) comprimido de **Pentoxifilina** ou um 1 (um)
2537 comprimido chamado **Placebo**. No início da pesquisa e ao final da mesma, serão realizadas
2538 coletas de sangue para exames laboratoriais, aproveitando-se a coleta de sangue para os
2539 exames mensais de rotina dos pacientes em hemodiálise.

2540 Vale ressaltar que este comprimido chamado **Placebo**, terá o mesmo aspecto da
2541 Pentoxifilina, mas não contém nenhuma substância ativa e, portanto, não exercerá nenhum
2542 efeito farmacológico no seu organismo, não devendo desencadear efeitos colaterais
2543 significativos. O seu uso é importante apenas como controle do efeito real da medicação em
2544 teste, que é a **Pentoxifilina**. É importante frisar que em nenhum momento do estudo você
2545 ficará sem receber o tratamento padrão adequado para anemia, ou seja, serão mantidas as
2546 doses de Eritropoetina e de Ferro injetável que você estiver recebendo.

2547 Os principais efeitos adversos da Pentoxifilina são: náuseas, vômitos e epigastralgia,
2548 assim como o Placebo, por seu efeito psicológico também pode trazer alguns desconfortos
2549 como: epigastralgia, náuseas e cefaleia. No entanto, voltamos a ressaltar que a Pentoxifilina
2550 é um medicamento que está há muitos anos no mercado, considerado seguro, com baixa
2551 ocorrência de efeitos colaterais e, em geral, bem tolerado por quem o utiliza para problemas
2552 circulatórios.

2553 Para que o efeito do medicamento **Pentoxifilina** possa ser observado com rigor
2554 científico, você não poderá saber se está recebendo este medicamento ou o **Placebo**.
2555 Apenas o orientador da pesquisa, Doutor Vinicius Daher Alvares Delfino estará ciente.

2556 Após este período de 90 (noventa) dias, os grupos de pacientes serão invertidos, ou
2557 seja, quem estava recebendo a Pentoxifilina passará a receber o Placebo, e vice-versa,
2558 novamente, sob supervisão dos médicos responsáveis pela pesquisa, mas ainda sem que
2559 você saiba qual dos dois medicamentos está recebendo. Esta estratégia é importante para
2560 evitar que efeitos psicológicos possam interferir na análise dos dados sobre os efeitos da
2561 **Pentoxifilina**.

2562 Gostaríamos ainda de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária,
2563 podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto
2564 acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos também que as informações
2565 serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto
2566 sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

2567 Os benefícios esperados são: redução da dose usual de Eritropoetina e Hidróxido de
2568 Ferro, na expectativa de que a Pentoxifilina confirme seu efeito anti-inflamatório nos
2569 pacientes em diálise, contribuindo para redução da deficiência funcional de ferro e melhor
2570 controle da anemia, com consequente melhora da qualidade de vida destas pessoas.

2571 Informamos que o(a) senhor(a) não pagará nem será remunerado por sua
2572 participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa

2573 serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação na
2574 pesquisa e que a Pentoxifilina e o Placebo serão fornecidos gratuitamente.

2575 Caso você tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos pode nos
2576 contactar: Dra. Juliana Carvalho Romagnolli Plastina, Dr. Vinicius Daher Alvares Delfino.
2577 Endereço: Rua Omar Rupp número 100. Telefones para contato: 3376-9100 / 9995-8000. E-
2578 mail: jupiromagnolli@bol.com.br / vddelfino@sercomtel.com.br, ou procurar o Comitê de
2579 Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, na
2580 Avenida Robert Kock, nº 60, ou no telefone 33712490. Este termo deverá ser preenchido em
2581 duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a
2582 você.

2583

2584 Londrina, ___ de _____ de 2014.

2585 **Pesquisador Responsável**

2586 RG::_____

2587

2588

2589 _____ (nome por extenso do sujeito de
2590 **pesquisa**), tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa,
2591 concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

2592

2593 Assinatura (ou impressão dactiloscópica):_____

2594 Data:_____

2595

2596

2597

2598

2599

2600

2601

2602

2603
2604
2605
2606
2607
2608
2609
2610
2611
2612
2613
2614
2615
2616
2617
2618
2619
2620
2621
2622
2623
2624
2625
2626
2627
2628
2629
2630
2631
2632
2633
2634
2635
2636
2637
2638

ANEXOS

2639 ANEXO I. Parecer do comite de ética em pesquisa envolvendo seres humanos da UEL

2640



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS
Universidade Estadual de Londrina
Registro CONEP 5231

Parecer CEP/UEL:	158/2013
CAAE:	15842613.0.0000.5231
Data da Relatoria:	04/09/2013
Pesquisador(a):	Juliana Carvalho Romagnolli
Unidade/Órgão:	CCS - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Stricto sensu

Prezado(a) Senhor(a):

O "Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina" (Registro CONEP 5231) – de acordo com as orientações da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde/MS e Resoluções Complementares, avaliou o projeto:

"Deficiência Funcional de Ferro em Pacientes em Hemodiálise: Caracterização, Prevalência e Efeito da Pentoxifilina."

Situação do Projeto: **Aprovado**

Informamos que deverá ser comunicada, por escrito, qualquer modificação que ocorra no desenvolvimento da pesquisa, bem como deverá apresentar ao CEP/UEL, via Plataforma Brasil, relatório final da pesquisa.

Londrina, 13 de setembro de 2013.



Prof. Dra. Alexandrina Aparecida Maciel Cardelli
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos
Universidade Estadual de Londrina



2641

2642 **ANEXO II. Determinação dos metabólitos do óxido nítrico (NOx)**

2643

2644

2645 **- REAGENTES**

2646

2647 **1. Sulfato de Zinco 75mmol/L (CAAI®, Brasil)**

2648 2,156g _____ 100mL H₂O destilada

2649 Pesar 2,156g de Sulfato de Zinco, adicionar em balão volumétrico de 100mL, dissolver com
2650 um pouco de água destilada e completar o volume para 100mL.

2651 Armazenar em geladeira.

2652

2653 **2. Hidróxido de Sódio 55mmol/L (Nuclear®, Brasil)**

2654 220mg _____ 100mL H₂O destilada

2655 Pesar 220mg de Hidróxido de Sódio, adicionar em balão volumétrico de 100mL, dissolver
2656 com um pouco de água destilada e completar o volume para 100mL.

2657 Armazenar em geladeira.

2658

2659 **3. Tampão Glicina (45g/L, pH 9,7) (Synth®, Brasil)**

2660 4,5g _____ 100mL H₂O destilada

2661 Pesar 4,5g de tampão glicina, adicionar em balão volumétrico de 100mL, dissolver com um
2662 pouco de água destilada e completar o volume para 100mL.

2663 Armazenar em geladeira.

2664

2665 **4. Tampão Glicina (15g/L, pH 9,7) (Synth®, Brasil)**

2666 1,5g _____ 100mL H₂O destilada

2667 Pesar 1,5g de tampão glicina, adicionar em balão volumétrico de 100mL, dissolver com um
2668 pouco de água destilada e completar o volume para 100mL. Acertar o pH em 9,7 utilizando
2669 hidróxido de sódio.

2670 Armazenar em geladeira.

2671

2672 **5. Sulfato de cobre 5mmol/L (Synth®, Brasil) em Tampão Glicina (15g/L, pH 9,7)**

2673 62,42mg _____ 50mL de tampão Glicina-NaOH

2674 Pesar 62,42mg de Sulfato de cobre, adicionar em balão volumétrico de 50mL, dissolver com
2675 um pouco de tampão glicina 15g/L e completar o volume para 50mL.

2676 Preparado no dia de uso.

2677

2678

2679 **6. Ácido Sulfúrico 100mmol/L (Merck®, Germany)**

2680 1,4mL H₂SO₄ _____ 250mL H₂O destilada

2681 Adicionar um pouco de água destilada em um balão volumétrico de 250mL, pipetar 1,4mL
2682 de Ácido sulfúrico e completar o volume para 250mL.

2683 Preparar o reagente em capela.

2684 Armazenar em temperatura ambiente.

2685

2686 **7. Sol. Estoque Padrão NaNO₂ 100mM (Synth®, Brasil)**

2687 69,00mg _____ 10mL H₂O destilada

2688 Pesar 69mg de NaNO₂ e adicionar em um tubo de vidro. Adicionar 10 mL de água destilada.

2689 Tampar tudo com parafilm e verter para dissolver.

2690 Armazenar em geladeira e ao abrigo da luz.

2691

2692 **8. Reagente 1 – Sulfanilamida (Acros®, Bélgica)**

2693 2,0g Sulfanilamida _____ 100mL de Ácido Fosfórico 5%

2694 Pesar 2g de Sulfanilamida, adicionar em balão volumétrico de 100mL, dissolver com um
2695 pouco de ácido fosfórico 5% e completar o volume para 100mL. Armazenar em geladeira e
2696 ao abrigo da luz.

2697

2698 **9. Reagente 2-N-naphthylethylenediamine dihydrochloride (NEDD)**

2699 (Sigma Aldrich®, EUA)

2700 200mg NEDD _____ 100mL H₂O destilada

2701 Pesar 200mg de NEDD, adicionar em balão volumétrico de 100mL, dissolver com um pouco
2702 de água destilada e completar o volume para 100mL.

2703 Armazenar em geladeira e ao abrigo da luz.

2704

2705 **Desproteinização**

2706 Adicionarem eppendorf, em triplicata, 60µL de amostra + 60µL de 75mmol/L ZnSO₄;

2707 Agitar 30sec no vórtex;

2708 Centrifugar por 2min a 10000rpm a temperatura ambiente;

2709 Após centrifugar, adicionar 70µL de 55mmol/L NaOH;

2710 Agitar 30sec no vórtex (não precisa quebrar o sedimento)

2711 Centrifugar por 5min a 10000rpm a temperatura ambiente;

2712 Transferir 150µL do sobrenadante para tubo de ensaio de vidro pequeno (sobrenadante não
2713 deve estar turvo);

2714 Adicionar 50µL de tampão glicina (45g/L, pH 9,7).

2715

2716 **Ativação dos grânulos de cádmio (Sigma-Aldrich®, EUA)**

2717 Para esta técnica utiliza-se 3 grânulos pequenos.

2718 Grânulos ficam estocados em H₂SO₄ 100mmol/L

2719 Em capela, lavar os grânulos que serão utilizados com H₂O destilada 3 vezes (com auxílio de um béquer e uma peneira)

2721 Colocar a solução de CuSO₄ 5mmol/L em um pote e adicionar os grânulos previamente lavados. São então deixados em contato por 5min.

2723 Os grânulos ativados devem então ser usados dentro de 10min.

2724 Retirar os grânulos da solução e adicionar a quantidade necessária em cada vial.

2725 Após o uso, os grânulos são lavados e estocados em 100mmol/L de H₂SO₄.

2726 Os grânulos que ficarem pretos mesmo após serem lavados com H₂SO₄ devem ser descartados.

2728

2729 **Redução do nitrato a nitrito**

2730 3 grânulos são adicionados ao tubo de ensaio contendo a amostra e o tampão glicina.

2731 Procurar utilizar os grânulos com tamanhos próximos!

2732 Deixar em agitação contínua por 10min em agitador tipo Kline;

2733 Transferir 100µL de cada amostra para a microplaca para a determinação de nitritos.

2734

2735 **Curva de calibração (triplicata)**

2736 Fazer a diluição dos padrões na própria microplaca antes de adicionar qualquer reagente.

2737

1. Preparar a Solução de Uso NaNO₂ 125µmol/L (P5): Em um balão volumétrico de 100mL dissolver 125µL de Solução Estoque Padrão NaNO₂ 100mM
2. Adicionar 100µL de água destilada nos poços A1, A2, A3 (brancos)
3. Adicionar 100µL Solução de Uso NaNO₂ 125µmol/L no poço B1, B2, B3 (primeiro ponto)
4. Adicionar 100µL de água destilada nos poços C1, C2, C3, D1, D2, D3, E1, E2, E3, F1, F2, F3
5. Adicionar 100µL Solução de Uso NaNO₂ 125µmol/L no poço C1 e homogeneizar com a própria pipeta.
6. Transferir 100µL da solução C1 para o poço D1 e homogeneizar com a própria pipeta.
7. Transferir 100µL da solução D1 para o poço E1 e homogeneizar com a própria pipeta.
8. Transferir 100µL da solução E1 para o poço F1 e homogeneizar com a própria pipeta.
9. Retirar 100µL do poço F1 e descartar.
10. Repetir o mesmo procedimento (a partir do passo 5) para as outras duas curvas de calibração (Coluna 2 e 3)

2738 Quantificação do teor de nitritos

2739 Após a adição das amostras e da diluição seriada do padrão na microplaca, adiciona-se 50
2740 μL do Reagente 1 e 50 μL do Reagente 2 a cada poço. Incubar por 10min a temperatura
2741 ambiente. A leitura é realizada em uma leitora de microplacas Asys Expert Plus, Biochrom®
2742 (Holliston, MA, EUA), 540nm.

2743 Importante: Toda solução que entrou em contato com o cádmio deve ser descartada como
2744 resíduo tóxico (armazenar em potes de plástico para descarte adequado)

2745 Cálculo do fator:

2746

2747 Fator = $\frac{\text{concentração do padrão}}{\text{leitura do espectrofotômetro}}$

2748

2749 Obs.: Fator +/-70 (para validação)

2750 Cálculo da concentração da amostra:

2751 Concentração= fator x leitura da amostra

2752

2753

2754

2755

2756

2757

2758

2759

2760

2761

2762

2763

2764

2765

2766

2767

2768

2769

2770

2771

2772

2773

2774

2775 **ANEXO III.- Determinação de produtos avançados da oxidação de proteínas (AOPP)**

2776

2777

2778 **- REAGENTES**

2779

2780 - **KI (Iodeto de Potássio) 1,16M** – preparar a quantidade de uso, não tem definido a
2781 validade após preparado.

2782

2783 1- Pesar reagente

2784 0,962g _____ 5mL de H₂O destilada

2785 2- Colocar reagente em tubo de vidro (10 mL)

2786 3- Adicionar 5 mL de H₂O destilada

2787 4- Tampar tubo com parafilm e agitar

2788

2789 - **Padrão Estoque Cloramina T - 1mM (PM = 281,69)** – validade: até 3 meses em 4°C

2790

2791 1- Pesar o padrão

2792 28,17mg _____ 100mL H₂O destilada

2793 2- Colocar o padrão em balão volumétrico de 100 mL

2794 3- Adicionar 80 mL de H₂O destilada

2795 4- Dissolver o padrão

2796 5- Completar o volume para 100 mL

2797

2798 **- Ácido Acético PA**

2799

2800 Usar o reagente comercial.

2801

2802 **- AMOSTRAS**

2803

2804 - Plasma diluído 1:5 com PBS

2805

2806 1- em tubos diluir as amostras da seguinte maneira:

2807 200 uL de plasma + 800 uL de PBS

2808

2809

2810

2811

2812 - **PROCEDIMENTO**

2813

2814 - Diluição Padrão:

2815

2816 1. Em tubos de vidro de 10 mL, fazer a diluição dos padrões antes de adicionar
2817 qualquer reagente.

2818

2819 2. Identificar 5 tubos, de P1 ate P5

2820

2821 3. No tubo P1:

2822 P1 - 500µL Padrão Estoque + 4,5mL PBS

2823

2824 4. No tubo P2:

2825 P2 – 1mL P1 + 1mL PBS

2826

2827 5. No tubo P3:

2828 P3 – 1mL P2 + 1mL PBS

2829

2830 6. No tubo P4:

2831 P4 – 1mL P3 + 1mL PBS

2832

2833 7. No tubo P5:

2834 P5 – 1mL P4 + 1mL PBS

2835

2836 8. Para a reação, seguir o esquema abaixo, identificando os tubos e adicionando os
2837 reagentes na ordem

2838

	BRANCO	P1	P2	P3	P4	P5	AMOSTRA
[] µM		100	50	25	12,5	6,25	
PBS (µL)	1000						
PADRÃO (µL)		1000	1000	1000	1000	1000	
AMOSTRA (µL)							1000
Ác Acético PA (µL)	100	100	100	100	100	100	100
KI (µL)	50	50	50	50	50	50	50

2839 - Leitura em 340nm

2840 - Ler imediatamente

2841

2842 - CÁLCULO DO FATOR

2843

2844 FATOR = $\frac{\text{CONCENTRAÇÃO DO PADRÃO}}{\text{LEITURA DO ESPECTROFOTOMETRO}}$

2845

2846

2847 Calculo da concentração da amostra:

2848

2849 CONCENTRAÇÃO = FATOR X LEITURA DA AMOSTRA x 5 (diluição da amostra)

2850

2851 [Concentração] AOPP – $\mu\text{moles/L}$ de equivalente de cloramina T

2852

2853 *Obs.: Fator +/- 50*

2854

2855

2856

2857

2858

2859

2860

2861

2862

2863

2864

2865

2866

2867

2868

2869

2870

2871

2872

2873

2874

2875

2876

2877

2878

2879 **ANEXO IV. Determinação da atividade da paraoxonase 1 (PON-1)**

2880

2881

2882 **Preparo da Solução de Estoque de Tampão TRIS-HCl 1M**

2883 **(C₄H₁₁NO₃·HCl= 157,64)**

2884 Pesar 39,41g e diluir em 250mL de H₂O (utilizar balão volumétrico)

2885 **CUIDADO: reação exotérmica!**

2886 Ajustar o pH para 8,0 (antes de acertar o menisco) e armazenar em geladeira

2887 Corrigir pH todos os dias antes do uso – para o uso, o pH poderá variar entre 8,0 e 8,5

2888

2889 **Preparo da Solução de Estoque de CaCl₂ 1M**

2890 **(CaCl₂· 2H₂O = 147,02)**

2891 Pesar 7,35g e diluir em 50mL de H₂O (utilizar balão volumétrico)

2892 **CUIDADO: reação exotérmica!**

2893 Filtrar a solução em papel de filtro após o preparo e armazenar em geladeira.

2894

2895 **Preparo do Tampão A – Preparar no dia do uso**

2896 20mM TRIS-HCl (pH=8,0) e 1mM CaCl₂

2897 Tampão para a diluição das amostras e preparo do Substrato de CMPA (cloro-metil-fenil-acetato)

2899 Para 100mL de H₂O: 2mL Solução Estoque de TRIS-HCl pH8,0

2900 100µL Solução Estoque de CaCl₂

2901

2902 **Preparo do Tampão B – Preparar no dia do uso**

2903 9,0mM TRIS-HCl (pH=8,0) e 0,9mM CaCl₂

2904 Tampão para o preparo do Substrato de PA-No Salt (fenil-acetato sem a adição de sal)

2905 Para 50mL de H₂O: 450µL Solução Estoque de TRIS-HCl pH8,0

2906 45µL Solução Estoque de CaCl₂

2907

2908 **Preparo das amostras:**

2909 Antes de diluir as amostras, os tubos/ criotubos de armazenamento deverão ser centrifugados a 10000 RPM, por 5min e refrigerados a 10°C.

2911

2912

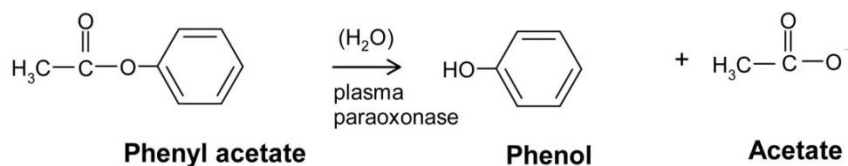
2913

2914

2915

2916 **Reação 1 – Atividade AREase sem adição de sal**

2917



2918 **Leitura avalia a formação do produto de hidrólise do fenil-acetato (fenol) durante 4**
 2919 **minutos**

2920

2921 Diluir a amostra 1:80 – 5µL da amostra e 395µL do Tampão A

2922 Utilizar tubos de vidro

2923 As amostras, após serem diluídas, deverão ser processadas em até 30min.

2924

2925 **Preparo do Substrato de PA-No Salt:** C₈H₇O₂ - PM: 136,15; Conc. final: 3,26mM

2926 10mL do Tampão B + 5µL do Reagente PA (fenil-acetato)

2927 Esta solução de substrato deve ser preparada em Tubo tipo Falcon, ao abrigo de luz, NO
 2928 MOMENTO DO USO e **não** deverá ser utilizada após **2 horas** de seu preparo.

2929 Agitar vigorosamente por 30 segundos!

2930

2931 **- PROCEDIMENTO**

2932

2933 Adicionar 20µL da amostra diluída 1:80 nos poços em que ocorrerão a reação. Ao fim,
 2934 adicionar 200µL da solução do Substrato de PA-No Salt e proceder a leitura.

2935

2936 **Parâmetros de leitura** – Utilizar modelo pré-definido no leitor de microplacas *EnSpire*[®]:
 2937 Protocolo “AREase”

2938 Leitura cinética a 25°C – 16 leituras, em 270nm, com intervalo de 15 segundos entre as
 2939 leituras; o tempo total da reação é de 4min.

2940 Após as leituras cinéticas, serão realizadas mais duas leituras (em 900nm e 977nm) para a
 2941 correção do path length (caminho ótico);

2942 ver cálculos de correção ao final.

2943

2944 **- ANÁLISE DOS RESULTADOS**

2945

2946 Os resultados das 16 leituras em todas as reações deverão ser corrigidos da mesma forma;

2947 A primeira etapa é a correção por base linecorrection; esta correção deverá ser feita para

2948 realizar a comparação da atividade da cinética enzimática;

2949 As amostras cujas replicatas variarem mais de 10% ou que apresentarem um valor de 2
 2950 inferior a 0,99 deverão ser reprocessadas;

2951 Somente a primeira porção linear da curva deverá ser utilizada na análise final;

2952 A análise deverá ser feita em mDO, e o valor das médias das leituras deverá ser utilizado na
 2953 fórmula de cálculo de atividade (expresso em U/mL).

2954

2955 FÓRMULA

$$Atv = \frac{mDO \times Vol. total da reação (mL) \times Fator de diluição}{\varepsilon \times Volume da amostra (\mu L)}$$

2956 Onde:

2957 $\varepsilon \rightarrow$ Coeficiente de extinção molar

2958 Para o produto de hidrólise do CMPA (4-clorometil-fenol) = 1,30 mMol/Lcm-1

2959 Para o produto de hidrólise do fenil-acetato (fenol) = 1,31 mMol/Lcm-1

2960

2961 **Correção do caminho ótico (Path length correction)**

*Greiner bio-one. Application Note: UV/VIS Spectroscopy in Microplates UV-Star®, µClear®,
 MICROLON® and CELLSTAR®*

[<http://www.greinerbioone.com/en/row/articles/literatures/application_notes/>](http://www.greinerbioone.com/en/row/articles/literatures/application_notes/)

2962

2963 a. Correção pela geometria da placa – para placas com poços cilíndricos de fundo chato:

2964 Utilizando as especificações do fabricante quanto ao diâmetro dos poços, fazer o seguinte
 2965 cálculo:

$$h = \frac{4 \times V}{\pi \times d^2}$$

2966 Onde:

2967 h = fator de correção para a placa

2968 V = volume final que será utilizado

2969 d = média dos diâmetros especificados

2970

2971 b. Correção por volume de água:

2972 Utilizando as leituras em 900nm e 977nm, é possível realizar a correção do path length para
 2973 cada poço de reação, utilizando-se a seguinte fórmula:

2974

$$h = \frac{(A_{977} - A_{900})_{amostra}}{(A_{977} - A_{900})_{1cm\acute{a}gua}}$$

2975

2976 Como referência para água, utilizar o valor padrão de 0,180

2977 **ANEXO V. Determinação do grupamento Tiol (SH-grupo)**

2978

2979

2980 **- REAGENTES**

2981

2982 **1.** Tampão Tris base 0,25M (Sigma-Aldrich®, EUA) e EDTA 20mM (Synth®), Brasil- pH 8.22983 Pesar 3,028g Tris base, 0,7445g EDTA e diluir em 100mL H₂O (qsp). Ajustar o pH para 8.2.

2984

2985 **2.** DTNB 10mM2986 Pesar 39,635mg DTNB (Sigma-Aldrich®, EUA) e diluir em 10mL de metanol (Vetec®, Brasil)
2987 (qsp).

2988 Armazenar na geladeira ao abrigo da Luz. Pode ser utilizado até por 2 semana.

2989

2990 **- PROCEDIMENTO**

2991

Reagentes	Branco	Amostra
Tampão Tris-EDTA (µL)	1000	1000
Plasma (µL)	-	50

2992 Agitar e realizar leitura em espectrofotômetro em 412 nm (leitura A1)

2993

2994 Em seguida, adicionar

2995

Reagentes	Branco com DTNB	Amostra
DTNB 10mM (µL)	20	20

2996

2997 Esperar 15 minutos a temperatura ambiente. Ler em 412 nm (leitura A2).

2998 Realizar também uma leitura do branco só com DTNB 10mM.

2999

3000 **- CÁLCULO**

3001

3002 Concentração de SH total (mM) = (A2 - A1 - B com DTNB) x 1,57mM

3003 Corrigir essa concentração pela quantidade de proteínas totais no plasma. O resultado é
3004 expresso em µM/mg de proteína.

3005

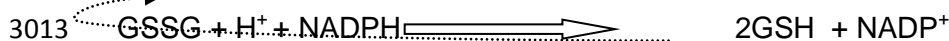
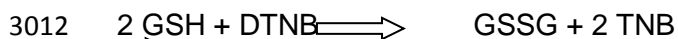
3006

3007

3008 **ANEXO VI. Protocolo para determinação da glutatona total e reduzida em hemácias**

3009

3010

3011 **PRINCÍPIO:**

3014 Glutaciona Redutase

3015

3016

3016 **- REAGENTES**

3017

3018 Tampão de EDTA 1mM:

3019 **EDTA (E1) 1mM: 1 mM**3020 **Pesar: 0,0372 g de EDTA para preparar 100mL.**3021 **Solução A: K_2HPO_4 (100 mM- F10a): Pesar 1,74 g/ 100 mL de água milli-Q**3022 **Solução B: KH_2PO_4 (100 mM-F10): Pesar 1,36 g/ 100 mL de água de milli-Q**3023 **► Misturar 80,4 mL da solução A + 19,6 mL da solução B + 0,0372 g de EDTA para preparar 100 mL. **Deixar para completar para 100 mL depois que acertar o pH!****3025 **OBS:** A solução de Tampão de EDTA deve ter pH 7,4; caso esteja diferente deste valor deve-se adicionar mais da solução B ou KOH 1M. O tampão pode ser armazenado a 4 °C.3027 **Solução de DTNB:**3028 Solução estoque 7,5 mg para 5 mL de NaHCO_3 0,5%. Fazer alíquotas de 1mL em eppendorfs. Manter as soluções congeladas a -80°C, com o frasco sempre protegido da luz.
3029
3030 Descongelar na hora do uso.

3031

3032 **- PREPARO DA SOLUÇÃO MIX**

3033

3034 Solução mix 1:

3035 **► Para dosagem de glutatona total (GT)**

3036

Componentes	18 mL (para uma placa)
Solução tampão EDTA	17,64 mL
NADPH	3,6 mg
DTNB (solução estoque)	360 µl
Glutaciona Redutase (100 U)	6 µl

3037

3038 Solução mix 2:

3039 ► Para dosagem de glutathiona reduzida (GSH) e padrão

3040

Componentes	18 mL (para uma placa)
Solução tampão EDTA	17,640 mL
DTNB (solução estoque)	360 µl

3041

3042 - **CURVA PADRÃO**

3043

3044 **Preparo do Padrão de GSH:** PM GSH = 307,3

3045 Preparar inicialmente uma solução de 10mM de GSH: Pesar 15,365 mg de GSH e diluir em
3046 5mL de água de mili-Q. Na sequência fazer alíquotas de 500 µL em eppendorfs envoltos
3047 com papel alumínio e identificados. Congelar a -80°C (descongelar apenas na hora do
3048 uso).Pode-se optar por fazer a curva padrão inteira como abaixo ou escolher o ponto 300
3049 µM para encontrar o fator ($f=C/DO$).

3050 **O fator encontrado nessa concentração tem que estar entre 1100 a 1400.**

3051 ► Diluição curva padrão em tubos de ensaio:

3052

Concentração µM	50	100	150	200	250	300	400	500	600	1000
Vol. Sol 10 mM GSH	5	10	15	20	25	30	40	50	60	100
Vol. Água de mili-Q (µL)	995	990	985	980	975	970	960	950	940	900

3053

3054 **Preparo das Amostras:** As amostras foram coletadas em tubos heparinizados e
3055 centrifugadas por 5 minutos a 3000 rpm. O plasma foi retirado de cada amostra, adicionou-
3056 se 2 mL de solução fisiológica para lavar as hemácias. A amostra foi homogeneizada e
3057 centrifugada por mais 5 minutos a 3000 rpm. A operação de homogeneização foi repetida
3058 por mais duas vezes. Na sequência a hemoglobina foi quantificada. Para o preparo do
3059 hemodialisado, em um tubo de ensaio, devidamente identificado, diluiu-se 2,5 µl da papa de
3060 hemácia com 2 mL de H₂O de mili-Q.

3061

3062 **Preparo da Microplaca:** Para preparo da microplaca adicionou-se 180 µl da Solução MIX 2
3063 para curva padrão ou ponto padrão e amostras para GSH. Na sequência adicionou-se 180
3064 µl da Solução MIX 1 para GT nas amostras. Para ospoços com a solução para GT e GHS
3065 adicionou-se 20 µl de cada amostra em triplicata. Brancos: 180 µl da solução MIX 1 mais 20
3066 µl de água de mili-Q e 180 µl da solução MIX 2 mais 20 µl de água de mili-Q. A placa foi
3067 agitada por 15 segundos e incubada a temperatura ambiente durante 15 minutos na leitora

3068 de microplaca (EnSpire). A leitura deve ser realizada em 412 nm. Sugestão de disposição
3069 das amostras e padrões na microplaca:

3070

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12
B	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12
C	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12
D	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12
E	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12
F	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12
G	A13	A13	A13	A14	A14	A14	P300	P300	P300	BGT	BGT	BGT
H	A13	A13	A13	A14	A14	A14				BGSH	BGSH	BGSH

3071

3072 Linhas em cinza: amostra + solução Mix 1 para GT

3073 Linhas em branco: amostra/padrão + solução Mix 2 para GSH

3074

3075 - CÁLCULOS

3076

3077 Tanto para calcular GT quanto GSH usar a seguinte fórmula:

3078

3079

$$\text{GT ou GSH} = \frac{\text{D.O} \times \text{fator} \times 0,8}{\text{Conc. Hb g/dL}}$$

3080

3081

3082

3083 Onde:

3084 D.O: Densidade óptica

3085 Fator: Conc. Padrão 300 µM/média das D.O

3086 Conc. Hb g/dL: Concentração de Hemoglobina em g/dL obtida por meio do Hemograma

3087

3088 **Para calcular a Glutathiona Oxidada (GSSG) usar a seguinte fórmula: GSSG= (GT-**
3089 **GSH)/2**

3090

3091 **Os resultados serão expressos em miliMolar/gHb.**

3092

3093

3094

3095 **ANEXO VII. Portaria n. 226 de 10/05/2010 do Ministério da Saúde.**

3096

3097

Ministério da Saúde

3098

Secretaria de Atenção à Saúde

3099

3100

PORTARIA Nº 226, DE 10 DE MAIO DE 2010

3101

3102 O Secretário de Atenção à Saúde, no uso de suas atribuições,

3103 Considerando a necessidade de se estabelecer parâmetros sobre a anemia na
3104 insuficiência renal crônica no Brasil e de diretrizes nacionais para diagnóstico, tratamento e
3105 acompanhamento dos indivíduos com esta doença;

3106 Considerando que os Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) são
3107 resultado de consenso técnico-científico e são formulados dentro de rigorosos parâmetros
3108 de qualidade, precisão de indicação e posologia;

3109 Considerando a Consulta Pública SAS Nº 5, de 28 de janeiro de 2010 e a Consulta
3110 Pública SAS Nº 17, de 09 de abril de 2010;

3111 Considerando a Portaria SAS/MS Nº 375, de 10 de novembro de 2009, que aprova o
3112 roteiro a ser utilizado na elaboração de PCDT, no âmbito da Secretaria de Atenção à Saúde
3113 - SAS; e

3114 Considerando a avaliação da Secretaria de Atenção à Saúde - Departamento de
3115 Atenção Especializada, resolve:

3116 Art. 1º Aprovar, na forma dos anexos desta Portaria, o PROTOCOLO CLÍNICO E
3117 DIRETRIZES TERAPÊUTICAS - ANEMIA NA INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA -
3118 REPOSIÇÃO DE FERRO (Anexo I) e PROTOCOLO CLÍNICO E DIRETRIZES TE-
3119 RAPÊUTICAS -ANEMIA NA INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA - ERITROPOETINA
3120 RECOMBINANTE HUMANA (Anexo II).

3121 § 1º Os Protocolos, objeto deste Artigo, que contêm o conceito geral da anemia na
3122 insuficiência renal crônica com vistas à reposição de ferro e uso de alfaepoteína, critérios de
3123 diagnóstico, critérios de inclusão e de exclusão, tratamento e mecanismos de regulação,
3124 controle e avaliação, são de caráter nacional e devem ser utilizados pelas Secretarias de
3125 Saúde dos Estados e dos Municípios na regulação do acesso assistencial, autorização,
3126 registro e ressarcimento dos procedimentos correspondentes.

3127 § 2º É obrigatória a observância desses Protocolos para fins de dispensação de
3128 medicamentos neles previstos.

3129 § 3º É obrigatória a identificação do paciente, ou de seu responsável legal, dos
3130 potenciais riscos e efeitos colaterais relacionados ao uso de medicamento preconizado para
3131 o tratamento da anemia na insuficiência renal crônica, o que deverá ser formalizado por

3132 meio da assinatura do respectivo Termo de Esclarecimento e Responsabilidade, conforme
3133 os modelos integrantes dos Protocolos.

3134 § 4º Os gestores estaduais e municipais do SUS, conforme a sua competência e
3135 pactuações, deverão estruturar a rede assistencial, definir os serviços referenciais e
3136 estabelecer os fluxos para o atendimento dos indivíduos com a doença em todas as etapas
3137 descritas no Anexo desta Portaria.

3138 Art. 2º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

3139 Art. 3º Fica revogada a Portaria SAS/MS Nº 437, de 08 de outubro de 2001, publicada
3140 no Diário Oficial da União Nº 194, de 9 de outubro de 2001, Seção 1, pag. 61.

3141

3142

ALBERTO BELTRAME

3143

3144

ANEXO I

3145

3146

PROTOCOLO CLÍNICO E DIRETRIZES TERAPÊUTICAS

3147

ANEMIA NA INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA- REPOSIÇÃO DE FERRO

3148

3149

1. METODOLOGIA DE BUSCA DA LITERATURA

3150

3151

3152

3153

3154

Utilizou-se como estratégia de busca no Pubmed os termos "ferric oxide"[Mesh] ou
"iron"[Mesh] ou "iron compounds"[Mesh] e ("kidney failure, chronic"[Mesh] ou
"hemodialysis"[Mesh]) e "anemia"[Mesh], restringindo-se a busca para ensaios clínicos
randomizados e meta-análises, publicadas nos últimos 10 anos. A busca resultou em 28
artigos.

3155

3156

3157

3158

No Embase, foi utilizada como estratégia de busca os termos 'hemodialysis'/exp ou
'chronic kidney failure'/exp ou 'dialysis'/exp e 'anemia'/exp e 'iron'/exp, limitando-se a ensaios
clínicos randomizados, meta-análises e revisões da Cochrane, publicados nos últimos 10
anos. A busca resultou em 54 artigos.

3159

3160

3161

Quando avaliadas em conjunto, as buscas em ambas as bases de dados identificaram
nove ensaios clínicos e duas meta-análises com intervenções e desfechos relevantes para o
tema de interesse no protocolo

3162

3163

3164

3165

3166

3167

3168

Foram consultados ainda o "UpToDate", versão 17.3, através do site
<http://www.uptodateonline.com> e as diretrizes da "National Kidney Foundation -Kidney
Disease Outcomes Quality Initiative", através do site
http://www.kidney.org/professionals/KDOQI/guidelines_commentaries.cfm#guidelines,
ambos acessados em 30/11/2009. A consulta à bibliografia dessas fontes levou à
identificação de outros 11 estudos observacionais, utilizados principalmente na introdução
deste protocolo.

3169 2. INTRODUÇÃO

3170 A anemia é uma complicação freqüente e importante da insuficiência renal crônica,
3171 associando-se com aumento de morbidade e mortalidade(1-5). Utilizando-se a definição
3172 clássica de anemia pela Organização Mundial de Saúde, como hemoglobina inferior a
3173 13g/dL em homens e mulheres na pós-menopausa e inferior a 12g/dL em mulheres pré-
3174 menopáusicas, esta condição estará presente em cerca de 90% dos pacientes com
3175 insuficiência renal crônica que apresentam taxa de filtração glomerular estimada (MDRD ou
3176 Crockoft-Gault, disponíveis em
3177 http://www.kidney.org/professionals/KDOQI/gfr_calculator.cfm) inferior a 25-
3178 30mL/min/1,73m²(1). Entretanto, anemia pode estar presente em pacientes com taxa de
3179 filtração glomerular estimada entre 30 e 60mL/min/1,73m², e o consenso atual sugere que a
3180 reposição de ferro e de alfaepoetina deve ser feita tendo como meta níveis de hemoglobina
3181 entre 11-12g/dl(6, 7). Na maioria dos casos, a anemia decorre primariamente da produção
3182 renal reduzida de epoetina. A manutenção de estoques corporais adequados de ferro é
3183 fundamental para uma adequada resposta ao tratamento com alfaepoetina, sendo a
3184 deficiência de ferro ou a sua reduzida disponibilidade, as principais causas de falha ao
3185 tratamento. Estima-se que pacientes em hemodiálise percam em média 2g de ferro por ano
3186 pelo método dialítico em si, além de outras perdas (gastrointestinais, coletas de sangue
3187 freqüentes, etc.), justificando a necessidade de avaliação sistemática e reposição
3188 apropriada(8).

3189 No Brasil, estima-se, a partir dos dados dos sistemas de informações do SUS, que, em
3190 2008 e 2009, respectivamente 72.730 e 75.822 pacientes submeteram-se à diálise, sendo
3191 em torno de 90% à hemodiálise. O uso de alfaepoetina fez parte do tratamento de mais de
3192 80% desses pacientes(9).

3193 Apesar de a reposição de ferro ter benefícios definidos em relação à correção da
3194 anemia da insuficiência renal crônica e na redução de doses de alfaepoetina, a melhor
3195 forma de administração e parâmetros para sua indicação e acompanhamento ainda são
3196 motivos de controvérsia, razão pela qual a sua regulamentação pelo Sistema Único de
3197 Saúde faz-se necessária.

3198 3. CLASSIFICAÇÃO ESTATÍSTICA INTERNACIONAL DE DOENÇAS E PROBLEMAS 3199 RELACIONADOS À SAÚDE (CID-10)

3200 -N 18.0 Doença renal em estágio final

3201 -N 18.8 Outra insuficiência renal crônica

3202 4. DIAGNÓSTICO

3203 Antes do início do tratamento, todos os pacientes devem ser avaliados e outras
3204 causas de anemia afastadas. Os pacientes devem ser submetidos a uma história e exame
3205 físico detalhados, bem como à realização de hemograma completo e das reservas de ferro.

3206 A avaliação dos parâmetros hematimétricos do hemograma, como VCM (volume
3207 corpuscular médio), CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média) e RDW
3208 (índice de anisocitose) podem auxiliar no diagnóstico diferencial de outras causas de
3209 anemia. A saturação de transferrina avalia o ferro funcionalmente disponível para
3210 eritropoiese e é calculada pela equação: concentração de ferro sérico (mg/dL) x
3211 100/capacidade total de ligação de ferro. A ferritina sérica é o marcador mais utilizado para
3212 avaliar as reservas orgânicas de ferro, estando diminuída na sua deficiência. Além de
3213 estados de sobrecarga de ferro, a ferritina pode estar ainda elevada em condições
3214 associadas à inflamação ou infecção subjacente. A presença de tais condições deve ser
3215 criteriosamente considerada durante a avaliação clínica.

3216 O diagnóstico de deficiência absoluta de ferro em pacientes com insuficiência renal
3217 crônica em hemodiálise é realizado quando os seguintes critérios estiverem presentes:

3218 -Saturação de transferrina < 20% e

3219 -Ferritina sérica inferior a 200ng/dL

3220 Pacientes em hemodiálise podem ainda apresentar deficiência relativa de ferro,
3221 representando uma situação onde os estoques de ferro encontram-se dentro no normal por
3222 critérios convencionais, mas com incapacidade de mobilização adequada do ferro para
3223 eritropoese sob estímulo de alfaepoetina. Os critérios diagnósticos de deficiência relativa
3224 são:

3225 -Saturação de transferrina < 20% e

3226 -Ferritina sérica entre 200 e 800ng/dL

3227 5. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

3228 Apresentar diagnóstico de insuficiência renal crônica, independentemente da idade, na
3229 presença dos seguintes critérios:

3230 -anemia, com hemoglobina sérica inferior a 11g/dL em ambos os sexos;

3231 -deficiência absoluta ou relativa de ferro;

3232 -estar em hemodiálise.

3233 6. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

3234 São considerados critérios de exclusão:

3235 -Hemocromatose;

3236 -Hemossiderose;

3237 -Anemia hemolítica;

3238 -Ferritina sérica acima de 1.200ng/dL ou saturação de transferrina superior a 50%;

3239 -Hipersensibilidade/intolerância ao produto ou a um de seus componentes.

3240 7. CASOS ESPECIAIS

3241 Em pacientes com hemoglobina inferior a 11g/dL, necessitando doses elevadas de
3242 alfaepoetina (igual ou maior 225UI/Kg/semana ou igual ou maior que 22.500 UI/semana),

3243 pode ser considerada a reposição de ferro parenteral se a ferritina sérica estiver entre 800 e
3244 1200ng/dL e a saturação da transferrina menor de 25%, levando-se em conta os potenciais
3245 riscos e benefícios do tratamento nessa situação.

3246 Pacientes em tratamento conservador ou em programa de diálise peritoneal podem
3247 beneficiar-se do uso do ferro por via oral como suplementação. Caso apresentem
3248 intolerância gastrointestinal, inadequada adesão ou a resposta ao tratamento oral seja
3249 insuficiente, poderá ser considerada a reposição parenteral de ferro. Nesses casos, o
3250 diagnóstico de deficiência de ferro é dado por níveis de ferritina < 100ng/dL e saturação de
3251 transferrina menor de 20%.

3252 Na gravidez, é recomendada uma dose de 25mg por semana de sacarato de hidróxido
3253 de ferro III intravenoso. Não se recomenda o uso no primeiro trimestre.

3254 8. TRATAMENTO

3255 Os ensaios clínicos(10-18) e meta-análises (19,20) disponíveis acerca da efetividade
3256 do ferro parenteral no tratamento de anemia em pacientes com insuficiência renal crônica
3257 tiveram como desfechos principais a taxa de anemia e a presença de efeitos ad-versos.
3258 Desfechos de maior impacto clínico, como impacto em sobrevida e qualidade de vida não
3259 foram adequadamente avaliados.

3260 Em pacientes com insuficiência renal crônica em tratamento conservador, o uso
3261 rotineiro do ferro parenteral proporcionou um pequeno ganho em de hemoglobina
3262 (0,31g/dL), que não parece representar vantagem clínica significativa em relação à
3263 reposição oral de ferro, segundo meta-análise publicada(19). Diante disso, nesse grupo de
3264 pacientes, o uso de ferro parenteral só deve ser considerado em casos de intolerância ou
3265 falha ao tratamento por via oral.

3266 A mesma meta-análise demonstrou ainda que em pacientes em hemodiálise crônica o
3267 uso sistemático do ferro parenteral foi superior à reposição oral de ferro em relação ao
3268 incremento de hemoglobina (0,83g/dL, IC 95% 0,09-1,57). Tal resposta foi independente do
3269 uso de alfaepoetina. Além disso, a dose necessária de alfaepoetina foi significativamente
3270 menor no grupo que recebeu ferro por via parenteral(19).

3271 Em meta-análise de estudos observacionais na população de crianças em
3272 hemodiálise, observou-se benefício com uso de ferro parenteral quanto a aumento da
3273 hemoglobina e redução das doses de alfaepoetina(20).

3274 Dois ensaios clínicos visando, respectivamente, manter a ferritina acima de
3275 200ng/dL(13) e saturação de transferrina entre 30%-50%(12) com a reposição parenteral de
3276 ferro em pacientes em hemodiálise, verificaram redução das doses necessárias de
3277 alfaepoetina para manter a hemoglobina dentro da faixa alvo, quando comparados com o
3278 grupo controle, que visava a manter ferritina entre 100-200 ng/dL(13) e saturação da
3279 transferrina entre 20%-30%(12).

3280 O ensaio clínico "DRIVE", publicado por Coyne e colaboradores(18), incluindo
3281 pacientes com anemia (hemoglobina < 11g/dL), ferritina entre 500-1200ng/dL, saturação de
3282 transferrina < 25% e necessitando doses de alfaeopetina superiores a 225UI/Kg/semana ou
3283 22.500UI/semana, comparou o uso de ferro parenteral com a não reposição de ferro, tendo
3284 como desfecho a variação da hemoglobina. A dose de alfaeopetina foi aumentada em 25%
3285 em ambos os grupos. O aumento da hemoglobina foi significativamente maior no grupo que
3286 recebeu ferro parenteral (diferença de cerca de 0,5g/dL). A resposta ao tratamento não
3287 diferiu entre os pacientes que apresentavam ferritina maior ou menor do que 800ng/dL
3288 previamente ao início do tratamento. O estudo DRIVE-II seguiu o acompanhamento dos
3289 pacientes incluídos no estudo anterior e observou uma redução significativa nas doses de
3290 alfaeopetina naqueles pacientes que receberam ferro parenteral(21). Tais dados sugerem
3291 que possa haver benefício na suplementação adicional de ferro nesse subgrupo de
3292 pacientes, mas os riscos e benefícios do tratamento devem ser adequadamente avaliados.

3293 8.1. FÁRMACOS

3294 -Sulfato ferroso: comprimidos de 40 mg

3295 -Solução oral de sulfato ferroso 25 mg/mL

3296 -Solução injetável de sacarato de hidróxido de ferro III

3297 O sacarato de hidróxido de ferro III é de uso intravenoso e apresenta-se em ampolas
3298 de 5mL contendo 100mg de ferro III (20mg/mL). Deve ser diluído em 100mL de solução
3299 fisiológica e infundido em 15 minutos, segundo o fabricante. Estudo demonstra segurança
3300 do seu uso em tempos de administração menores, de até 5 minutos, sem aumento de
3301 reações adversas(22).

3302 8.2 ESQUEMAS DE ADMINISTRAÇÃO (USO ADULTO)

3303 Ferro oral: dose de 40 mg de ferro elemento, via oral, três vezes ao dia, nos intervalos
3304 das refeições.

3305 Solução injetável de sacarato de hidróxido de ferro III

3306 Dose teste: Os estudos clínicos que avaliaram a segurança do sacarato de hidróxido
3307 de ferro demonstraram que o mesmo é seguro e que a utilização de dose teste, apesar de
3308 recomendada pelo fabricante, pode ser dispensada(22). Quando utilizada, a dose teste deve
3309 ser realizada na primeira administração e consiste em diluir 25mg de ferro elementar em
3310 100mL de solução salina e administrar via intravenosa em no mínimo 15 minutos. Deve-se
3311 aguardar 15 minutos antes de administrar o restante da primeira dose ou repor as doses
3312 necessárias nos dias subseqüentes, caso não ocorram reações adversas como cefaléia,
3313 náuseas, vômitos, parestesias, distúrbios gastrointestinais, dores musculares, febre,
3314 hipotensão, urticária, rubor e reação anafilática.

3315 Dose de ataque: Indicada quando o nível de ferritina sérica for inferior a 200 ng/dL ou
3316 a saturação de transferrina for inferior a 20%. Deve-se administrar 1.000 mg de ferro,

3317 divididos em 10 sessões de hemodiálise ou em 10 dias diferentes (2 ou 3 vezes por
3318 semana) nos pacientes em diálise peritoneal ou em tratamento conservador.

3319 Dose de manutenção: Indicada para manter os estoques adequados de ferro em
3320 pacientes com níveis de ferritina superiores a 200ng/dL e saturação da transferrina superior
3321 a 20%. Deve-se administrar 100mg de ferro por via intravenosa em dose única a cada 15
3322 dias.

3323 Em pacientes com deficiência relativa de ferro e necessitando doses de alfaepoetina
3324 superiores a 225UI/Kg/semana ou 22.500UI/semana, pode-se considerar novo curso de
3325 dose de ataque (1.000mg de ferro divididos em 10 sessões de hemodiálise), após avaliar os
3326 riscos e benefícios para o paciente.

3327 8.3. TEMPO DE TRATAMENTO - CRITÉRIOS DE INTERRUPÇÃO

3328 O tratamento com ferro parenteral deve ser interrompido temporariamente quando a
3329 saturação de transferrina for superior a 50% ou a ferritina sérica for superior a 800ng/dL
3330 (superior 1.200ng/dL em pacientes necessitando doses de alfaepoetina superiores a
3331 225UI/Kg/semana ou 22.500UI/semana).

3332 Após o retorno dos valores de ferritina sérica para 500ng/dL (800ng/dL em pacientes
3333 necessitando doses de alfaepoetina superiores a 225UI/Kg/semana ou 22.500UI/semana)
3334 ou da saturação da transferrina para valores menores de 50%, recomenda-se reiniciar o uso
3335 de ferro parenteral com a metade da dose anterior.

3336 8.4. OBJETIVOS DO TRATAMENTO

- 3337 - manter níveis de hemoglobina entre 11 e 12g/dL;
- 3338 - manter o nível sérico de ferritina entre 200 e 800ng/dL (até 1.200ng/dL em pacientes
3339 necessitando doses de alfaepoetina superiores a 225UI/Kg/semana ou 22.500UI/semana);
- 3340 - manter a saturação da transferrina entre 20% e 50%;
- 3341 -reduzir, quando possível, a dose terapêutica necessária de alfaepoetina;
- 3342 -nos pacientes em diálise peritoneal ou tratamento conservador, manter ferritina >
3343 100ng/dL e saturação da transferrina entre 20%-50%.

3344 8.5. BENEFÍCIOS ESPERADOS

- 3345 -Correção da anemia e, conseqüentemente, melhora da capacidade funcional,
3346 qualidade de vida e redução da morbimortalidade pela insuficiência renal crônica;
- 3347 -Otimização das doses de alfaepoetina.

3348 9. MONITORIZAÇÃO

3349 Antes do início do tratamento, todos os pacientes devem realizar hemograma
3350 completo, dosagens de ferritina e saturação da transferrina com vistas ao diagnóstico
3351 diferencial de anemia e estabelecimento da deficiência de ferro. Dosagens de hemoglobina,
3352 ferritina e saturação da transferrina devem ser repetidos mensalmente enquanto estiverem
3353 fora do alvo terapêutico. Após, mantém-se dosagens mensais de hemoglobina e trimestrais

3354 de ferritina e saturação da transferrina. O uso de ferro parenteral deve ser suspenso 710
3355 dias antes da realização dos exames.

3356 Deve-se ter atenção especial para casos de anafilaxia com sacarato de hidróxido de
3357 ferro III ou a produtos semelhantes, bem como suspeita de infecção ativa ou insuficiência
3358 hepática.

3359 10. REGULAÇÃO/CONTROLE/AVALIAÇÃO PELO GESTOR

3360 Os pacientes devem ser acompanhados em serviços especializados de
3361 hemodiálise/nefrologia. Há de se observar os critérios de inclusão e exclusão de doentes
3362 neste Protocolo, a duração e monitorização do tratamento, bem como para a verificação
3363 periódica das doses do medicamento prescritas e dispensadas e da adequação de uso.

3364 11. TERMO DE ESCLARECIMENTO E RESPONSABILIDADE

3365 É obrigatória a cientificação do paciente ou de seu responsável legal dos potenciais
3366 riscos, benefícios e efeitos colaterais ao uso de medicamento preconizado neste protocolo.
3367 O TER é obrigatório ao se prescrever medicamento do Componente Especializado da
3368 Assistência Farmacêutica.

3369 12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

3370 1. Kazmi WH, Kausz AT, Khan S, Abichandani R, Ruthazer R, Obrador GT, et al.
3371 Anemia: an early complication of chronic renal insufficiency. Am J Kidney Dis. 2001
3372 Oct;38(4):803-12.

3373 2. Abramson JL, Jurkovitz CT, Vaccarino V, Weintraub WS, McClellan W. Chronic
3374 kidney disease, anemia, and incident stroke in a middle-aged, community-based population:
3375 the ARIC Study. Kidney Int. 2003 Aug;64(2):610-5.

3376 3. Jurkovitz CT, Abramson JL, Vaccarino LV, Weintraub WS, McClellan WM.
3377 Association of high serum creatinine and anemia increases the risk of coronary events:
3378 results from the prospective community-based atherosclerosis risk in communities (ARIC)
3379 study. J Am Soc Nephrol. 2003 Nov;14(11):2919-25.

3380 4. McClellan WM, Flanders WD, Langston RD, Jurkovitz C, Presley R. Anemia and
3381 renal insufficiency are independent risk factors for death among patients with congestive
3382 heart failure admitted to community hospitals: a population-based study. J Am Soc Nephrol.
3383 2002 Jul;13(7):1928-36. 5.Sarnak MJ, Tighiouart H, Manjunath G, MacLeod B, Griffith J,
3384 Salem D, et al. Anemia as a risk factor for cardiovascular disease in The Atherosclerosis
3385 Risk in Communities (ARIC) study. J Am Coll Cardiol. 2002 Jul 3;40(1):27-33.

3386 6. Singh AK, Szczech L, Tang KL, Barnhart H, Sapp S, Wolfson M, et al. Correction of
3387 anemia with epoetin alfa in chronic kidney disease. N Engl J Med. 2006 Nov
3388 16;355(20):2085-98.

- 3389 7. Drueke TB, Locatelli F, Clyne N, Eckardt KU, Macdougall IC, Tsakiris D, et al.
3390 Normalization of hemoglobin level in patients with chronic kidney disease and anemia. *N*
3391 *Engl J Med*. 2006 Nov 16;355(20):2071-84.
- 3392 8. Eschbach JW, Cook JD, Scribner BH, Finch CA. Iron balance in hemodialysis
3393 patients. *Ann Intern Med*. 1977 Dec;87(6):710-3.
- 3394 9. Censo 2008. Sociedade Brasileira de Nefrologia 2008 [updated 2008; cited 2009
3395 30/11/2009]; Available from: [http://www.sbn.org.br/Censo/2008/censo](http://www.sbn.org.br/Censo/2008/censo_SBN2008.pdf)
3396 [SBN2008.pdf](http://www.sbn.org.br/Censo/2008/censo_SBN2008.pdf).
- 3397 10. Anirban G, Kohli HS, Jha V, Gupta KL, Sakhuja V. The comparative safety of
3398 various intravenous iron preparations in chronic kidney disease patients. *Ren Fail*.
3399 2008;30(6):629-38.
- 3400 11. Li H, Wang SX. Intravenous iron sucrose in peritoneal dialysis patients with renal
3401 anemia. *Perit Dial Int*. 2008 Mar-Apr;28(2):149-54.
- 3402 12. Besarab A, Amin N, Ahsan M, Vogel SE, Zazuwa G, Frinak S, et al. Optimization of
3403 epoetin therapy with intravenous iron therapy in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*.
3404 2000 Mar; 11(3):530-8.
- 3405 13. DeVita MV, Frumkin D, Mittal S, Kamran A, Fishbane S, Michelis MF. Targeting
3406 higher ferritin concentrations with intravenous iron dextran lowers erythropoietin
3407 requirement in hemodialysis patients. *Clin Nephrol*. 2003 Nov;60(5):335-40.
- 3408 14. Li H, Wang SX. Intravenous iron sucrose in Chinese hemodialysis patients with
3409 renal anemia. *Blood Purif*. 2008;26(2):151-6.
- 3410 15. Sav T, Tokgoz B, Sipahioglu MH, Devenci M, Sari I, Oymak O, et al. Is there a
3411 difference between the allergic potencies of the iron sucrose and low molecular weight iron
3412 dextran? *Ren Fail*. 2007;29(4):423-6.
- 3413 16. Sheashaa H, El-Husseini A, Sabry A, Hassan N, Salem A, Khalil A, et al.
3414 Parenteral iron therapy in treatment of anemia in end-stage renal disease patients: a
3415 comparative study between iron saccharate and gluconate. *Nephron Clin Pract*.
3416 2005;99(4):c97-101.
- 3417 17. Ruiz-Jaramillo Mde L, Guizar-Mendoza JM, Gutierrez-Navarro Mde J, Dubey-
3418 Ortega LA, Amador-Licona N. Intermittent versus maintenance iron therapy in children on
3419 hemodialysis: a randomized study. *Pediatr Nephrol*. 2004 Jan;19(1):77-81.
- 3420 18. Coyne DW, Kapoian T, Suki W, Singh AK, Moran JE, Dahl NV, et al. Ferric
3421 gluconate is highly efficacious in anemic hemodialysis patients with high serum ferritin and
3422 low transferrin saturation: results of the Dialysis Patients' Response to IV Iron with Elevated
3423 Ferritin (DRIVE) Study. *J Am Soc Nephrol*. 2007 Mar;18(3):975-84.

3424 19. Rozen-Zvi B, Gafter-Gvili A, Paul M, Leibovici L, Shpilberg O, Gafer U. Intravenous
3425 versus oral iron supplementation for the treatment of anemia in CKD: systematic review and
3426 meta-analysis. Am J Kidney Dis. 2008 Nov;52(5):897-906.

3427 20. Gillespie RS, Wolf FM. Intravenous iron therapy in pediatric hemodialysis patients:
3428 a meta-analysis. Pediatr Nephrol. 2004 Jun;19(6):662-6.

3429 21. Kapoian T, O'Mara NB, Singh AK, Moran J, Rizkala AR, Geronemus R, et al. Ferric
3430 gluconate reduces epoetin requirements in hemodialysis patients with elevated ferritin. J Am
3431 Soc Nephrol. 2008 Feb;19(2):372-9.

3432 22. Charytan C, Levin N, Al-Saloum M, Hafeez T, Gagnon S, Van Wyck DB. Efficacy
3433 and safety of iron sucrose for iron deficiency in patients with dialysis-associated anemia:
3434 North American clinical trial. Am J Kidney Dis. 2001 Feb;37(2):300-7.

3435 TERMO DE ESCLARECIMENTO E RESPONSABILIDADE

3436 Sacarato de Hidróxido de Ferro III

3437 Eu, _____ (nome do(a) paciente), declaro
3438 ter sido informado(a) claramente sobre os benefícios, riscos, contra-indicações e principais
3439 efeitos adversos relacionados ao uso do medicamento sacarato de hidróxido de ferro III,
3440 indicado para o tratamento da insuficiência renal crônica.

3441 Os termos médicos foram explicados e todas as minhas dúvidas foram resolvidas pelo
3442 médico _____ (nome do médico que prescreve).

3443 Assim declaro que:

3444 Fui claramente informado(a) de que o medicamento que passo a receber pode trazer
3445 as seguintes melhorias:

3446 -correção da anemia e, conseqüentemente, melhora da capacidade funcional,
3447 qualidade de vida e redução da morbimortalidade pela insuficiência renal crônica;

3448 - otimização das doses de alfaepoetina.

3449 Fui também claramente informado a respeito das seguintes contra-indicações,
3450 potenciais efeitos adversos e riscos:

3451 -não há relato de efeitos adversos fetais com o uso de sacarato de hidróxido de ferro
3452 III em doses usuais durante a gravidez. Entretanto, caso engravide, o médico deverá ser
3453 avisado;

3454 - os efeitos adversos já relatados são os seguintes: dor no local de administração,
3455 alteração da coloração da pele, dor no quadrante inferior abdominal, dor de cabeça, dores
3456 no corpo, taquicardia, calorões, náuseas, vômitos, falta de ar, tonturas;

3457 -possibilidade de reações tardias (em relação a administração) tais como tontura,
3458 desmaio, febre, calafrios, vermelhidão, coceiras, dores pelo corpo, confusão mental;

3459 -possibilidade de reação anafilactóide grave com morte (1 para cada 4 milhões de
3460 doses administradas)

3461 - medicamento está contra-indicado em casos de hipersensibilidade (alergia), em
 3462 hemocromatose, talassemia, anemia falciforme, anemia hemolítica e anemia associada a
 3463 leucemias;

3464 - o risco da ocorrência de efeitos adversos aumenta com a superdosagem.

3465 Estou ciente de que este medicamento somente pode ser utilizado por mim,
 3466 comprometendo-me a devolvê-lo caso não queira ou não possa utilizá-lo ou se o tratamento
 3467 for interrompido. Sei também que continuarei ser atendido, inclusive em caso de eu desistir
 3468 de usar o medicamento.

3469 Autorizo o Ministério da Saúde e as Secretarias de Saúde a fazer uso de informações
 3470 relativas ao meu tratamento, desde que assegurado o anonimato.

3471

Local: Data:		
Nome do paciente:		
Cartão Nacional de Saúde:		
Nome do responsável legal:		
Documento de identificação do responsável legal:		
Assinatura do paciente ou do responsável legal		
Médico Responsável:	CRM:	UF:
Assinatura e carimbo do médico		
Data: _____		

3472

3473 Observação: Este Termo é obrigatório ao se solicitar o fornecimento de medicamento
 3474 do Componente Especializado da Assistência Farmacêutica (CEAF) e deverá ser
 3475 preenchido em duas vias, ficando uma arquivada na farmácia e a outra entregue ao usuário
 3476 ou seu responsável legal.