



Leonardo João de Carvalho e Araújo

**ALTERAÇÕES NOS NÍVEIS DE ELEMENTOS VESTIGIAIS EM
DOENTES EM HEMODIÁLISE**

– RESULTADOS DE UM ESTUDO DE MONITORIZAÇÃO NUMA POPULAÇÃO PORTUGUESA –

Dissertação do 2.º Ciclo de Estudos Conducente ao
Grau de Mestre em Análises Clínicas

Trabalho realizado sob a orientação do
Prof. Doutor Agostinho Almiro de Almeida

Setembro 2013

Declaração de reprodução

É autorizada a reprodução integral desta Dissertação apenas para efeitos de investigação, mediante declaração escrita do interessado, que a tal se compromete.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Agostinho Almiro de Almeida, docente do laboratório de Química Aplicada da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto pela sua inextinguível colaboração ao longo de todo o trabalho, traçando linhas de orientação para o mesmo, sendo uma permanente fonte de conhecimento quer ao nível técnico, quer ao nível científico, constituindo assim um apoio de extrema importância para a realização desta dissertação.

À Diretora Clínica do Centro de Hemodiálise de Ponte da Barca, Dra. Eva Xavier, pela sua total disponibilidade para abraçar este projeto e pela forma como colocou à minha disposição todos os recursos materiais e humanos adequados para a realização das colheitas de amostras biológicas consideradas necessárias para a elaboração deste trabalho. Muito obrigado a todos os enfermeiros e auxiliares deste centro pela colaboração prestada na obtenção das amostras e, claro, também a todos os doentes a realizar hemodiálise no mesmo.

À Diretora Técnica da Clínica Laboratorial de Arcos de Valdevez, Dra. Helena Rodrigues, e restantes colegas de trabalho pela colaboração na reorganização das tarefas laboratoriais visando permitir-me dispor de mais tempo para a execução da componente prática deste trabalho e também na ajuda preciosa ao nível da recolha de amostras em indivíduos não hemodialisados para estabelecimento de uma população controlo.

RESUMO

Definem-se como elementos vestigiais os elementos que existem no organismo humano em quantidades na ordem de $\mu\text{g/g}$ de tecido ou $\mu\text{g/L}$ nos fluidos corporais. Muitos destes elementos têm grande importância quer do ponto de vista bioquímico quer toxicológico. Alguns são eminentemente tóxicos, potencialmente nocivos ao organismo, ao passo que outros são “essenciais”, definindo-se como “essencial” aquele elemento que é indispensável à vida, o que se verifica quando sinais e sintomas bem definidos surgem face a um deficiente aporte e os mesmos se atenuam ou desaparecem ao ser administrado o elemento em questão.

Os pacientes com insuficiência renal crónica submetidos a hemodiálise possuem um risco acrescido de desequilíbrios nos níveis de elementos vestigiais, por fatores que se relacionam com a própria insuficiência renal, que predispõe principalmente à acumulação de substâncias (embora as perdas também se possam verificar, como nas situações de proteinúria), bem como com o processo dialítico em si, o qual pode igualmente originar perdas significativas destes elementos, contribuindo para um défice com consequências a nível biológico, ou ser responsável por situações de excesso (sobrecarga) com potencial toxicidade.

Apesar do amplo conhecimento na literatura atual das implicações que, a nível do organismo, os desequilíbrios nos níveis de elementos vestigiais (tanto dos “tóxicos” como dos “essenciais”) podem induzir, não existem ainda estudos muito aprofundados acerca desta temática no que se refere concretamente aos doentes em hemodiálise (com a notável exceção do alumínio).

Assim, foi estabelecido como objetivo primordial deste trabalho avaliar ao longo de um largo período de tempo o *status* de elementos vestigiais numa população de cerca de 50 indivíduos com diagnóstico de insuficiência renal crónica a realizar tratamento de hemodiálise frequente (média de três vezes/semana), visando estabelecer uma ligação entre os resultados obtidos e a patologia de base e o processo de tratamento ao qual estão submetidos. Para o efeito foram efetuadas colheitas de sangue entre janeiro de 2011 e abril de 2012 em doentes em tratamento num Centro de Hemodiálise de Ponte da Barca, tendo o enfoque do trabalho incidido sobre os elementos vestigiais cobre, zinco, selénio, manganês e chumbo.

Palavras-chave: insuficiência renal crónica; hemodiálise; elementos vestigiais.

ABSTRACT

Trace elements are defined as chemical elements occurring in the human body at $\mu\text{g/g}$ of body tissue or $\mu\text{g/L}$ in body fluids. Many of these elements are important from both a biochemical and toxicological point of view. Some are particularly toxic, potentially noxious to the human body, while others are considered "essential" (i.e., they are indispensable for life), which means that well-defined signs and symptoms appear when a deficient intake exists and they attenuate or disappear when an adequate uptake is re-established.

Patients with chronic renal failure submitted to hemodialysis therapy are at increased risk of imbalances in trace elements levels, which mainly results from the kidney failure itself, that predisposes to their accumulation (although losses can also occur in some situations, such as proteinuria), as well as from the dialysis process, which can also lead to significant losses of trace elements, contributing to a deficiency status with biological consequences, or be responsible for situations of overload, with potential toxicity.

Despite the extensive literature about the implications for the human body of trace element imbalances (both "toxic" and "essential" one), there are still not very detailed studies regarding specifically the hemodialysis patients (with the notable exception of aluminum).

Thus, it was established as the primary objective of this study to evaluate over a long period of time the trace elements status in a population of about 50 individuals diagnosed with chronic renal failure performing frequent hemodialysis therapy (mean of three times / week), in order to establish a link between the results, the underlying disease process and the treatment to which they are subjected. For this purpose blood samples were taken between January 2011 and April 2012 in patients from a Hemodialysis Center at Ponte da Barca. The work has focused on trace elements copper, zinc, selenium, manganese and lead.

Keywords: chronic renal failure; hemodialysis; trace elements.

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	iv
Abstract	v
Índice	vi
Índice de Figuras	viii
Índice de Tabelas	x
Lista de Abreviaturas e Símbolos	xi
CAPÍTULO 1: Introdução e Revisão da Literatura	1
1.1 – Considerações gerais	2
1.2 – Anatomofisiologia renal	3
1.3 – IRC e seus estadios	13
1.4 – IRC terminal: manifestações clínicas e opções terapêuticas	14
1.4.1 – Manifestações clínicas	14
1.4.2 – Opções terapêuticas	16
1.4.2.1 – Hemodiálise	16
1.4.2.2 – Diálise Peritoneal	25
1.4.2.3 – Transplante Renal	28
1.5 – Elementos vestigiais	30
1.5.1 – Caracterização e enquadramento no âmbito da IRC terminal	30
1.5.2 – Aspectos bioquímicos e toxicológicos dos elementos em estudo	33
1.5.2.1 – Chumbo	33
1.5.2.2 – Cobre	35
1.5.2.3 – Manganês	38
1.5.2.4 – Selênio	39
1.5.2.5 – Zinco	43

CAPÍTULO 2: OBJETIVOS	46
CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS	48
3.1 – Colheita das amostras	49
3.2 – Material e reagentes de uso geral	49
3.3 – Análise das amostras	50
3.3.1 – Determinação de cobre e zinco no soro por EAA/chama	50
3.3.2 – Determinação de chumbo e manganês no sangue total por EAA/AE	50
3.3.3 – Determinações por ICP-MS	52
3.4 – Tratamento e análise dos resultados.....	53
CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1 – Chumbo	55
4.2 – Cobre	60
4.3 – Manganês	65
4.4 – Selênio	68
4.5 – Zinco	73
CAPÍTULO 5: CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
5.1 – Conclusões	79
5.2 – Considerações finais	80
CAPÍTULO 6: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

Índice de Figuras

Figura 1 – Anatomia do rim	5
Figura 2 – Estrutura do nefrónio, a unidade funcional do rim	6
Figura 3 – A função excretora e reguladora do rim	8
Figura 4 – Sistema renina-angiotensina-aldosterona	12
Figura 5 – Representação esquemática do processo de hemodiálise	18
Figura 6 – Representação esquemática do processo de diálise peritoneal	26
Figura 7 – Tabela Periódica (elementos essenciais e principais elementos tóxicos)	31
Figura 8 – Resultados obtidos na determinação de Pb	56
Figura 9 – Relação entre os níveis de Pb no sangue e o tempo de permanência em hemodiálise	57
Figura 10 – Resultados obtidos na determinação de Cu	61
Figura 11 – Relação entre os níveis de Cu no soro e o tempo de permanência em hemodiálise	62
Figura 12 – Relação entre os níveis de Cu e de PCR nos doentes em hemodiálise	63
Figura 13 – Resultados obtidos na determinação de Mn	66
Figura 14 – Relação entre os níveis de Mn no sangue total e o tempo de permanência em hemodiálise	67
Figura 15 – Resultados obtidos na determinação de Se	69
Figura 16 – Relação entre os níveis de Se e os níveis de albumina no soro dos doentes em hemodiálise	70
Figura 17 – Relação entre os níveis de Se e os níveis de proteína C reativa no soro dos doentes em hemodiálise	71
Figura 18 – Relação entre os níveis de Se no soro e o tempo de permanência em hemodiálise	72

Figura 19 – Resultados obtidos na determinação de Zn	74
Figura 20 – Relação entre os níveis de Zn e os níveis de albumina no soro dos doentes em hemodiálise	75
Figura 21 – Relação entre os níveis de Zn e os níveis de proteína C reativa no soro dos doentes em hemodiálise	76
Figura 22 – Relação entre os níveis de Zn no soro e o tempo de permanência em hemodiálise	77
Figura 23 – Correlação entre os níveis de Zn e de Se no soro dos doentes em hemodiálise	77

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Manifestações clínicas de IRC, por sistema	15
Tabela 2 – Alterações características observadas nos exames complementares de diagnóstico nos doentes com IRC	15
Tabela 3 – Composição de uma solução dialisante padrão	20
Tabela 4 – Indicadores de qualidade da água para hemodiálise segundo o Manual de Boas Práticas de Hemodiálise	21
Tabela 5 – Indicadores de qualidade microbiológica da solução dialisante e dos concentrados de distribuição central para hemodiálise segundo o Manual de Boas Práticas de Hemodiálise	22
Tabela 6 – Fatores que influenciam a sobrevida do enxerto no transplante renal	29
Tabela 7 – Principais selenoproteínas e respetivas funções no organismo	41
Tabela 8 – CHUMBO: resumo do estudo	55
Tabela 9 – COBRE: resumo do estudo	60
Tabela 10 – MANGANÊS: resumo do estudo	65
Tabela 11 – SELÉNIO: resumo do estudo	68
Tabela 12 – ZINCO: resumo do estudo	73

Lista de Abreviaturas e Símbolos

ADH – Hormona Antidiurética

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

ARN – Ácido Ribonucleico

BFU-E – *Burst-Forming Unit-Erythroid*

CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*

CENOM – Colégio de Especialidade de Nefrologia da Ordem dos Médicos

CFU-E – *Cluster-Forming Unit-Erythroid*

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*

dp – desvio padrão

DPA – Diálise Peritoneal Automatizada

DPCA – Diálise Peritoneal Crónica Ambulatória

EAA – Espectrofotometria de Absorção Atómica

ECA – Enzima Conversora da Angiotensina

GPx – Glutathione Peroxidases

HDL – *High Density Lipoproteins*

HLA – Antígenos leucocitários humanos

ICP-MS – *Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry*

IRC – Insuficiência Renal Crónica

KDOQI – *Kidney Disease Outcome Quality Initiative*

LAL – *Limulus Amebocyte Lysate*

MDA – Malonildialdeído

MDRD – *Modification of Diet in Renal Disease*

NKF – *National Kidney Foundation*

PCR – Proteína C Reativa

PTH – Paratormona ou Hormona da Paratiroide

ROS – Espécies Reativas de Oxigênio

SNC – Sistema Nervoso Central

SOD – Superóxido Dismutase

TAC – Tomografia Axial Computorizada

TBARS – *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*

TFG – Taxa de Filtração Glomerular

UFC – Unidades Formadoras de Colónias

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

VMA – Valores Máximos Admitidos

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1.1 – Considerações gerais

Pode considerar-se a Insuficiência Renal Crônica (IRC) como o resultado de um processo de destruição progressiva do tecido renal que, em fases avançadas e sem o adequado tratamento, seja a diálise (hemodiálise ou diálise peritoneal), seja o transplante renal, poderá conduzir à morte do paciente [1].

Os pacientes com IRC terminal apresentam elevados níveis de morbidade e mortalidade, essencialmente devido a doenças cardiovasculares, mas também por uma maior suscetibilidade a doenças infecciosas e eventos neoplásicos [2].

A hemodiálise é, dentro das possíveis opções terapêuticas, a mais utilizada no tratamento dos pacientes com IRC terminal. Através deste processo é possível a remoção das toxinas sanguíneas, essencialmente pela obtenção de um estado de equilíbrio entre o plasma e uma solução dialisante através de uma membrana semipermeável [3].

A solução dialisante é constituída por água (água de consumo sujeita a um tratamento de purificação), adicionada de quantidades bem definidas de eletrólitos, como sódio, potássio, cálcio, magnésio e cloreto, um agente de tamponamento do pH (bicarbonato de sódio) e, em alguns casos, glicose [4].

Deste modo, substâncias que apresentem na solução dialisante concentrações mais baixas que no sangue tenderão a ser removidas da circulação sanguínea pelo processo dialítico. Sendo um processo baseado neste princípio adequado para a remoção das toxinas urémicas, pode porém ter como “efeito adverso” a remoção do sangue de substâncias essenciais do ponto de vista biológico [3].

Por outro lado, os pacientes sujeitos a tratamento hemodialítico frequente são expostos a volumes muito significativos de solução dialisante. Daí pode resultar que substâncias potencialmente tóxicas, mesmo que presentes nessa solução em concentrações muito reduzidas, tenham a possibilidade de se irem acumulando progressivamente no organismo do paciente, podendo originar toxicidade relevante [3].

Os elementos vestigiais, de acordo com os critérios do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), dos EUA, são elementos que estão presentes nos fluidos biológicos e nos tecidos em quantidades muito reduzidas, na ordem dos 10 a 10⁴ µg/L ou 0,01 a 100 µg/g, respetivamente [5]. Numa classificação simplista mas útil, os elementos vestigiais podem dividir-se em “essenciais” ou “tóxicos”, conforme são necessários para a manutenção da vida ou induzem toxicidade mesmo quando presentes em concentrações

relativamente baixas. De notar, porém, que também os elementos essenciais se podem tornar extremamente tóxicos, ultrapassados que sejam determinados níveis de concentração. No entanto, é geralmente o défice destes elementos que conduz ao estado de doença, sendo o excesso causa menos frequente. Este pode resultar de intoxicação accidental ou deliberada, aguda ou crónica, ou de defeito genético associado ao metabolismo (temos como exemplo o cobre, e a associação de uma sobrecarga no organismo com uma anomalia genética que se traduz na sua inadequada excreção hepatobiliar, que é no fundo a base fisiopatológica da doença de Wilson) [6].

Neste trabalho foi dado enfoque a cinco elementos vestigiais: quatro elementos “essenciais” (cobre, zinco, selénio e manganês) e um elemento eminentemente “tóxico”, o chumbo.

O objetivo principal foi investigar uma possível associação entre a bem reconhecida acrescida morbidade e mortalidade que se observa nos doentes com IRC submetidos a hemodiálise regular e um eventual desequilíbrio nos seus níveis daqueles elementos vestigiais.

1.2 – Anatomofisiologia renal

Sendo fundamental para os tecidos vivos, o metabolismo celular conduz também, por outro lado, à geração de resíduos tóxicos, que é necessário remover. A homeostase, ou seja, o estado de equilíbrio do ambiente celular interno, é essencial para a continuidade da vida, tendo os rins um papel fundamental na sua manutenção, sendo que, desde que um terço de um dos rins se mantenha funcional, a sobrevivência é possível. Pelo contrário, se a capacidade funcional dos rins se perder totalmente e não for instituído tratamento específico, a morte é inevitável [7].

O sistema urinário, em conjunto com outros órgãos, assegura a regulação do volume corporal e a manutenção da composição do líquido intersticial dentro de uma estreita margem de valores. Os rins são os principais órgãos com função excretora, assegurando a remoção do sangue da maioria dos produtos de degradação (subprodutos do metabolismo), produtos esses com capacidade de induzir toxicidade em muitos casos. Assumem igualmente um papel de destaque no controlo da volemia, da concentração dos eletrólitos e do pH do sangue. Por outro lado, têm funções endócrinas, tendo um papel importante na regulação da produção de eritrócitos e no metabolismo da vitamina D (e do cálcio, conseqüentemente). Órgãos como a pele, o fígado, os pulmões e os intestinos têm também a capacidade de eliminar alguns produtos de degradação, mas se

os rins deixarem de funcionar, estes órgãos excretores “acessórios” não são capazes de compensar essa disfunção adequadamente [7].

Os rins, um órgão par, localizam-se um pouco abaixo do diafragma, junto à parede posterior do abdómen, atrás do peritoneu, um de cada lado da coluna vertebral. Possuem uma forma característica, em feijão, com aproximadamente 12 cm de comprimento, 6 cm de largura, 4 cm de espessura e cerca de 150 gramas de peso [7,8].

Cada rim está coberto por uma cápsula, constituída por tecido conjuntivo fibroso, que por sua vez está envolta por uma consistente camada de tecido adiposo, tendo por função essencial a proteção dos rins face a lesões e impactos. A fixação do rim e respetiva camada de tecido adiposo à parede posterior do abdómen é feita através da fáschia renal, uma fina bainha de tecido conjuntivo. Na face interna do rim localiza-se uma fenda vertical, o hilo renal, por onde a artéria renal e os nervos renais entram e a veia renal e os ureteres saem do mesmo. No hilo, a veia renal localiza-se anteriormente à artéria renal, que por sua vez está anterior à pelve renal, sendo que esta fenda constitui a abertura para uma cavidade constituída por tecido conjuntivo e gordura, o seio renal [7,8].

O rim divide-se essencialmente em duas zonas: a interna, chamada medula, que circunda o seio renal, e a externa, ou córtex.

A zona medular é constituída por 10 a 18 estruturas cónicas ou piramidais, denominadas pirâmides de Malpighi, em que as respetivas bases e lados contactam com a zona cortical e os vértices fazem saliência nos cálices renais. Estas saliências constituem as papilas, sendo cada uma destas perfurada por cerca de 10 a 25 orifícios. A partir da base de cada pirâmide de Malpighi surgem cerca de 400-500 raios medulares, formações alongadas que penetram na zona cortical. Esta zona cortical é contínua e preenche o espaço deixado pelas pirâmides de Malpighi, nomeadamente o espaço que fica compreendido entre estas e a cápsula que envolve o lado convexo do rim [9].

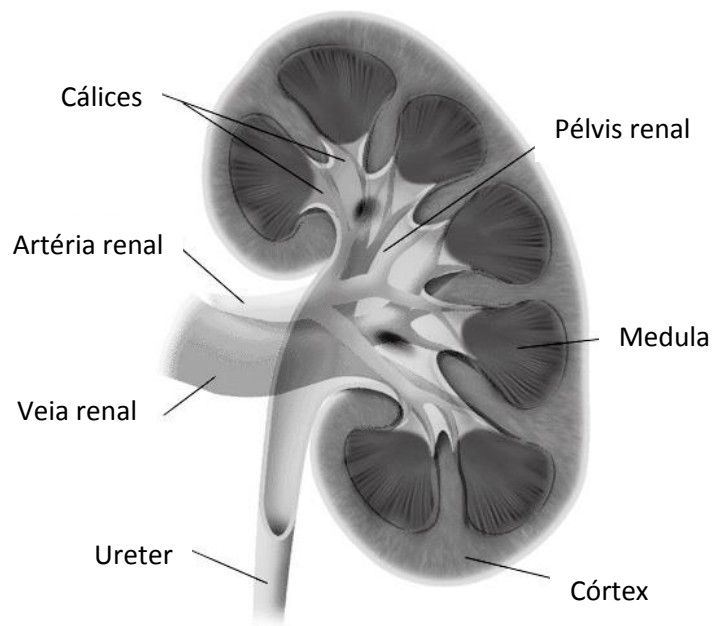


Figura 1 – Anatomia do rim.¹

A unidade funcional do rim é o nefrónio, possuindo cada rim cerca de 1 milhão de nefrónios, sendo que pelo menos um terço destes terá que estar funcional para existir função renal mínima que assegure a vida [7].

O nefrónio é constituído por uma parte dilatada, o corpúsculo renal (um tufo de capilares que constituem o glomérulo, envolvidos pela cápsula de Bowman), o tubo contornado proximal, os ramos ascendente e descendente da ansa de Henle e o tubo contornado distal. O corpúsculo renal, tubo contornado proximal e tubo contornado distal localizam-se na zona cortical, ao passo que os ramos ascendente e descendente da ansa de Henle localizam-se na zona medular do rim [9,10].

¹ Fonte: <http://www.childrenshospital.org/health-topics/conditions/horseshoe-kidney>

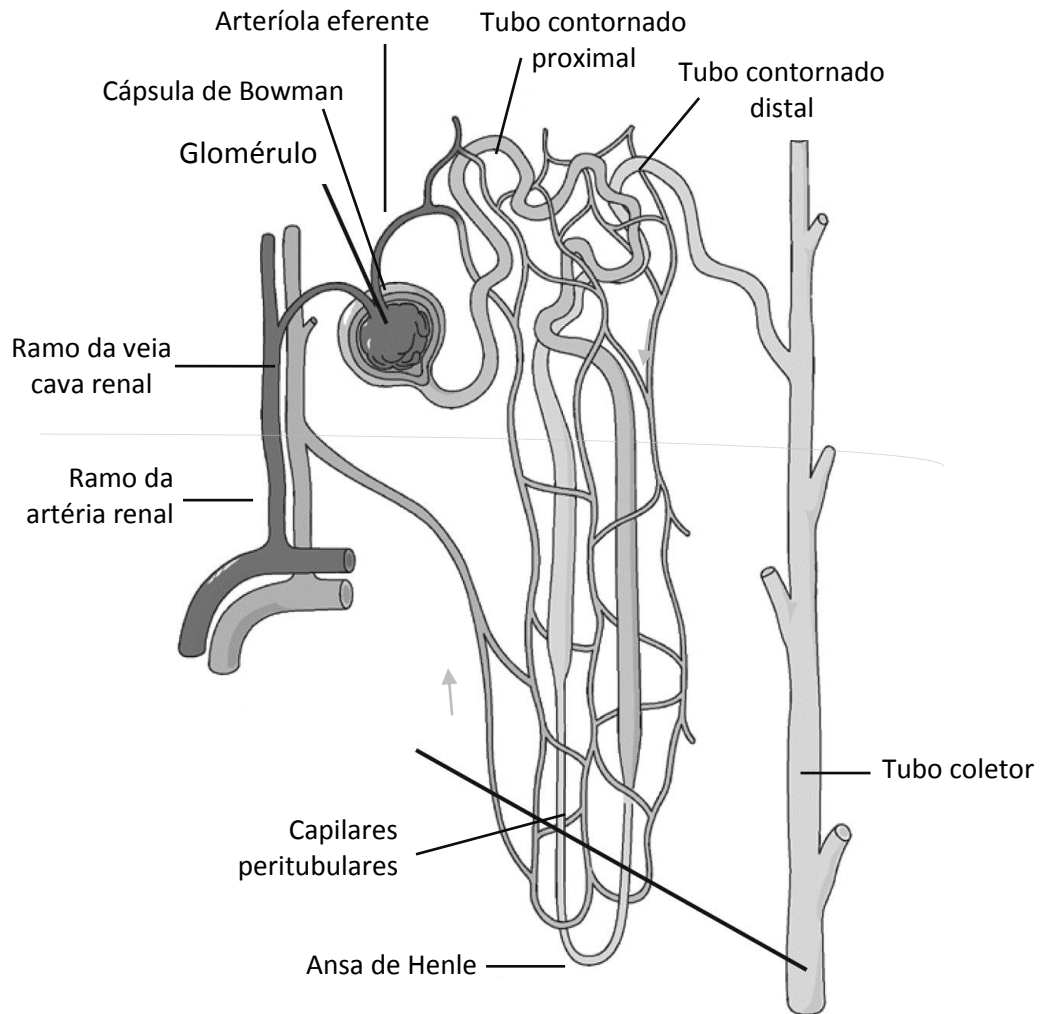


Figura 2 – Estrutura do nefrônio, a unidade funcional do rim.²

Nos glomérulos ocorre a fase inicial de produção da urina, sendo que o sangue que entra no novelo vascular é filtrado, originando um líquido aquoso, chamado filtrado glomerular (ou “urina primitiva”), que sai posteriormente pela artériola eferente e é transportado pelo tubo renal. Estes tubos renais estão envolvidos por uma rede de pequenos vasos sanguíneos através dos quais se efetua a troca constante de substâncias entre o filtrado glomerular e o sangue, constituindo esta a segunda fase de produção da urina. O conjunto dos tubos renais dá origem a um sistema de canais através do qual a urina é conduzida até ao bacinete. A partir deste reservatório segue depois pelos ureteres até à bexiga [8].

No início deste capítulo foram já referidas aquelas que são as funções principais do rim. No entanto, agora, após uma descrição detalhada da anatomia renal, é possível aprofundar essa questão.

² Fonte: <https://catalog.niddk.nih.gov/imagegallery/searchresults.cfm>

Assim, as funções do rim podem ser divididas em três componentes: excretora, reguladora e endócrina.

a) Função excretora

A função excretora refere-se essencialmente ao papel do rim na eliminação, do organismo, da maioria dos indesejáveis produtos finais do metabolismo, bem como de qualquer excesso de compostos inorgânicos provenientes da dieta. Entre os produtos excretados destacam-se compostos azotados não proteicos como a ureia, a creatinina e o ácido úrico, sendo que, para além deste último, outros ácidos orgânicos, incluindo aminoácidos, são também excretados, embora em reduzidas quantidades. A dieta contém uma quantidade variável, e muitas vezes excessiva, de sódio, potássio, cloreto, cálcio, fósforo, magnésio, sulfato e bicarbonato. Porém, a extraordinária eficácia da função excretora do rim fica bem evidenciada no caso do sódio, sendo que o conteúdo corporal deste eletrólito é mantido numa estreita faixa de valores, independentemente do aporte diário poder variar de 1 a mais de 150 mmol [11]. O aporte diário de água é também bastante variável e pode em algumas ocasiões exceder largamente a quantidade que o corpo necessita. Nessas circunstâncias, a água torna-se um produto que é necessário remover. Com o propósito de conseguir a excreção dos produtos finais do metabolismo bem como dos próprios excessos alimentares sem comprometer a homeostasia, os rins exercem simultaneamente a sua função excretora e reguladora.

Os mecanismos para a excreção do excesso de eletrólitos, compostos azotados não proteicos e ácidos orgânicos são semelhantes mas não exatamente iguais. Para todos eles, com exceção do potássio, ião hidrogénio (H^+) e alguns ácidos orgânicos, a capacidade ou nível máximo de excreção é limitado ou estabelecido pelas suas concentrações plasmáticas e também pela sua taxa de filtração através do glomérulo.

A massa de substâncias que é transferida do sangue determina a carga inicial com a qual o nefrónio opera para produzir urina. Deste modo, para uma determinada substância, a quantidade excretada na urina não excede nunca a quantidade que foi previamente transferida do sangue através do glomérulo, pelo processo de ultrafiltração, exceto nos casos em que essa substância possa ser secretada a nível dos tubos contornados. De acordo com a atividade das células epiteliais tubulares renais e a sua maior ou menor capacidade de reabsorção, sucede que na maioria das situações a quantidade de substâncias efetivamente excretadas na urina é menor do que aquela que foi inicialmente filtrada a nível do glomérulo. Devido a este facto, para efeito de avaliação da capacidade funcional do rim muitas substâncias são consideradas inadequadas, sendo a creatinina uma das mais notáveis exceções. Efetivamente trata-se de uma substância muito

eficientemente excretada pelos rins, ou seja, não é praticamente reabsorvida a nível dos tubos e a sua excreção é muito menos afetada pelos níveis de fluxo sanguíneo e de produção de urina do que, por exemplo, a ureia. As alterações temporárias no fluxo sanguíneo e na atividade glomerular são compensadas por alterações de sinal contrário na secreção tubular da molécula. Assim, a creatinina apresenta uma variação individual muito reduzida, quer a nível da sua concentração sanguínea quer da sua excreção urinária diária [11,12].

b) Função reguladora

A função reguladora dos rins tem um papel determinante na homeostasia. Os mecanismos de reabsorção e secreção, assumidos pelos tubos nos nefrónios, são os efetores dessa mesma regulação. O tubo contornado proximal está ligado principalmente ao processo de reabsorção, sendo que neste tubo cerca de 75% do sódio, do cloreto e da água do filtrado glomerular são reabsorvidos, bem como uma grande parte do bicarbonato, do potássio, do cálcio e do fósforo.

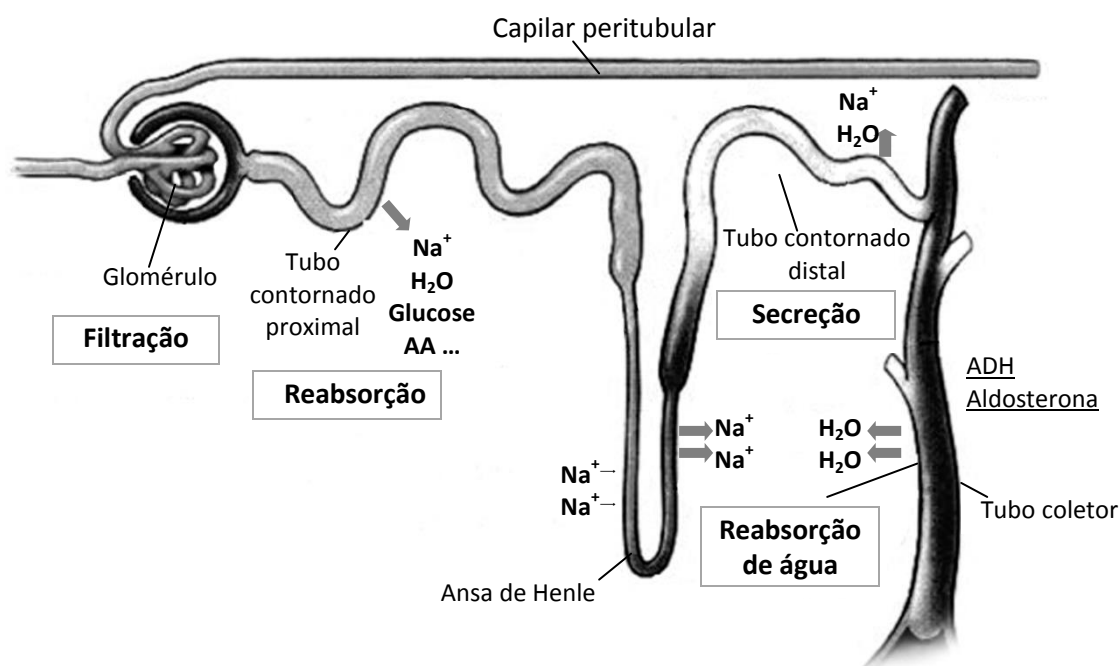


Figura 3 – A função excretora e reguladora do rim.³

No que se refere á água, a sua reabsorção nesta fase é crucial uma vez que o volume reabsorvido está diretamente relacionado com a grande massa de solutos que regressam ao sangue através da arteríola eferente. Em relação ao bicarbonato, a sua reabsorção está relacionada com a taxa de filtração glomerular (TFG) e com a maior ou menor

³ Adaptado de: <http://people.eku.edu/ritchisong/lec12.htm>

secreção de íons H^+ . No caso do fósforo, a reabsorção é controlada em parte pela concentração plasmática de cálcio e também pelo efeito da paratormona (PTH) nas células tubulares. Em relação à glicose e aos aminoácidos, estes são reabsorvidos através de um sistema específico, intracelular, de transporte ativo, e no caso do ácido úrico, este pode ser reabsorvido ou secretado no tubo contornado proximal por um sistema de transporte mediado, bidirecional [11].

No ramo descendente da ansa de Henle verifica-se a difusão do sódio para o filtrado glomerular à medida que o tubo vai penetrando mais profundamente na zona medular, sendo que por sua vez a água abandona a urina primitiva decorrente das elevadas concentrações de sódio, de que resulta uma redução do volume do filtrado glomerular e um acentuado incremento da sua osmolaridade [7].

No ramo ascendente da ansa de Henle, cerca de 20 a 25% do sódio filtrado é reabsorvido, sem a correspondente reabsorção de água. Este processo dá origem a uma urina diluída, com uma osmolaridade de 100 a 150 mOsm/kg, e ajuda a estabilizar o gradiente osmótico corticomedular. A urina primitiva, passando seguidamente para o tubo contornado distal e tubo coletor, apesar de diminuir de volume, vai manter-se hipotónica devido à reabsorção de sódio. Nestas duas últimas zonas entra em ação a hormona antidiurética (ADH), que promove a reabsorção de água para o tecido intersticial, com vista a garantir o equilíbrio hídrico. Há assim um aumento da osmolaridade, o que origina a eliminação de urina hipertónica [7,11].

Assim, se o organismo humano não dispusesse do mecanismo vital, a nível renal, que assegura a conservação (por reabsorção) da água do filtrado glomerular, teríamos certamente um cenário de desidratação. Tal como já foi referido, cabe à ADH, sintetizada pelo hipotálamo e armazenada na hipófise posterior, o controlo deste mecanismo que possibilita a concentração da urina a 1% do volume que é filtrado diariamente [7,13].

A libertação da ADH é efetuada mediante um estímulo que tem origem em osmorreceptores, no hipotálamo. Deste modo, quando se verifica um aumento da osmolaridade intracelular, aqueles recetores entram em ação enviando impulsos nervosos para as células da hipófise posterior que, por sua vez, libertam a ADH.

Para além dos osmorreceptores, também os barorreceptores, que são mecanorreceptores localizados no seio carotídeo e no arco da aorta e têm funções de regulação da pressão sanguínea, estimulam a libertação de ADH. Normalmente, a secreção de ADH é estimulada quando a osmolaridade plasmática atinge valores superiores a 285 mOsm/L, sendo que estímulos de ordem psicológica também interferem com a sua libertação,

embora as explicações para esse facto ainda não sejam claramente conhecidas. Durante períodos de privação de água, o reflexo da sede e a secreção de ADH atuam de forma sinérgica com vista à estabilização da água corporal. Uma alteração de apenas 2% na osmolaridade do plasma é suficiente para a ativação dos centros osmorreguladores no hipotálamo com vista à sua normalização. Alterações do volume sanguíneo também constituem estímulo para a secreção de ADH, sendo o limiar para esse mesmo estímulo uma alteração de cerca de 10% no volume sanguíneo. A secreção de ADH sofre ainda interferência de certos fármacos, sendo que as substâncias colinérgicas, os barbitúricos, os opiáceos (como a morfina), a histamina e a nicotina estimulam a sua secreção, enquanto o álcool e a fenitoína a inibem [13].

Apesar da sua eminente importância, a ADH não é o único regulador do volume e da concentração urinária. Assim, a destruição do tecido renal – nomeadamente dos nefrónios onde a ADH exerce a sua função mais importante, ou seja, os nefrónios justamedulares – prejudica a capacidade de concentração urinária da mesma forma que uma reduzida TFG. Se estivermos perante uma carga muito significativa de solutos a serem excretados, o volume e concentração urinários serão elevados, tendo a ADH neste caso um papel muito relativo. Estamos então perante o fenómeno de diurese osmótica, a qual ocorre, por exemplo, em situações de hiperglicemia, ingestão de manitol ou uso de meios de contraste radiológico. Outra situação que pode originar uma diurese de alta concentração é a alteração na atividade mineralocorticoide a nível dos túbulos renais, ao passo que a ingestão anormal de líquidos, como acontece na polidipsia psicogénica, está na origem de uma diurese de baixa concentração, uma vez que, como existe a passagem de grandes volumes de líquido ao longo dos túbulos, o epitélio tubular perde temporariamente a sua sensibilidade a ADH [13].

O tubo contornado distal é, do ponto de vista funcional, a zona mais ativa do nefrónio no que se refere à regulação homeostática dos eletrólitos e do equilíbrio ácido-base. Neste local ocorre uma combinação de mecanismos de secreção e reabsorção envolvendo o sódio, o potássio e o ião H^+ . Apesar do excesso de iões H^+ do plasma poder ser eliminado através da sua secreção ao longo deste tubo, é também neste local que se efetua a troca de H^+ por Na^+ (que por sua vez é reabsorvido), melhorando desta forma o balanço entre as perdas de H^+ e a sua retenção. Adicionalmente, existem aniões inorgânicos, como o acetoacetato e o β -hidroxibutirato, que consomem iões H^+ aquando da sua eliminação, em parte na forma ácida não dissociada. Quando existe a necessidade de manutenção dos níveis de H^+ (para manutenção do pH plasmático), as células do tubo contornado distal reduzem a sua secreção, a produção de NH_4^+ e as trocas de Na^+ por H^+ , aumentando por outro lado a excreção de bicarbonato. A

aldosterona, hormona produzida no córtex da glândula suprarrenal, é um regulador importante na reabsorção de Na^+ no tubo contornado distal, essencialmente quando o organismo necessita de conservar Na^+ . A produção de aldosterona é estimulada pelo sistema renina-angiotensina e também por concentrações plasmáticas elevadas de K^+ , o qual, à semelhança do H^+ , é também secretado no tubo contornado distal [11].

c) Função endócrina

As funções endócrinas dos rins podem ser consideradas primárias, quando estes produzem efetivamente hormonas, ou secundárias, quando os rins constituem um local para a ativação de pró-hormonas. Considerando a sua função endócrina primária, os rins produzem eritropoietina, renina e prostaglandinas [7,11].

A eritropoietina é uma hormona produzida essencialmente pelas células intersticiais peritubulares do rim e, embora não seja armazenada neste órgão, são a função renal e os níveis de oxigénio os principais fatores que estimulam a sua produção. Assim, situações de hipoxia tecidual, ou seja, qualquer estado em que esteja envolvida uma redução nos níveis de oxigénio nos tecidos, como acontece em situações baixos de níveis de hemoglobina, ineficientes trocas gasosas respiratórias ou reduzido fluxo sanguíneo, são indutoras de um aumento dos níveis de eritropoietina, desde que a função renal não esteja afetada de forma significativa.

Deste modo, a nível plasmático teremos concentrações elevadas de eritropoietina em grande parte das anemias, nas anomalias da hemoglobina, nas patologias de ordem pulmonar e em caso de distúrbios circulatórios significativos. A capacidade da eritropoietina em estimular a produção hematopoiética está dependente de um aporte adequado de nutrientes e minerais (aqui assumindo grande importância o ferro, o ácido fólico e a vitamina B12) à medula óssea, sendo que a produção eritrocitária está intimamente ligada à maior ou menor capacidade de resposta da própria medula. No caso dos doentes com IRC, a produção de eritrócitos obviamente persiste, embora em quantidades muito inferiores ao normal, resultado da insuficiente produção de eritropoietina, por sua vez decorrente da progressiva degradação da função renal. A eritropoietina potencia praticamente todas as fases de produção eritrocitária, sendo que o seu efeito potenciador da dinâmica de divisão e proliferação das células-tronco comprometidas (BFU-E: *burst-forming unit-erythroid* e CFU-E: *cluster-forming unit-erythroid*) é muito significativo. Para além deste aspeto, a eritropoietina afeta ainda outros fatores de grande importância na eritropoiese. Nomeadamente, aumenta a taxa de divisão celular, reduz o tempo de maturação dos precursores eritrocitários, favorece a incorporação de ferro nos eritrócitos jovens e causa reticulocitose, isto é, promove o

aumento do número de reticulócitos (glóbulos vermelhos imaturos) na circulação periférica [14,15].

A renina é uma hormona libertada pelo aparelho justaglomerular do nefrónio após clivagem da pró-renina, que é produzida no fígado. Constituem estímulos primários para a libertação de renina a redução da perfusão renal e a hiponatremia. A sua libertação é ainda influenciada pelo sistema nervoso simpático e por influências endócrinas (angiotensinogénio II e ADH), o endotélio, as prostaglandinas e o péptido atrial natriurético. Na presença da renina, o angiotensinogénio (produzido no fígado) é ativado a angiotensina I, sendo que a nível pulmonar ocorre a “ativação” desta, dando origem à angiotensina II, a qual tem propriedades vasoconstritoras e constitui um fator de estimulação da aldosterona. O sinergismo destas duas últimas ações tem como resultado um aumento da tensão arterial. É justamente uma ativação inadequada do eixo renina-angiotensina-aldosterona (Figura 4) que está na base da hipertensão associada à patologia renal (seja por oclusão da artéria renal, IRC ou rejeição de transplante renal): uma perfusão renal diminuída origina a ativação do eixo renina-angiotensina-aldosterona [7,11].

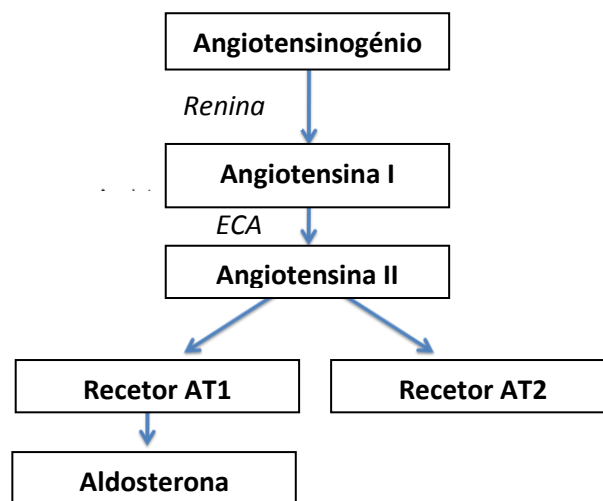


Figura 4 – Sistema renina-angiotensina-aldosterona.

As prostaglandinas e os tromboxanos são sintetizados a partir do ácido araquidónico pelo complexo enzimático ciclooxygenase, presente em diversas partes do rim, como o endotélio arteriolar e mesangial, epitélio glomerular, interstício renal e células tubulares. Estas substâncias exercem uma ação local, seja por vasoconstrição ou vasodilatação, com o objetivo de manter o fluxo renal e a TFG, fazendo assim face a oscilações de perfusão e alterações a nível endócrino. Em casos patológicos, como por exemplo na glomerulonefrite aguda, o tromboxano A2 e vários tipos de prostaglandinas podem

desempenhar um papel importante no processo de inflamação e alteração do tónus vascular que caracteriza esta patologia. Noutras situações patológicas, como a rejeição aguda de transplante renal, a toxicidade por ciclosporina (imunossupressor), o síndrome hepatorenal e a progressão de várias formas de IRC, está também colocada a hipótese de existir uma ligação entre as mesmas e uma produção anormal de prostaglandinas e tromboxano A2 [11].

No que se refere à função endócrina secundária, é importante referir o papel do rim no metabolismo da vitamina D, uma denominação genérica que engloba diversos esteróis lipossolúveis que entram no organismo numa forma inativa, necessitando de posterior conversão *in vivo* à forma ativa. O composto mais relevante do ponto de vista biológico é o 1,25-dihidroxicolecalciferol, o qual é produzido nos rins por hidroxilação do 25-hidroxicolecalciferol, sob ação da enzima 1,25-dihidroxicolecalciferol hidroxilase, sendo que aquele composto final (forma ativa da vitamina D) é distribuído através da circulação sanguínea para o intestino delgado e para o osso, os seus órgãos alvo. A atividade da enzima responsável pelo processo de hidroxilação é grandemente dependente da integridade da função renal, mas também de outros fatores, como sejam os níveis de PTH, acidose metabólica, concentração de fósforo e, inclusive, níveis de hormonas como a prolactina e a somatotrofina.

Num cenário de hipocalcemia, o 1,25-dihidroxicolecalciferol aumenta a absorção de cálcio e fósforo da dieta, potenciando também a ação da PTH na mobilização óssea desses mesmos minerais com o objetivo de regular e estabilizar as suas concentrações séricas [11,16].

1.3 – IRC e seus estadios

A IRC é presentemente definida como a verificação de um dos seguintes critérios por um período superior a 3 meses: i) presença de lesão renal evidenciada por exames laboratoriais (proteinúria, hematúria; alteração histológica evidenciada por biópsia) ou por imagiologia (obstrução, atrofia); ii) TFG $<60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ calculada pela fórmula de Cockcroft-Gaulton ou de acordo com o estudo *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD) [17].

Esta patologia surge muitas vezes como consequência de outras patologias – glomerulonefrite, diabetes mellitus, hipertensão, pielonefrite, rins policísticos – existindo casos, porém, onde não se encontra qualquer causa, circunstâncias em que se fala de IRC idiopática [18].

De acordo com os critérios acima referidos, a *Kidney Disease Outcome Quality Initiative* (KDOQI) da *National Kidney Foundation* (NKF) propôs a divisão da IRC em 5 diferentes estadios [17,19]:

- Estadio 1: existência de lesão renal, com TFG ≥ 90 mL/min;
- Estadio 2: existência de lesão renal, com TGF entre 60 a 89 mL/min;
- Estadio 3: redução moderada da TFG (entre 30 e 59 mL/min);
- Estadio 4: redução acentuada da TFG (entre 15 e 29 mL/min);
- Estadio 5: TFG < 15 mL/min.

1.4 – IRC terminal: manifestações clínicas e opções terapêuticas

1.4.1 – Manifestações clínicas

O estado de insuficiência renal terminal corresponde ao estadio 5 da classificação acima descrita (ponto 1.3). Nesta fase, a instituição de terapêutica substitutiva da função renal é já necessária, se bem que no doente com IRC o início da diálise deva ser programado de forma a tentar reduzir significativamente as graves consequências da uremia e outros fatores de morbilidade futura [17,20].

Esta fase caracteriza-se essencialmente pelo surgimento nos pacientes da denominada “síndrome urémica”, a manifestação clínica de insuficiência renal terminal. Esta entidade é na realidade um conjunto de sintomas, sinais físicos e achados anormais nos exames de diagnóstico, os quais resultam da incapacidade por parte dos rins de assegurar uma adequada função excretora, reguladora e endócrina, levando a que níveis elevados de produtos catabólicos azotados e outras toxinas se acumulem, produzindo efeitos tóxicos no organismo [11,21].

Constituem sinais clássicos do estado urémico a fadiga e fraqueza progressivas, perda de apetite com surgimento de náuseas e vômitos, perda de massa muscular, tremores, confusão mental e acidose metabólica. Poderá surgir um estado de estupor, coma e mesmo a morte, caso não seja atempadamente providenciada terapêutica renal de substituição, seja por hemodiálise, por diálise peritoneal ou através de transplante renal [11].

Na tabela 1 resumem-se de forma sucinta e por sistema as diferentes manifestações clínicas da IRC. Na tabela 2 resumem-se as alterações observadas nos exames complementares de diagnóstico.

Tabela 1 – Manifestações clínicas de IRC, por sistema [21].

Sistema	Manifestações clínicas
Urinário	Noctúria, poliúria, oligúria, edema, hipercalemia, acidose metabólica, hiperfosfatemia, hipermagnesemia
Cardiovascular	Hipertensão arterial sistêmica, pericardite, insuficiência cardíaca congestiva
Hematológico	Anemia, coagulopatias
Gastrointestinal	Anorexia, náuseas, vômitos, hemorragia digestiva
Neurológico	Fadiga, insônia, neuropatia periférica
Músculo-esquelético	Osteodistrofia renal, miopatia proximal
Endócrino	Diminuição da tolerância à glicose, infertilidade, amenorreia, disfunção erétil, hiperuricemia, dislipidemia

Tabela 2 – Alterações características observadas nos exames complementares de diagnóstico nos doentes com IRC [21].

Exames complementares de diagnóstico	Alterações características
Exames laboratoriais	<i>Séricas:</i> elevação da ureia, creatinina, fósforo, ácido úrico, potássio, magnésio, fosfatase alcalina, PTH, glicose, colesterol e triglicédeos. Diminuição do bicarbonato, cálcio, ferro, albumina, 1,25-dihidroxicolecalciferol e eritropoietina. <i>Urinárias:</i> isostenúria, proteinúria.
Exames de imagiologia	Rins em geral atróficos na tomografia axial computadorizada (TAC) e/ou ecografia renal, com exceção de patologias como diabetes mellitus, disproteinemias, rins policísticos e hidronefrose bilateral, em que as dimensões renais podem estar dentro da normalidade ou aumentadas.

A diálise é geralmente iniciada nos pacientes adultos quando a TFG atinge os 10 mL/min, embora a necessidade de instituir ou não terapêutica substitutiva da função renal deva começar a ser ponderada quando o doente atinge uma TFG entre os 15 a 20 mL/min [22].

Para além do critério do valor da TFG, existem outros fatores que podem justificar o início de uma terapêutica deste tipo:

- Presença de sobrecarga de fluidos ou edema pulmonar refratários à terapêutica com diuréticos;
- Náuseas persistentes, vômitos e perda ponderal;

- Hipertensão não controlada, apesar de instituição de adequada terapêutica anti-hipertensora, especialmente se associada a sobrecarga de fluidos;
- Encefalopatia ou neuropatia periférica urêmica progressiva que se manifesta por confusão, asterixis, mioclonias e convulsões;
- Presença de pericardite urêmica;
- Diátese hemorrágica, evidenciada por tempo de hemorragia prolongado;
- Anemia refratária à terapêutica com ferro e eritropoietina;
- Hipercalemia refratária à restrição dietética e ao tratamento farmacológico;
- Hiperfosfatemia refratária à orientação nutricional e à terapêutica envolvendo quelantes de fósforo [20,22].

1.4.2 – Opções terapêuticas

1.4.2.1 – Hemodiálise

A hemodiálise constitui a terapêutica renal de substituição mais utilizada a nível mundial [21]. Consiste essencialmente na difusão de solutos através de uma membrana semipermeável [20], ou seja, uma lâmina perfurada por pequenos orifícios ou poros [23] e que separa o sangue de uma solução denominada “solução dialisante”. Essa difusão faz-se segundo um gradiente de concentração, possibilitando desse modo a remoção dos resíduos metabólicos e o restabelecimento de níveis adequados dos diversos iões e substâncias com poder tampão no sangue [20].

Para além deste processo de “difusão simples” (a expressão utilizada para referir o movimento das moléculas e iões de uma zona com elevada concentração de solutos para outra com baixa concentração dos mesmos) [21] na hemodiálise está também envolvido um processo de ultrafiltração, o qual visa a redução do volume do espaço intravascular do paciente. Pretende-se que assim possa ser restabelecido o balanço hídrico, uma vez que os doentes com IRC apresentam geralmente oligúria [20,23], não conseguindo por isso realizar a adequada eliminação da água acumulada pela ingestão de líquidos ou resultante do metabolismo dos próprios alimentos [23].

Neste processo de ultrafiltração, a água movimenta-se do sangue para a solução dialisante, sendo este movimento resultante do gradiente de pressão hidrostática entre os dois compartimentos: sangue e solução dialisante [23]. Esta remoção de água através de ultrafiltração implica a concomitante remoção de solutos de baixo peso molecular nela dissolvidos, denominando-se esse processo por convecção ou “arrasto pelo solvente”. No que respeita aos solutos de maior peso molecular, nomeadamente os de tamanho

superior ao dos poros da membrana, estes são retidos, sendo que neste caso a membrana funciona então como uma espécie de crivo ou tamis [21,23].

Para ser possível efetuar a diálise do sangue é necessário haver um acesso direto à circulação sanguínea, o que geralmente é feito através de uma fístula arteriovenosa, ou seja, uma anastomose direta, construída cirurgicamente, de uma artéria a uma veia, por onde o sangue sai para o circuito extracorporal, e por onde entra novamente para o sistema circulatório do paciente depois de purificado [20].

Durante o processo de hemodiálise propriamente dito, o sangue do paciente, após adição de anticoagulante (heparina, o mais frequente, ou citrato), é bombeado através do dialisador (dispositivo formado por dois compartimentos constituídos por um feixe de fibras capilares (ocas) e separados entre si por uma membrana sintética semipermeável), a um caudal que oscila entre 300 e 500 mL/min. Assim, de um lado da membrana temos o circuito do sangue, ao passo que do lado oposto, e em sentido inverso, a um caudal de 500 a 800 mL/min, circula a solução dialisante, solução com uma composição eletrolítica *grosso modo* semelhante à do plasma humano (o potássio constitui a mais importante exceção, estando habitualmente em quantidades inferiores à do plasma, cerca de 2 mEq/L, a fim de se corrigir a hipercalemia que os doentes com IRC geralmente apresentam) [20,24].

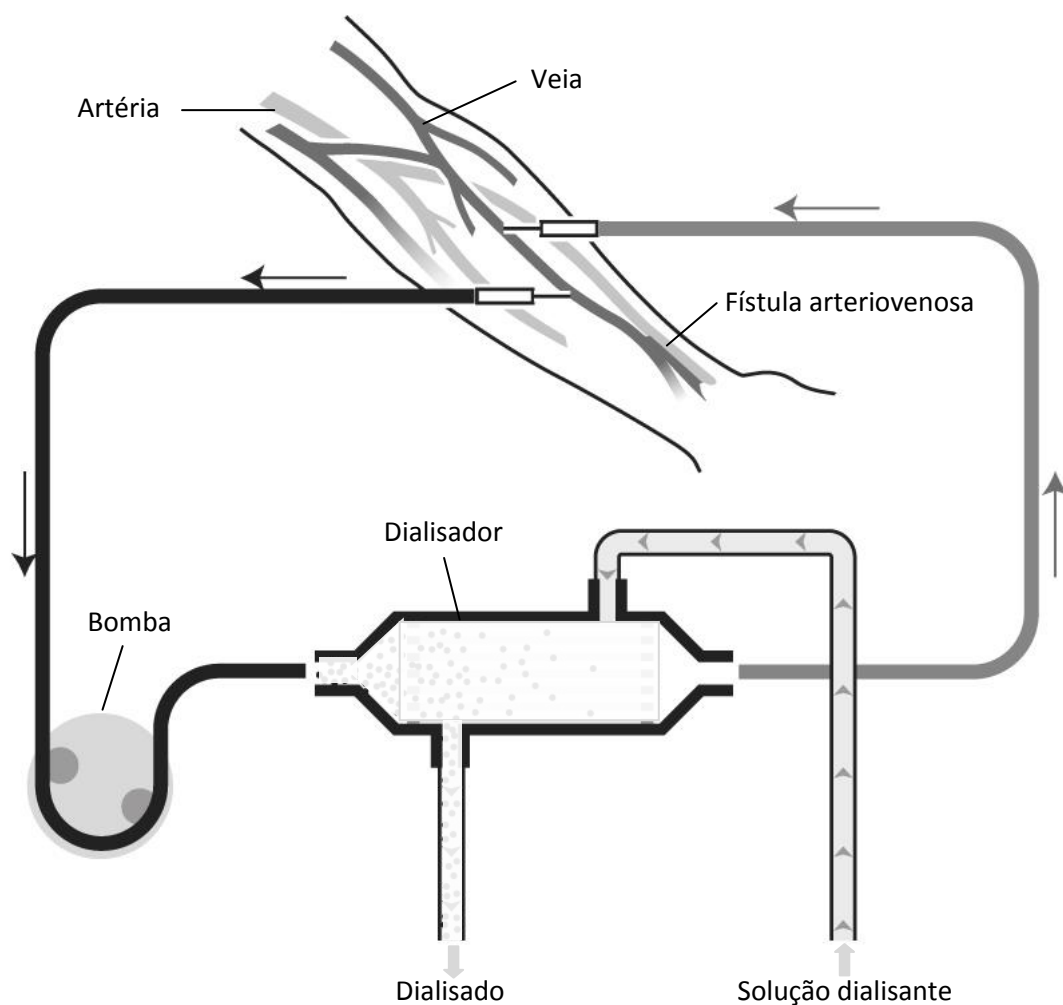


Figura 5 – Representação esquemática do processo de hemodiálise, com destaque para a fístula arteriovenosa e o dialisador. O sangue é bombeado para o dialisador onde é filtrado através de uma membrana artificial, que permite a remoção de substâncias para a solução dialisante. O sangue purificado retorna depois à circulação.⁴

De salientar, como já foi referido, que o sangue e a solução dialisante fluem em direções opostas, com o intuito de otimizar o gradiente de concentração ao longo de toda a membrana [21].

Globalmente, todo o processo de hemodiálise é controlado por dispositivos que têm como função manter (e corrigir se necessário) os caudais de sangue e solução dialisante, as

⁴ Adaptado de http://www.merckmanuals.com/home/kidney_and_urinary_tract_disorders/dialysis/dialysis.html

pressões no circuito, a eventual entrada de ar circuito e a composição e temperatura da solução dialisante [20].

Os doentes com IRC sujeitos a hemodiálise realizam geralmente três sessões semanais de quatro horas cada, podendo este regime ser ajustado caso a caso [25]. O objetivo é a obtenção de uma depuração da ureia de aproximadamente 200 mL/min, o que corresponde a uma redução de cerca de 65-70% na sua concentração plasmática [20].

É importante referir que a ureia, *per si*, é apenas discretamente tóxica. No entanto, os seus níveis séricos parecem apresentar uma correlação positiva com as restantes toxinas urémicas, isto é, a ureia funciona como um bom marcador, apresentando características favoráveis para o efeito, como seja o facto de se encontrar elevada na insuficiência renal, apresentar boa distribuição nos tecidos corporais, ser dialisável e a sua determinação laboratorial ser de fácil execução [26,27].

A taxa de depuração da ureia durante a hemodiálise é essencialmente influenciada por três aspetos: o caudal sanguíneo (uma vez que quanto maior for o volume de sangue exposto à membrana de diálise por unidade de tempo maior será a quantidade de ureia depurada); a área de superfície da membrana (existindo uma correlação positiva entre uma maior área de membrana e uma maior difusão de ureia por unidade de tempo); e finalmente a duração do tratamento (uma vez que a um tratamento mais prolongado corresponderá uma maior difusão de ureia) [28].

Água especial e solução dialisante

A solução dialisante poder-se-á definir como um fluido aquoso composto maioritariamente por eletrólitos, e tem por finalidade efetuar a troca de solutos com o sangue durante o tratamento hemodialítico. Esta solução resulta de uma diluição de soluções concentradas, disponíveis comercialmente, em água (potável) previamente sujeita a um tratamento de purificação adequado [4].

A solução dialisante contém sódio, potássio, cloreto, magnésio, cálcio e bicarbonato. Geralmente contém também glicose. As concentrações de sódio e cloreto são semelhantes às do plasma humano. A concentração de bicarbonato é geralmente superior na solução dialisante, havendo deste modo uma difusão de bicarbonato desta para o plasma. A concentração de magnésio é variável, podendo ser ajustada de acordo com as necessidades do paciente. A concentração de cálcio na solução dialisante é também variável, de modo a ocorrer absorção ou eliminação de cálcio durante o tratamento, de acordo com as indicações clínicas. No caso da glicose, a sua concentração na solução é cerca de 200 mg/dL, pelo que é habitual ocorrer a difusão de

glicose da solução dialisante para o plasma do paciente durante o processo de hemodiálise [28].

A tabela 3 resume a composição qualitativa e quantitativa de uma solução dialisante padrão.

Tabela 3 – Composição de uma solução dialisante padrão [29].

Componente	Concentração
Sódio	135-145 mEq/L
Potássio	0-4 mEq/L
Cálcio	5,0-7,0 mg/dL
Magnésio	0,6-0,9 mg/dL
Cloreto	98-124 mEq/L
Acetato ou citrato	2-4 mmol/L
Bicarbonato	30-40 mmol/L
Glicose	0-200 mg/dL
PCO ₂	40-110 mmHg
pH	7,1-7,3 unidades

Os pacientes sujeitos a hemodiálise estão expostos a cerca de 120 a 200 litros de solução dialisante por sessão, sendo que todos os contaminantes com baixo peso molecular que possam estar presentes na solução conseguem passar para o sangue e, potencialmente, acumularem-se no organismo, na ausência de excreção renal suficiente [29].

Assim, assegurar a utilização de uma solução dialisante pura do ponto de vista químico, e também microbiológico, é um aspeto de vital importância para evitar efeitos nefastos nos pacientes em hemodiálise [29].

Na solução dialisante, a água é o componente com maior peso relativo. Deste modo, a presença na mesma de substâncias químicas ou microrganismos em níveis excessivos pode ter consequências negativas para o paciente [4].

Os parâmetros de qualidade da água destinada a ser utilizada em tratamento de hemodiálise e respetivos valores máximos admitidos (VMA) de acordo com o “Manual de Boas Práticas de Hemodiálise” elaborado pelo Colégio de Especialidade de Nefrologia da Ordem dos Médicos (Maio 2011) estão resumidos na tabela seguinte.

Tabela 4 – Indicadores de qualidade da água para hemodiálise segundo o Manual de Boas Práticas de Hemodiálise (CENOM, 2011) [4].

Parâmetros químicos	Valor máximo admitido (VMA) em mg/L
Alumínio	0,004
Amônio	0,2
Antimônio	0,006
Arsênio	0,005
Bário	0,1
Berílio	0,0004
Cádmio	0,001
Cálcio	2
Chumbo	0,005
Cloraminas	0,1
Cloreto	50
Cloro livre	0,1
Cobre	0,1
Crômio	0,014
Cianeto	0,02
Ferro	0,02
Fluoreto	0,2
Magnésio	2
Mercúrio	0,0002
Nitrato (N)	2
Potássio	2
Prata	0,005
Selênio	0,09
Sódio	50
Sulfato	50
Tálio	0,002
Zinco	0,1
Outros parâmetros	Valor máximo admitido (VMA)
Sólidos totais dissolvidos	15 mg/L
Condutividade	27 µS/cm
Unidades formadoras de colônias (UFC)	< 100 UFC/mL
Fungos e leveduras	< 10 UFC/mL
Endotoxinas bacterianas (teste LAL)	< 0,25 UE/mL

No que se refere ao chamado “concentrado”, i.e., as soluções concentradas para hemodiálise disponíveis comercialmente, a maioria são à base de bicarbonato, o que por si só origina um problema de solubilidade de muitos catiões. Efetivamente, ao preparar-se uma solução de bicarbonato com uma concentração de cerca de 30 mmol/L, o seu pH fica aproximadamente 8,0. A este valor de pH haveria uma precipitação do cálcio e do magnésio, o que reduziria a sua concentração efetiva na solução. Para evitar este problema, os atuais sistemas de produção da solução de diálise baseiam-se de facto na mistura de dois concentrados: um concentrado de bicarbonato e um concentrado ácido. Este último é constituído por ácido acético (ou cítrico) acrescido de sódio, potássio, cálcio, magnésio, cloreto e eventualmente glicose, sendo que possui um pH baixo, necessário para a manutenção do cálcio e do magnésio em solução. Estes dois concentrados são depois misturados sequencialmente com a água purificada na própria máquina de diálise, originando assim a solução dialisante propriamente dita [29].

Deste modo, a solução dialisante é pois o produto final da diluição dos dois tipos de concentrado em água previamente tratada. Esta solução, que como já foi referido está separada do sangue do paciente pela membrana semipermeável do dialisador, permite então a efetivação do tratamento hemodialítico através da conjugação dos processos de difusão, ultrafiltração e convecção também já atrás referidos.

Tanto a solução dialisante final como os próprios concentrados de distribuição central estão sujeitos ao cumprimento de requisitos específicos de qualidade microbiológica, conforme se indica na tabela seguinte [4].

Tabela 5 – Indicadores de qualidade microbiológica da solução dialisante e dos concentrados de distribuição central para hemodiálise segundo o Manual de Boas Práticas de Hemodiálise (CENOM, 2011) [4].

Parâmetro	Valor máximo admitido (VMA)	
	Solução dialisante	Concentrados
Unidades formadoras de colónias (UFC)	<100 UFC/mL	<100 UFC/mL
Endotoxinas (teste LAL)	<0,25 UE/mL	< 0,5 UE/mL

Máquina de Hemodiálise

As máquinas de hemodiálise possibilitam a remoção de eletrólitos, toxinas e excesso de líquido no sangue (isto é, a realização do processo de diálise do sangue) de um modo automatizado [30].

Esta máquina pode dividir-se em dois circuitos – um circuito do sangue e um circuito da solução dialisante – os quais se vão encontrar no dialisador. O circuito do sangue inicia-se no acesso vascular (constituído habitualmente por uma fístula arteriovenosa, como já referido), sendo que a partir daí o sangue (arterial) é bombeado através de um dispositivo de influxo até atingir o dialisador. Do dialisador, o sangue sai de regresso ao acesso vascular (venoso) do paciente através de um dispositivo de efluxo (ver Figura 5, atrás).

Quer ao dispositivo de influxo quer ao dispositivo de efluxo estão ligadas várias câmaras, portas laterais e sensores, os quais têm como função proceder à infusão de soro fisiológico ou heparina, controlar a pressão no sistema e efetuar a deteção de entrada de ar no mesmo.

O circuito da solução dialisante inclui o sistema de aporte da solução, o qual produz esta mesma solução a partir de água previamente tratada e posteriormente a bombeia através do respetivo compartimento do dialisador. Este circuito possui também vários dispositivos de monitorização que têm como função assegurar condições adequadas durante o processo em termos de temperatura da solução dialisante, concentração dos eletrólitos e a não existência de exposição ao sangue do paciente por extravasamento na membrana do dialisador [24].

Principais efeitos adversos da Hemodiálise

Como principais efeitos adversos do tratamento de hemodiálise temos: hipotensão (em 20-30% dos doentes), câibras musculares (5-20%), náuseas e vômitos (5-15%), cefaleias (5%), dor torácica e/ou dorsalgias (2-5%), prurido (5%) e febre e calafrios (<1%) [31].

Hipotensão arterial – Poder-se-á definir esta situação como a existência de uma tensão arterial sistólica inferior a 90 mmHg ou uma queda na tensão arterial sistólica superior a 40 mmHg relativamente aos valores basais [20].

A hipotensão arterial é mais prevalente em mulheres e idosos [32] e resulta essencialmente da redução no volume sanguíneo que decorre da remoção de líquido pelo processo de ultrafiltração durante a hemodiálise, associada também a uma insuficiente compensação hemodinâmica [31].

Como causas mais frequentes desta situação temos: ultrafiltração excessiva, que excede a capacidade de reposição do volume vascular a partir do espaço intercelular [20], início repentino da sessão de hemodiálise [33], atraso da resposta vascular à hipovolemia [33], programação do peso “seco” desejável em níveis muito baixos [32], doença do foro cardíaco (isquemia, insuficiência cardíaca, arritmia, derrame pericárdico) [20], anemia

grave [33], infecção grave [20], baixa concentração de sódio na solução dialisante [32], elevada temperatura da solução dialisante [33], excesso de terapêutica hipotensora [20], intolerância à ingestão alimentar durante o tratamento [32] e alterações a nível do sistema nervoso vegetativo em pacientes idosos e diabéticos [33].

Cãibras musculares – São definidas como contrações musculares dolorosas originadas por uma unidade motora neuronal hiperativa, com frequência aumentada de potenciais de ação muscular [34,35].

Existem essencialmente quatro fatores que predis põem a esta ocorrência: hipotensão arterial, hipovolemia, elevada taxa de ultrafiltração e baixa concentração de sódio na solução dialisante [31].

Náuseas e vômitos – Na maioria das situações são problemas relacionados com a hipotensão [32], podendo mais raramente relacionarem-se com síndrome de desequilíbrio dialítico (um efeito adverso pouco frequente mas potencialmente grave), intolerância à hemodiálise, ingestão de alimentos durante a sessão de hemodiálise, uremia elevada e ansiedade durante as sessões iniciais de tratamento [33].

Cefaleias – São relativamente comuns durante a hemodiálise, mas a sua causa é frequentemente desconhecida, podendo por vezes ser uma manifestação ténue da síndrome de desequilíbrio dialítico [31]. Como outras causas possíveis temos hipertensão arterial, ultrafiltração elevada, alterações na solução dialisante (nomeadamente ao nível da temperatura e da concentração de sódio) e uso de fármacos vasodilatadores [33].

Dor torácica/dorsalgias – A causa destes sintomas é habitualmente desconhecida, não existindo mecanismos de prevenção ou terapêuticas específicas, embora possam obter-se benefícios com a troca da membrana do dialisador, uma vez que este tipo de sintomas pode representar uma reação inespecífica ao dialisador (possivelmente por ativação do complemento), reação essa que ocorre habitualmente nos primeiros 30 minutos da sessão de hemodiálise. No diagnóstico diferencial deverá ser tido em consideração outro tipo de situações que também podem cursar com este tipo de sintomas, como reações hemolíticas, angina, embolia gasosa ou pericardite [31,32].

Prurido – É um efeito adverso muito comum em pacientes sujeitos a hemodiálise, podendo ter como origem uma reação (moderada) de hipersensibilidade ao dialisador ou a componentes do circuito do sangue, e várias outras causas como desidratação cutânea, hiperfosfatemia, hipercalcemia e hiperparatiroidismo [31,33].

Febre e calafrios – Estes sintomas deverão ser objeto de avaliação aprofundada, uma vez que podem estar associados a uma infecção. Deve em primeiro lugar ser avaliado o acesso vascular, uma vez que este é a fonte de contaminação em cerca de 50 a 80% dos casos de bacteriemia em pacientes hemodialisados. Outras possíveis causas do estado febril são reações pirogênicas (resultantes da exposição a endotoxinas provenientes do dialisador ou da solução dialisante), falha no sistema de controlo da temperatura da solução dialisante e reação anafilática [32,33].

1.4.2.2 – Diálise Peritoneal

A diálise peritoneal é usada por milhares de pacientes em todo o mundo, sendo que desde a introdução, há cerca de trinta anos, da diálise peritoneal crónica ambulatoria (DPCA), o seu uso tem sofrido um aumento considerável, essencialmente devido à sua simplicidade, conveniência e custo moderado [36]. É uma forma de diálise domiciliária, sendo executada pelo próprio paciente, com ou sem ajuda de familiares ou cuidadores [20].

Na diálise peritoneal, a função desempenhada, na hemodiálise convencional, pela membrana artificial do dialisador é efetuada pelo peritoneu (ou membrana peritoneal), a membrana que envolve a cavidade abdominal e os órgãos nela situados. Inclui o peritoneu visceral, que envolve o estômago, os intestinos e a superfície do baço e do fígado, e o peritoneu parietal, que cobre por dentro a parede abdominal e pélvica [20,37].

Assim, este processo de purificação do sangue baseia-se fundamentalmente no transporte de solutos e água através da membrana peritoneal, a qual efetua a separação entre dois compartimentos: o compartimento constituído pelos capilares peritoneais (com o sangue aí presente, e que numa situação de insuficiência renal apresenta excesso de ureia, creatinina e outros solutos) e a cavidade peritoneal (onde é introduzida a solução dialisante) [36].

A solução dialisante, neste caso constituída geralmente por sódio, cálcio, magnésio, lactato (ou bicarbonato) e uma elevada concentração de glicose, é introduzida na cavidade peritoneal através de um cateter de silicone (cateter de Tenckoff) [25,37,38] que se encontra fixado ao tecido subcutâneo da parede abdominal. A solução dialisante é assim infundida na cavidade peritoneal e aí se mantém durante algumas horas, após o que é drenada e substituída por nova dose de solução.

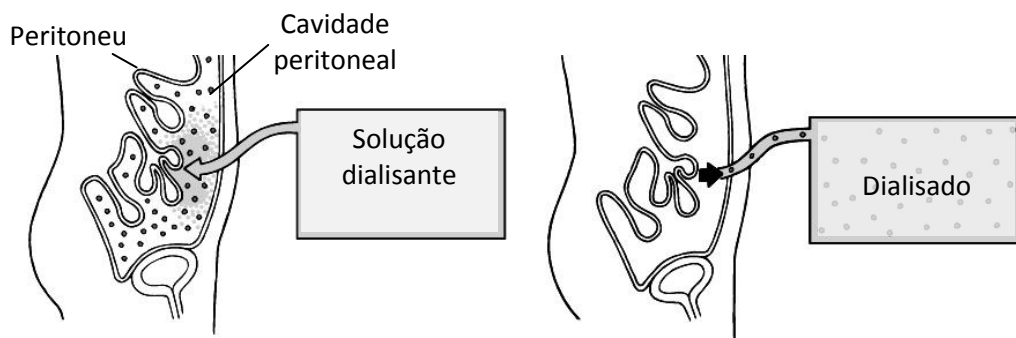


Figura 6 – Representação esquemática do processo de diálise peritoneal.⁵

Durante a permanência da solução dialisante na cavidade peritoneal verifica-se então a difusão de solutos através da membrana peritoneal e a remoção do excesso de água, o que é possibilitado pela existência na solução dialisante de uma elevada concentração de glicose, o que cria um gradiente de pressão osmótica que favorece a ultrafiltração de fluidos [20].

Modalidades de Diálise Peritoneal

Diálise peritoneal crônica ambulatoria (DPCA) – Nesta modalidade, a solução dialisante está continuamente presente na cavidade abdominal, sendo que a sua renovação é feita manualmente pelo paciente ao longo do dia. Dependendo das necessidades específicas do doente, efetuam-se entre três a cinco trocas diárias [20,38], de dois litros cada, tendo cada troca a duração de cerca de 20 minutos. Esta abordagem permite obter uma depuração diária da ureia de cerca de 7 mL/min e uma ultrafiltração média de 1500 mL/dia [20].

Diálise peritoneal automatizada (DPA) – Consiste na utilização de máquinas para fazer circular automaticamente a solução de diálise pela cavidade abdominal. É feita geralmente durante a noite. À hora de deitar, o paciente estabelece ligação com a máquina cicladora, a qual drena e enche a cavidade abdominal com solução dialisante três ou quatro vezes durante o período noturno. De manhã o paciente “desliga-se” da máquina, ficando livre para realizar as suas atividades do dia-a-dia [20,38].

Vantagens, complicações clínicas e contraindicações da Diálise Peritoneal

Esta modalidade terapêutica possibilita a depuração de solutos urêmicos, a eliminação do excesso de líquidos e o restabelecimento do equilíbrio hidroeletrólítico com uma eficácia semelhante à da hemodiálise, não existindo de um modo geral diferenças relevantes

⁵ (<http://www.manualmerck.net/?id=149&cn=2106>)

entre uma técnica e outra no que se refere às taxas de mortalidade e de morbidade [20,39].

Sendo um tratamento domiciliário, a diálise peritoneal é uma terapêutica que confere maior autonomia ao paciente, sendo a técnica ideal para os indivíduos mais jovens e ativos, permitindo a manutenção da sua qualidade de vida [20].

A diálise peritoneal é também a técnica mais apropriada no caso do doente pediátrico, uma vez que é um tratamento não doloroso e que permite à criança efetuar livremente as suas atividades, como brincar e estudar, e desfrutar sem restrições do tempo afetivo e familiar [20].

Esta técnica possui ainda outras vantagens, designadamente [39]:

- Um papel mais ativo do doente no processo terapêutico;
- Preservação da função renal residual;
- Manutenção do capital vascular, evitando as infeções associadas com o acesso vascular, fenómeno frequente nos pacientes em hemodiálise;
- Permite o suporte nutricional / calórico pela via intraperitoneal, diminuindo assim a frequência de má nutrição nos doentes;
- Menor risco de arritmias cardíacas;
- Ausência de alterações bruscas da volemia;
- Menor necessidade de eritropoietina;
- Maior flexibilidade terapêutica.

No que se refere às complicações clínicas da diálise peritoneal, a peritonite surge como o evento mais relevante [25]. Esta poder-se-á definir como a presença no líquido peritoneal de uma quantidade superior a 100 leucócitos/mm³, com predomínio de neutrófilos (> 50%). No exame físico o doente apresenta-se geralmente com dor abdominal, podendo em alguns casos ocorrer náuseas, diarreia e febre [40].

A sua etiologia é habitualmente bacteriana, com predomínio de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativo, podendo também bacilos Gram negativo como as *Pseudomonas* ou fungos como a *Candida* serem agentes patogénicos ocasionais [25].

Para além da peritonite, a diálise peritoneal apresenta outras complicações menos frequentes, de onde se destaca: amiloidose relacionada com a diálise, hiperglicemia, depuração insuficiente devido a doença vascular, hipertrigliceridemia, uremia secundária à perda da função renal residual, obesidade, hipoproteinemia [25].

São consideradas contraindicações da diálise peritoneal situações em que a cavidade abdominal esteja afetada por patologias que comprometam a eficácia da técnica dialítica. São exemplos dessas situações a existência de múltiplos filamentos membranares (bridas) intra-abdominais, diverticulite na forma ativa, isquemia intestinal e pancreatite [39].

As contraindicações incluem ainda a existência de doença psicótica, depressão major e situações de doentes sem capacidade de auto tratamento, que não tenham alguém para os assistir, bem como casos de obesidade mórbida ou existência de rins policísticos, se bem que estas duas últimas situações possam ser contornadas efetuando certas adaptações à técnica terapêutica [37,39].

1.4.2.3 – Transplante Renal

O transplante renal é considerado a melhor opção terapêutica para o doente com IRC em fase terminal pois possibilita uma qualidade de vida muito aproximada à normalidade quando comparada com as outras duas alternativas terapêuticas, a hemodiálise e a diálise peritoneal [20].

Todos os pacientes com IRC em fase terminal são potenciais candidatos à transplantação renal, considerando-se critérios de exclusão absolutos situações que possam impossibilitar o estabelecimento de esquemas terapêuticos envolvendo fármacos imunossupressores, como neoplasia maligna sistémica, infeções crónicas, patologia cardiovascular grave, glomerulonefrite ativa ou desequilíbrios do foro neuropsiquiátrico [41].

Apesar do progressivo desenvolvimento de fármacos imunossupressores mais eficazes e bem tolerados, o que permitiu notáveis progressos na sobrevida do enxerto no curto prazo, a rejeição imunológica ainda é o principal fator de risco que afeta a possibilidade de um transplante bem sucedido [42]. Este fenómeno cursa habitualmente com uma diminuição do débito urinário, aumento da creatinina sérica, febre, hipertensão e dor na zona do enxerto, sendo a biopsia percutânea do enxerto renal o exame diagnóstico por excelência [42].

No que se refere aos dadores, estes poderão ser dadores vivos, aparentados ou não aparentados (ex.: cônjuge, amigo), e dadores cadáveres [43]. Verificou-se que se obtêm melhores resultados recorrendo a dadores vivos, uma vez que existe uma maior compatibilidade a nível dos tecidos e também porque o tempo de espera pode ser reduzido ao mínimo [42].

No conjunto de testes que visam aferir se dador e recetor são compatíveis inclui-se a tipagem ABO e a tipagem dos antigénios leucocitários humanos (HLA) de ambos. Esta última tipagem é particularmente importante, uma vez que a existência de incompatibilidades entre o dador e o recetor no que respeita aos HLA pode ser fator desencadeador de fenómenos imunológicos que potenciem a ocorrência de rejeição do enxerto. Para além disto é necessário efetuar no recetor a pesquisa de anticorpos preformados contra os antigénios leucocitários do potencial dador, num procedimento denominado *crossmatch* [41,43].

Na tabela seguinte estão descritos alguns dos fatores que influenciam positiva ou negativamente a sobrevida do enxerto no transplante renal [42].

Tabela 6 – Fatores que influenciam a sobrevida do enxerto no transplante renal [42].

Incompatibilidade HLA	(-)
Pré-sensibilização	(-)
Transfusão sanguínea pré-transplante	(+)
Idade do doador: muito jovem ou idade avançada	(-)
Dador do sexo feminino	(-)
Dador de raça afro-americana (em comparação com caucasianos)	(-)
Idade mais avançada do recetor	(+)
Recetor de raça afro-americana (em comparação com caucasianos)	(-)
Tempo prolongado de isquemia pelo frio	(-)
Tamanho corporal do recetor elevado	(-)

Para além dos testes de compatibilidade, o potencial dador é submetido a uma avaliação pré-transplante que varia de instituição para instituição mas que geralmente inclui uma completa história clínica, exame físico e uma bateria de testes laboratoriais e de imagiologia com vista a avaliar o estado geral de saúde bem como a despistagem de neoplasias malignas e infeções ocultas. A nível laboratorial, os exames realizados habitualmente incluem o hemograma, testes de bioquímica clínica (em particular, de avaliação da função renal), exame bacteriológico de urina, pesquisa de sangue oculto nas fezes, pesquisa de anticorpos contra o citomegalovírus, vírus da hepatite B e C, VIH e *Treponema pallidum* (sífilis) e exame de citologia de Papanicolau. A nível do diagnóstico por imagem, é realizada uma urografia excretora e uma arteriografia renal, uma radiografia ao tórax e uma mamografia. A integridade da função cardíaca é avaliada com a realização do eletrocardiograma, e no caso de doentes que necessitam de uma

avaliação cardíaca mais aprofundada (ex.: indivíduos com idade superior a 50 anos, diabéticos ou com sintomas de doença cardiovascular), poderão ser efetuados outros exames como ecocardiograma, prova de esforço e eco-Doppler [43].

Para além da rejeição imunológica do enxerto, a infeção e a neoplasia configuram-se também como complicações relevantes do transplante renal, decorrendo essencialmente dos esquemas terapêuticos imunossupressores baseados na utilização de corticosteroides e de anticorpos, monoclonais e policlonais [42].

No que se refere às infeções, as de etiologia bacteriana são as predominantes no período inicial do pós-operatório, ao passo que nas fases posteriores são as infeções oportunistas, nomeadamente por citomegalovírus, que têm maior preponderância [44].

Relativamente aos processos neoplásicos, a doença linfoproliferativa associada ao vírus de Epstein-Barr é a patologia mais relevante pós-transplante renal, sendo que o linfoma não-Hodgkin e o carcinoma espinocelular da pele são também patologias que veem a sua incidência aumentada neste tipo de pacientes [42].

1.5 – Elementos vestigiais

1.5.1 – Caracterização e enquadramento no âmbito da IRC terminal

O conceito de elemento vestigial remete para o período inicial do desenvolvimento de métodos analíticos, no século XIX, e basicamente procurava enquadrar todos os elementos que estavam presentes em quantidades muito reduzidas (“vestigios”) nos fluidos e tecidos biológicos, sendo por isso impossíveis de dosear corretamente [45].

Apesar de atualmente o doseamento da maioria desses elementos já se poder efetuar com grande exatidão, a denominação acabou por se manter [45].

Numa perspetiva mais quantitativa e atual, consideram-se como elementos vestigiais os elementos que estão presentes nos fluidos ou tecidos biológicos em quantidades diminutas, na ordem dos $\mu\text{g/L}$ ou $\mu\text{g/g}$ [6].

Entre os elementos vestigiais assumem especial importância os chamados elementos “essenciais”, isto é, elementos absolutamente necessários à manutenção da vida, resultando da sua deficiência a perturbação das funções normais do organismo e do seu normal desenvolvimento, e podendo essa deficiência ser corrigida através de suplementação com quantidades fisiologicamente adequadas dos mesmos, uma vez que o organismo não tem a capacidade de os sintetizar [6,46].

Muitos outros elementos vestigiais não têm qualquer função biológica conhecida. Alguns são eminentemente “tóxicos” (ex.: Pb, Cd, Hg), caracterizando-se por produzirem uma toxicidade significativa mesmo quando presentes em concentração muito baixa.

De notar, porém, que todos os elementos, mesmo aqueles que possuem uma essencialidade mais reconhecida, como o cobre, o ferro ou o selênio, se podem tornar extremamente tóxicos ultrapassados que sejam determinados limites em termos da sua quantidade no organismo.

Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Period	1	H																He
2	Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
3	Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
4	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
5	Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
6	Cs	Ba	L	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
7	Fr	Ra	A															

Figura 7 – Tabela Periódica mostrando os **elementos essenciais** para os humanos (fundo branco) com destaque para os **elementos essenciais vestigiais** (símbolo do elemento em negrito). Os **elementos tóxicos** de maior importância encontram-se nas caixas de fundo cinza destacadas [47,48].

Os elementos vestigiais essenciais assumem importantes funções no organismo seja como parte integrante de metaloenzimas, cofatores enzimáticos, facilitadores do transporte de elétrons e oxigênio, reguladores da atividade hormonal e expressão de genes ou componentes de vitaminas e hormonas [46].

As situações de déficit de elementos vestigiais ocorrem habitualmente em situações de carência nutricional ou em estados patológicos em que se verifica uma diminuída absorção intestinal ou uma excreção aumentada. As situações de deficiência também poderão estar relacionadas com interações entre diferentes elementos ou entre elementos e outros nutrientes, podendo essas interações afetar o processo de absorção ou o metabolismo do elemento em causa. Um exemplo disso é a excessiva ingestão de zinco, o qual interfere com a absorção intestinal do cobre, originando desse modo uma deficiência deste e, conseqüentemente, anemia [46].

No que se refere à toxicidade, e como já foi referido, qualquer elemento vestigial, essencial ou não, pode exercer efeitos tóxicos quando presente acima de determinados limites, sendo que o que os distingue é a concentração a partir da qual manifestamente exercem efeitos tóxicos, a qual é bastante diferente em cada caso [46].

Habitualmente, os desequilíbrios ao nível dos elementos vestigiais não têm muita expressão na prática clínica, sendo uma das exceções mais conhecida os pacientes com IRC em fase terminal, nomeadamente os sujeitos a hemodiálise crónica como terapêutica renal de substituição [49].

Nestes doentes, a reduzida capacidade de depuração renal, a presença de proteinúria, as alterações metabólicas associadas à própria insuficiência renal, a terapêutica farmacológica e a hemodiálise de *per se* podem induzir quer uma situação de acumulação quer de deficiência de elementos vestigiais [50].

A hemodiálise, como já foi anteriormente referido, é a terapêutica da substituição renal mais usada no tratamento de pacientes com IRC em fase terminal. Como também já foi detalhadamente descrito, através do processo de hemodiálise são removidas as toxinas urémicas, essencialmente pela promoção de um estado de equilíbrio entre o plasma sanguíneo e a solução dialisante, postos em contacto através de uma membrana semipermeável. A solução dialisante contém quantidades bem definidas de iões como sódio, potássio, bicarbonato, cálcio, cloreto, magnésio, mas normalmente não são consideradas outras substâncias (à exceção da glicose), como sejam os elementos vestigiais. Deste modo, substâncias que estejam presentes em concentrações mais reduzidas na solução dialisante do que no sangue tendem, com vista a estabelecer um estado de equilíbrio, a ser removidas do sangue pelo processo dialítico. Isto é benéfico no caso das toxinas urémicas, mas tem o senão de contribuir para uma possível depleção de outras substâncias, onde se incluem os elementos vestigiais essenciais, sendo que nestes doentes existem ainda fatores como a anorexia associada ao próprio estado urémico e a imposição de uma dieta com muitas restrições que também concorrem para um possível défice destes elementos.

Por outro lado, o facto dos doentes que realizam hemodiálise estarem expostos a um elevado volume de solução dialisante origina que quantidades ainda que diminutas de substâncias potencialmente tóxicas presentes nesta solução possam gerar um gradiente de concentração que irá fazer com que tendam a acumular-se no sangue do paciente. Esta acumulação de substâncias com potencial tóxico poderá ocorrer ainda devido à ingestão das mesmas pelo paciente que, devido à sua reduzida capacidade de depuração renal, não as consegue eliminar adequadamente.

Em síntese, os pacientes submetidos a terapia hemodialítica correm risco potencial de deficiência ou excesso de elementos vestigiais, estando esse risco dependente de fatores como o aporte nutricional, a capacidade de redução dos seus níveis pelo processo de hemodiálise, a composição da solução dialisante (e em particular da água usada para a sua produção) e a função renal residual [2,3].

Neste trabalho foram selecionados cinco elementos vestigiais como objeto de estudo numa população de doentes com IRC terminal sujeitos a hemodiálise regular. A escolha recaiu sobre elementos em que a eventual existência de um desequilíbrio ao nível das suas concentrações sanguíneas acarreta significativos efeitos nocivos para os pacientes: cobre, manganês, selénio e zinco, quatro elementos reconhecidamente essenciais, e chumbo, um elemento vestigial de toxicidade bem conhecida.

1.5.2 – Aspectos bioquímicos e toxicológicos dos elementos em estudo

1.5.2.1 – Chumbo

O chumbo é um metal pesado, azul acinzentado, muito comum no meio ambiente, uma vez que ocorre de forma natural na crosta terrestre. Este facto, associado a outras características, como a sua fácil extração e manipulação e elevada resistência à corrosão, fez deste metal um recurso muito utilizado ao longo dos tempos, nomeadamente em munições, canalizações, revestimento de cabos, baterias e como aditivo de combustíveis (gasolina) [6,51].

O chumbo raramente existe sob a forma isolada no meio ambiente, sendo habitualmente encontrado sob a forma de compostos diversos, combinado com dois ou mais elementos [51].

Estes compostos podem ser orgânicos ou inorgânicos, destacando-se como mais abundantes os compostos inorgânicos de chumbo divalente, como o sulfureto de chumbo (PbS), ou galena, seguido do sulfato de chumbo (PbSO₄), ou anglesita, e do carbonato de chumbo (PbCO₃), ou cerussita, sendo que estes dois últimos são formados a partir da galena pela sua própria transformação ao longo do tempo. Para além destes, existem ainda outros compostos inorgânicos de chumbo mais raros, como seja o cloreto de chumbo (PbCl₂), ou cotumita, o óxido de chumbo (PbO), ou litárgio, e o cromato de chumbo (PbCrO₄), ou crocoíta [52-54].

Em relação aos compostos orgânicos, estes são principalmente dois, o tetraetil-Pb e o tetrametil-Pb, no passado muito utilizados como aditivos na gasolina. Porém, com sucessivas medidas restritivas por parte de entidades governamentais à escala global, o

seu uso encontra-se agora limitado a apenas alguns países, tendo ainda utilização relevante na gasolina usada pela aviação [52-54].

A exposição ao chumbo acontece essencialmente através do contacto com tintas (especialmente até à década de 70 do século XX, data a partir da qual foi limitado o teor de chumbo neste tipo de produtos), latas, gasolina com chumbo, recipientes de vidro e cerâmicas, e em atividades industriais, como o fabrico de baterias.

A exposição pode também advir do consumo de legumes e hortaliças cultivados em solos contaminados com chumbo ou da ingestão de água, especialmente quando veiculada em canalizações de chumbo ou em condutas submetidas a soldadura [55,56]. A exposição pode ainda ocorrer por via inalatória.

Cerca de 40% do chumbo inorgânico inalado é absorvido nos pulmões enquanto 10 a 15% do chumbo ingerido é absorvido através do trato gastrointestinal, sendo que a este nível a absorção é potenciada pelo jejum e diminuída pela presença de cálcio, ferro, fósforo ou zinco. Relativamente ao chumbo orgânico, ele é rapidamente absorvido através da pele, sendo metabolizado a nível hepático a trietil-Pb e chumbo inorgânico, sendo estas as formas responsáveis pelos possíveis efeitos tóxicos. Uma vez no organismo, o chumbo é transportado pelos eritrócitos (maioritariamente ligado à hemoglobina), fixa-se principalmente no tecido ósseo (onde se encontra cerca de 95% do chumbo total do organismo) e é excretado a nível renal.

A acumulação de chumbo no organismo traduz-se essencialmente por afetar o processo de hematopoiese (inibindo a síntese de hemoglobina e originando um aumento das protoporfirinas eritrocitárias) e a formação óssea, bem como os sistemas nervoso, renal e cardiovascular [6,53,56,57].

A intoxicação aguda por chumbo é uma situação pouco comum, traduzindo-se principalmente por manifestações a nível do SNC, que incluem encefalopatia, convulsões e estupor, ou a nível gastrointestinal, com a presença de cólicas, obstipação, vómitos e perda de apetite [57-59].

A intoxicação mais relevante é a que ocorre de uma forma crónica, e portanto cumulativa, estando a intensidade dos efeitos nocivos do chumbo intimamente ligada à intensidade e duração da exposição [58,59].

No que se refere às manifestações clínicas da intoxicação crónica, em crianças estas incluem dor abdominal, letargia, anorexia, anemia, ataxia e fala arrastada, tendo como

manifestações de maior gravidade as convulsões, coma, edema cerebral e insuficiência renal [55].

Nos adultos, a exposição crónica ao chumbo poder-se-á traduzir em sintomas como dor abdominal, cefaleias, dores articulares, fadiga, anemia, neuropatia motora, défice cognitivo (afetando a memória) e, menos frequentemente, encefalopatia. A nível renal poderão existir situações de nefrite intersticial e lesão tubular, com diminuição da TFG e aumento dos níveis séricos do ácido úrico [55].

1.5.2.2 – Cobre

O cobre é o terceiro elemento vestigial mais abundante no organismo humano, precedido pelo zinco e pelo ferro [46]. É um micronutriente essencial, constituinte de várias proteínas e enzimas envolvidas em diversos processos biológicos considerados indispensáveis à manutenção da vida [60,61].

O cobre está envolvido no transporte de eletrões e em reações de oxidação, sendo indispensável para a respiração celular, regulação da neurotransmissão, síntese de colagénio, metabolismo de outros nutrientes (ex. ferro) e atividade antioxidante, para neutralização dos radicais livres. Funciona essencialmente como parte integrante de um alargado grupo de metaloenzimas intracelulares e também de certas proteínas [46,62].

Entre as metaloenzimas de cobre destacam-se a tirosinase, enzima responsável pela formação da melanina a partir da tirosina; a dopamina hidroxilase, que catalisa a conversão de dopamina em noradrenalina; a lisil oxidase, que tem um papel importante na síntese de colagénio e elastina; a citocromo c oxidase, que catalisa a utilização celular do oxigénio; e a superóxido dismutase (SOD), uma importante enzima antioxidante intracelular (catalisa a dismutação do radical superóxido em oxigénio e peróxido de hidrogénio), que combate os mecanismos inflamatórios e a destruição tecidual [46,47,63].

Em relação às proteínas, estas incluem a ceruloplasmina, a albumina e a transcupreína, que funcionam como transportadores do cobre, as metalotioneínas, que captam e armazenam cobre, e o fator V da coagulação [46].

Como principais fontes alimentares de cobre destacam-se o fígado, chocolate negro, avelãs, marisco e sementes. A absorção ocorre essencialmente no duodeno, embora em parte possa ocorrer também no estômago e na porção distal do intestino delgado. O cobre é depois transportado através da circulação sanguínea, ligado à albumina e à

transcupreína, até ao fígado. Deste órgão é transportado até aos tecidos periféricos essencialmente ligado à ceruloplasmina [46,60,62].

O cobre está presente em todos os tecidos metabolicamente ativos, sendo que se encontra em maior concentração no fígado e rins, possuindo também o músculo cardíaco, o músculo estriado esquelético e o osso quantidades significativas deste elemento [62].

A excreção é essencialmente efetuada através do trato gastrointestinal, por via fecal. Nas fezes encontra-se quer o cobre que provém da biliar (a excreção biliar é a principal via de eliminação do cobre endógeno) quer o cobre que não foi absorvido. Existem ainda outras vias de excreção com menor relevância como a urina, o suor e a saliva [60].

As situações de défice de cobre são relativamente raras, exceto no caso de pessoas com doenças genéticas ou má nutrição prolongada. Ocorre com mais frequência em crianças, nomeadamente prematuros, que face ao seu rápido crescimento têm necessidades acrescidas de cobre e não possuem ainda um reservatório hepático suficiente para suprir essas necessidades. Outras situações em que também pode verificar-se um estado de deficiência de cobre incluem pacientes com síndromes de má-absorção (ex. doença celíaca, fibrose quística), indivíduos sujeitos a nutrição parentérica prolongada com soluções deficitárias em cobre, pacientes com anemia falciforme que estejam a efetuar terapia com zinco (uma vez que este elemento induz as metalotioneínas, a qual por sua vez sequestra o cobre e bloqueia a sua absorção) e pacientes submetidos a tratamentos com fármacos quelantes do cobre, como a penicilamina. Os efeitos de um estado deficitário em cobre traduzem-se essencialmente por anemia hipocrômica microcítica refratária à terapêutica com ferro, neutropenia, ataxia, risco acrescido de osteoporose, alterações ao nível dos ossos e articulações, diminuição da pigmentação cutânea, degeneração do sistema nervoso e deficiente resposta imunitária, com suscetibilidade acrescida a infeções [46,60,61].

As situações de intoxicação aguda por cobre são relativamente raras, estando associadas à ingestão acidental ou com propósito suicida de elevadas quantidades de cobre, toma excessiva de suplementos contendo cobre ou consumo de água contaminada. Entre os efeitos tóxicos estão náuseas, vômitos, dores abdominais, diarreia, lesão hepática (principalmente em crianças), sendo que no caso de doses muito elevadas poderá surgir coma ou mesmo a morte [46,60,61].

Existem duas doenças que têm por base defeitos genéticos no metabolismo do cobre: a síndrome de Menkes e a doença de Wilson [46].

A síndrome de Menkes é uma patologia multissistêmica, com uma forte componente neurodegenerativa e perturbações a nível do tecido conjuntivo. Tem por base uma alteração genética recessiva que se manifesta habitualmente pelo 3.º mês de vida e se traduz essencialmente num anormal transporte intracelular do cobre.

Concretamente, é um distúrbio no metabolismo do cobre originado por uma mutação genética no gene ATP7A, que está localizado no braço longo do cromossoma X e que codifica para a ATPase do tipo P, uma enzima essencial ao transporte e metabolismo intracelular do cobre. As crianças com esta patologia apresentam valores séricos e hepáticos de cobre muito diminuídos.

As manifestações clínicas desta doença genética resultam da disfunção das várias enzimas que utilizam o cobre como cofator, traduzindo-se em deficiente desenvolvimento psíquico, hipopigmentação cutânea e capilar, alterações no tecido conjuntivo, anomalias esqueléticas, hipotermia e convulsões [46,64].

A doença de Wilson ou degeneração hepatolenticular é uma patologia de origem genética, de transmissão autossómica recessiva. Caracteriza-se por uma mutação no gene ATP7B, o qual se encontra localizado no cromossoma 13, e traduz-se por uma ineficiente excreção biliar do cobre. Daí resulta uma acumulação excessiva deste elemento, principalmente no fígado, olhos e cérebro [46,65,66]. Do ponto de vista bioquímico, a anomalia mais frequente é baixo nível de ceruloplasmina plasmática, uma glicoproteína de origem hepática que têm por função assegurar o transporte de cobre no plasma.

No que se refere a manifestações clínicas, em cerca de metade dos pacientes a lesão hepática predomina, sendo que quatro tipos de lesões podem ser indicadores do início clínico da doença: hepatite aguda, hepatopatia parenquimatosa, cirrose ou hepatite fulminante. Nos restantes casos, os primeiros sinais clínicos são essencialmente de natureza neurológica ou psiquiátrica e são acompanhados por um achado clínico muito característico, os anéis de Kayser-Fleischer, que são depósitos de cobre na córnea [67].

Em termos de diagnóstico, a tríade ceruloplasmina baixa (< 200 mg/L), cobre na urina elevado (> 100 µg/dia) e presença de anéis de Kayser-Fleischer ou níveis elevados de cobre hepático (na biopsia) (> 250 µg/g) é considerada suficiente para diagnosticar a patologia [46,67,68].

1.5.2.3 – Manganês

O manganês é um elemento vestigial essencial que existe abundantemente na crosta terrestre, na água e na atmosfera. Pode assumir 11 estados de oxidação, sendo que no organismo humano assume as formas Mn^{2+} , Mn^{3+} e menos frequentemente Mn^{4+} [69].

Do ponto de vista quantitativo, o organismo humano contém aproximadamente 10 mg de manganês, estando a sua maior parte concentrada no fígado, ossos e rins [70]. A dieta representa a principal fonte de manganês para os humanos, sendo por isso a via gastrointestinal a sua principal via de absorção. A via inalatória também é uma via possível (e até com uma maior taxa de absorção efetiva), mas com muito menor relevância, exceto para alguns indivíduos ocupacionalmente expostos (metalúrgicos, soldadores e trabalhadores de fábricas de produção de pilhas). A presença de manganês nos alimentos é muito variável, estando presente em quantidades significativas nas sementes de trigo, produtos de panificação, vegetais, avelãs, chá preto e frutas. Nos produtos lácteos, bem como na carne e no peixe, a sua presença é reduzida [46,51,70,71].

Após ingestão, o manganês é absorvido apenas numa pequena percentagem (< 5%). O intestino delgado é o local preferencial para o processo de absorção, processo esse que poderá sofrer interferência de outros componentes da dieta, como elevado teor de fibras, cálcio, fósforo ou ferro [6,71,72].

Uma vez na circulação sanguínea, o manganês divalente (Mn^{2+}) liga-se principalmente à alfa 2-macroglobulina e à albumina. Uma reduzida fração de manganês trivalente (Mn^{3+}) utiliza a transferrina como proteína de transporte até aos tecidos, nomeadamente o tecido hepático [71].

No fígado, o manganês é removido do sangue através da biliar e excretado pelo intestino, nas fezes, embora a nível intestinal ocorra a reabsorção de uma pequena fração do elemento [46,71].

Do ponto de vista funcional, o manganês é necessário para o normal metabolismo dos aminoácidos, hidratos de carbono, lípidos e proteínas, sendo encontrado em diversas metaloenzimas como a Mn-superóxido dismutase (Mn-SOD), a forma mitocondrial desta enzima antioxidante, a glutamina sintetase (enzima que catalisa a síntese do aminoácido glutamina), a arginase (enzima final do ciclo da ureia) e a fosfoenolpiruvato descarboxilase (enzima envolvida no processo de gliconeogénese).

O manganês desempenha ainda um papel fundamental no funcionamento do sistema imunitário, na regulação da produção de energia a nível celular, na função reprodutiva (visto ser importante para a mobilidade espermática), no desenvolvimento do tecido ósseo e do tecido cartilaginoso, e no próprio processo de hemóstase (formação do coágulo sanguíneo), juntamente com a vitamina K [47,69,71,72].

A deficiência em manganês poder-se-á manifestar por situações como dermatite, diminuição dos níveis séricos de colesterol, perturbações do metabolismo da glicose, podendo ser causa de diabetes, enfraquecimento dos tendões e ligamentos, infertilidade, ataxia, distúrbios hemostáticos, diminuição da função imunitária e queda de cabelo e/ou alterações na sua coloração [6,46,69,72,73].

Situações de excesso de manganês traduzem-se essencialmente em perturbações do SNC, resultando numa condição clínica que se assemelha à doença de Parkinson e que é habitualmente designada por manganismo.

Podendo possuir relevante incidência em indivíduos com patologias do foro hepático e em indivíduos ocupacionalmente expostos, esta condição clínica cursa com sinais e sintomas como instabilidade postural, alterações comportamentais, como agitação, depressão e alucinação, e ainda com sintomas muito característicos da doença de Parkinson, como sejam bradicinesia, rigidez, tremores, perturbações ao nível da marcha e da postura, distonia e ataxia [56,61,74].

Poderão também surgir anomalias ao nível cognitivo, traduzidas por falhas de memória, reduzida capacidade de aprendizagem, lentidão de raciocínio e dificuldade de processamento da informação visual [69,75].

Para além da exposição ocupacional e dos problemas de excreção associados a doença do foro hepático, estão descritos na literatura situações de toxicidade por via gastrointestinal associadas à ingestão de água contaminada com altos níveis de manganês [61,73].

1.5.2.4 – Selénio

O selénio é um elemento vestigial essencial, não metálico, de grande importância bioquímica. Encontra-se presente em alimentos como cereais, carnes, mariscos e sementes [76,78]. O conteúdo de selénio nos alimentos depende grandemente do seu teor nos solos e na água onde aqueles são produzidos, sendo recomendada uma ingestão média diária de cerca de 60 µg no caso dos homens e de 50 µg no caso das mulheres [78,79].

O selénio poderá estar presente na forma de compostos orgânicos ou inorgânicos, sendo que uma complexa reação em cadeia pode converter formas inorgânicas (como selenato ou selenito) em formas orgânicas e vice-versa. Neste processo, o seleneto de hidrogénio, formado a partir do selenito em reações que envolvem a presença de glutatona, tem um papel de destaque, uma vez que funciona simultaneamente como substrato para a síntese de selenocisteína (por ação da cisteína sintetase) e para a síntese de selenofosfato (por ação da selenofosfato sintetase), sendo que tanto a selenocisteína como o selenofosfato são necessários para a síntese de selenoproteínas.

Outro processo metabólico em que intervém o seleneto de hidrogénio consiste numa série de reações de metilação, dando origem consecutivamente a metilselenol, dimetilseleneto e trimetilselenónio, sendo que estes dois últimos são eliminados na urina ou exalados. Por outro lado, a selenometionina, uma forma de selénio análoga do aminoácido metionina que se incorpora nas proteínas do organismo em substituição daquele aminoácido e que está presente em muitos alimentos, nomeadamente cereais, é posteriormente convertida, através de uma reação de transsulfuração, em selenocisteína, sendo esta por sua vez decomposta em seleneto de hidrogénio por ação da enzima cisteína liase [76,78]. As selenoproteínas, que contêm selenocisteína no seu centro ativo, asseguram as mais diversas funções biológicas no organismo humano. São conhecidas atualmente 25 diferentes selenoproteínas, estando resumidas na tabela seguinte as que possuem funções mais relevantes [78].

Tabela 7 – Principais selenoproteínas e respectivas funções no organismo [78].

Selenoproteína	Função ou efeito no organismo
Glutationa Peroxidases (GPx)	Família de enzimas antioxidantes: eliminação de peróxido de hidrogénio, hidroperóxidos lipídicos e (GPx4) hidroperóxidos fosfolipídicos e de colesterol.
GPx1 (citossólica)	Redução da virulência retroviral através da prevenção de mutações virais; a sua deficiência pode originar cardiomiopatia.
GPx2 (gastrointestinal)	Atividade anti-apoptótica no cólon; ajuda a manter a integridade da mucosa intestinal.
GPx3 (plasmática)	Antioxidante nos fluidos extracelulares; a sua fonte principal é o rim; proteção da tiroide face ao peróxido de hidrogénio (nos tirócitos e no lúmen folicular).
GPx4 (fosfolípidos)	Essencialmente associada às membranas; está presente em altas concentrações nos testículos onde tem papel importante na viabilidade e mobilidade espermática.
Iodotironina desiodinase	Produção das hormonas tiroideias T3 e T3r.
Selenoproteína P	Contém 10 resíduos de selenocisteína; é o principal composto de selénio no plasma e um bom indicador do <i>status</i> do elemento; assegura o transporte do selénio, via plasma, do fígado para o cérebro, testículos e rim; possui alguma atividade antioxidante; tem importância a nível cerebral (a sua deficiência causa espasticidade, movimentos anormais e convulsões espontâneas em ratos); é importante para a fertilidade masculina; pode servir como agente quelante de metais pesados (ex. mercúrio).
Tioredoxina redutases	Atividade redox sobre uma ampla variedade de substratos, com destaque para a tioredoxina; necessária para a síntese de ADN.
Selenoproteína S	Atividade anti-inflamatória; localizado no retículo endoplasmático; possível capacidade de proteção celular face à apoptose do retículo endoplasmático induzida por stress; relacionada com o metabolismo da glicose e sensibilidade à insulina.
Selenoproteína 15 kDa	Localizada no retículo endoplasmático; pode afetar o "folding" das glicoproteínas.
Selenoproteína N	Localizada no retículo endoplasmático; possível papel na regulação da mobilização do cálcio necessário ao desenvolvimento muscular.

No que se refere ao metabolismo do selênio, a sua absorção faz-se maioritariamente por via gastrointestinal, a nível do intestino delgado e independentemente do *status* atual, atingindo maiores concentrações principalmente no fígado, rins e músculo esquelético. A excreção faz-se essencialmente por via urinária [6,80].

Em termos funcionais, e como se verifica através da análise da tabela anterior, o selênio tem funções muito diversificadas, com destaque para a sua atividade antioxidante, ao ser parte integrante das várias enzimas que compõe o complexo glutathiona peroxidase (GPx) [6], bem como para o seu papel na resposta imunitária, metabolismo da testosterona, mobilidade e viabilidade dos espermatozoides e metabolismo das hormonas tiroideias [74].

A deficiência de selênio não tem uma grande incidência a nível global, sendo que a sua ocorrência num determinado grupo populacional se deve principalmente a uma baixa concentração de selênio no solo, a qual por sua vez origina uma baixa incorporação do elemento nas plantas, um menor *intake* por parte dos animais que habitam essas zonas e, conseqüentemente, uma menor quantidade de selênio nos alimentos consumidos por esse grupo populacional. Para além da quantidade absoluta no solo, outros fatores ligados ao elemento e ao próprio solo podem diminuir a disponibilidade do selênio para a cadeia alimentar, como seja o tipo de formas químicas em que o elemento se encontre presente, o pH do solo e seu conteúdo em matéria orgânica e a presença de iões que possam formar complexos com o selênio [46,47,78].

A deficiência de selênio está intimamente relacionada com doença de Keshan, uma cardiomiopatia rara, observada em determinadas regiões da China com teores muito baixos de selênio no solo, e que parece estar relacionada com uma mutação numa estirpe não virulenta do vírus Cocksackie, mutação essa que apenas ocorrerá em indivíduos marcadamente seleno-deficitários [10,46,73].

Um déficit subclínico de selênio torna o indivíduo mais suscetível a doenças cardiovasculares, alterações comportamentais e de humor e patologias do foro oncológico. Origina também efeitos deletérios sobre a função imunológica e a capacidade antioxidante, afetando ainda o normal metabolismo das hormonas tiroideias [74,81].

Situações de toxicidade causadas por excesso de selênio (selenose) são também pouco frequentes, estando geralmente associadas à toma inadequada de suplementos alimentares ou ao consumo de alimentos contaminados. A selenose cursa com sintomas como mau hálito (semelhante ao do consumo de alho), distúrbios gastrointestinais,

irritabilidade, queda de cabelo, unhas quebradiças, fadiga e perturbações moderadas a nível do sistema nervoso [46,47,73,74].

1.5.2.5 – Zinco

O zinco é o segundo elemento vestigial essencial mais abundante no organismo humano, apenas superado pelo ferro, existindo no adulto (70 kg) cerca de 2-3 g de zinco, com uma concentração no plasma de aproximadamente 1 mg/L [46,47].

No que se refere às fontes alimentares, o zinco é um elemento largamente distribuído na natureza, estando presente em quantidades muito significativas em alimentos como a carne, peixe, queijo, avelãs, amêndoas, feijão, sementes, lentilhas, salsa, produtos à base de cereais e frutos do mar, com destaque para as ostras, um alimento com um teor de zinco muito elevado. Para assegurar um estoque adequado do elemento no organismo, é recomendado uma aporte médio diário de 15 mg [6,46,47,82].

O zinco é maioritariamente absorvido no intestino delgado, com a colaboração das enzimas pancreáticas que ajudam a libertar o metal dos alimentos onde se encontra. O processo de absorção pode ser prejudicado pela presença de fitatos, alto teor de cálcio, hipoproteinemia e quantidades elevadas de ácido fólico [6,46,73,83].

Na circulação sanguínea o zinco encontra-se maioritariamente ligado a proteínas, com destaque para a albumina e a alfa-2 macroglobulina. É assim distribuído aos tecidos periféricos, encontrando-se cerca de 85% do zinco total do organismo no músculo e no osso e 11% na pele e no fígado (onde é armazenado sob a forma de metalotioneínas, para fazer face a situações de aporte reduzido, embora este *pool* hepático não seja muito significativo). É essencialmente um metal intracelular, estando 40% localizado no núcleo, 50% no citoplasma e o restante a nível da membrana celular [6,46,83,84].

A excreção faz-se predominantemente pelo trato gastrointestinal (por via fecal), sendo que uma pequena percentagem de zinco é eliminada pela urina, transpiração, pele (descamação) e cabelo [6,46].

Do ponto de vista funcional, o zinco é parte integrante de cerca de 200 enzimas com importantes propriedades catalíticas [74,84].

Como exemplos deste vasto conjunto de enzimas temos a enzima conversora da angiotensina (ECA), a anidrase carbónica, as ADN e ARN polimerases, a fosfatase alcalina e a superóxido dismutase (Cu,Zn-SOD), uma importante enzima antioxidante, já atrás referida a propósito do cobre [6].

Deste modo, e face ao elevado número de enzimas que dele dependem, o zinco assume um papel relevante em muitas e variadas funções e/ou atividades biológicas do organismo humano, nomeadamente em tudo o que se relaciona com a expressão da informação genética, quer a nível do metabolismo intermédio, quer a nível da transmissão e regulação dessa mesma informação. A nível hormonal a sua ação é também merecedora de destaque, pelo seu envolvimento na síntese, armazenamento e atividade das hormonas peptídicas. Destaque ainda para o seu papel protetor das estruturas biológicas face aos radicais livres, quer como cofator, juntamente com o cobre, da Cu,Zn-SOD, quer mantendo um nível adequado de metalotioneínas, proteínas fixadoras de metais (principalmente zinco e cobre) que possuem grande capacidade de captação dos radicais hidroxilo, na prática os grandes responsáveis pela toxicidade das espécies reativas de oxigénio (ROS) [84,85].

O zinco é ainda necessário para o desenvolvimento físico, hemóstase, função imunitária, síntese de ADN, funções neurosensoriais, funções reprodutivas, metabolismo ósseo, funcionamento da tiroide e processo apoptótico. Com o envelhecimento, parece passar a existir uma “preferência” por parte das metalotioneínas para fixar zinco em vez de cobre, originando deste modo uma menor disponibilidade do zinco para se constituir como cofator das enzimas e proteínas dele dependentes, o que leva, entre outras consequências, a uma deterioração da função imunitária [73,84,85].

Apesar da sua ampla presença a nível alimentar, a deficiência de zinco ocorre com uma frequência não negligenciável. Assume especial relevo em países de menores recursos, com destaque para países africanos e do Médio Oriente, onde a má nutrição é muito prevalente e onde uma alimentação exageradamente rica em fibras leva a uma diminuição do zinco disponível para ser absorvido pelo organismo [46,47].

Para além destes aspetos nutricionais, a deficiência de zinco está frequentemente associada a patologias hepáticas e renais, síndromes de má-absorção, alcoolismo, diabetes mellitus, doença inflamatória intestinal e doença de células falciformes [6,86].

Em relação aos sinais e sintomas da deficiência, estes são muitos e diversificados, como se compreende pela quantidade de enzimas e, conseqüentemente, de tecidos e órgãos que podem ser afetados, podendo traduzir-se em distúrbios gastrointestinais, alterações a nível olfativo e do paladar, má cicatrização, dermatite, alopecia, disfunção imunitária, redução da capacidade funcional dos músculos respiratórios, intolerância à glicose, perturbações da síntese de ADN, distúrbios neuropsicológicos (incluindo depressão), atraso de crescimento e diminuição da capacidade protetora face ao stress oxidativo [6,46,47,73,74,83].

Situações de toxicidade por sobrecarga de zinco são relativamente pouco frequentes, uma vez que não é praticamente armazenado no organismo (à exceção de uma pequena quantidade, cerca de 170 mg, ligada às metalotioneínas no fígado), pelo que situações de aporte excessivo dão lugar a uma menor taxa de absorção e a um aumento da excreção [46,84].

No que se refere a toxicidade aguda, esta pode ocorrer associada a casos pontuais de inalação de vapores de óxido de zinco, dando origem a um quadro clínico habitualmente autolimitado de estado febril semelhante a gripe com sintomas que incluem fadiga, mialgias, dispneia, paladar metálico, leucocitose, sede e tosse [46,84].

Situações de exposição crónica prendem-se essencialmente com a toma prolongada de suplementos alimentares contendo zinco, podendo daí resultar uma situação de défice de cobre. Esta interação entre os dois elementos deve-se ao facto de um excesso de zinco ter como consequência uma indução da produção de metalotioneínas a nível hepático, as quais, por terem maior afinidade para o cobre do que para zinco, originam uma diminuição dos níveis de cobre livre (disponível) [73,84].

Deste modo, o excesso de zinco poderá originar distúrbios a nível hematológico, como anemia sideroblástica, leucopenia e neutropenia, decréscimo da atividade da ceruloplasmina e da SOD, alteração do metabolismo das lipoproteínas (com redução dos níveis de HDL-colesterol) e comprometimento da função imunitária, podendo-se verificar que muitas destas alterações são semelhantes às referidas para a deficiência de cobre, o que é explicado pela inter-relação entre os dois elementos acima referida [47,73,74,84].

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

Objetivos

O trabalho realizado, que consistiu na avaliação ao longo do tempo do *status* de cinco elementos vestigiais (chumbo, cobre, manganês, selênio e zinco) numa população de doentes com insuficiência renal crónica em fase terminal submetidos a hemodiálise como terapia substitutiva da função renal, teve como objetivo principal detetar eventuais alterações nos níveis sanguíneos dos mesmos que pudessem de algum modo relacionar-se com a elevada morbilidade e mortalidade que aqueles doentes apresentam.

Um objetivo adicional foi a avaliação do efeito que o tempo de permanência em hemodiálise poderá ter nessas eventuais alterações.

Para eliminar variações pontuais e dar maior fiabilidade ao estudo, as determinações foram repetidas por diversas vezes (geralmente 6 ou 8) ao longo de um período de cerca de 16 meses.

Para uma mais fácil e segura interpretação dos resultados obtidos, foram efetuadas idênticas determinações em grupos de controlo (indivíduos residentes na mesma área geográfica sem evidência laboratorial de insuficiência renal).

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 – Colheita das amostras

As amostras de sangue foram colhidas através de punção venosa convencional. Foram usados tubos de colheita próprios para análise de elementos vestigiais: Vacutainer[®], “royal blue top”, com K₂EDTA, da BD Diagnostics, para colheita de sangue total (determinação de chumbo e manganês); Vacuette[®], “trace elements”, da Greiner Bio-One, para a colheita de soro (determinação de cobre, zinco e selênio). A separação do soro e a conservação das amostras foi feita com os cuidados habituais em laboratório de Análises Clínicas, tomando todas as precauções para proteger as amostras de eventuais contaminações.

As colheitas foram sempre efetuadas antes do início da sessão de hemodiálise.

De todos os indivíduos foi registada a data de nascimento e a data de início da realização do tratamento de hemodiálise. A idade e o tempo a que se encontravam a realizar hemodiálise na altura do estudo foram calculados relativamente ao ponto médio da duração desse mesmo estudo. De todos os doentes estudados foi igualmente recolhida informação sobre diversos parâmetros bioquímicos que pudessem ter interesse para a interpretação dos resultados obtidos na determinação dos elementos vestigiais.

3.2 – Material e reagentes de uso geral

Em todo o trabalho foi sempre usada água ultrapura (resistividade > 18,2 MOhm.cm a 25 °C), obtida com um sistema de desionização da marca Millipore, modelo Milli-Q RG ou da marca Sartorius, modelo arium[®] pro.

Para acidificar as soluções usou-se sempre ácido nítrico concentrado, TraceSELECT[®], da Fluka (ref.^a 84385).

Todo o material usado (balões volumétricos, tubos de ensaio, etc.) era de plástico, e foi previamente descontaminado por lavagem com solução de HNO₃ 10% (v/v), preparada a partir de ácido nítrico concentrado (purum p.a., ≥65%, da Fluka).

Para pipetar amostras e soluções usaram-se pipetas da marca Gilson, com ponteiras de plástico, estas usadas tal como adquiridas do fabricante e descartadas após uso.

Para controlo de qualidade analítica (nomeadamente o controlo da exatidão) usaram-se amostras de controlo Seronorm[™] Trace Elements, da Sero AS: Whole Blood level 1, 2 e 3 (para as determinações em sangue total) e Serum level 1 e 2 (para as determinações no soro sanguíneo).

3.3 – Análise das amostras

3.3.1 – Determinação de cobre e zinco no soro por EAA/chama

Na primeira fase do estudo, a determinação de cobre e zinco foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica com atomização em chama (EAA/chama). Para o efeito recorreu-se a um espectrofotómetro da marca PerkinElmer, modelo 3100, operado de acordo com as recomendações do fabricante e seguindo procedimentos analíticos também descritos no manual do equipamento [87].

Para a determinação de cobre, o procedimento analítico consistia na simples diluição da amostra com igual volume de água ultrapura e a preparação de soluções de calibração em glicerol a 10% (v/v), para simulação da matriz. Depois era medida a absorvência de todas as soluções a 324,8 nm. Nestas condições era esperada uma resposta linear até 5,0 mg/L, com uma concentração característica de 0,077 mg/L.

Para a determinação de zinco, a amostra era diluída 1+4 com água ultrapura e as soluções de calibração eram preparadas em glicerol a 5% (v/v). A leitura da absorvência era, neste caso, feita a 213,9 nm. Nestas condições era esperada uma resposta linear até 1,0 mg/L, com uma concentração característica de 0,0018 mg/L.

Nota: quando o volume de amostra era reduzido, a determinação de zinco foi efetuada na mesma diluição da amostra preparada para a determinação do cobre.

As soluções de calibração para efetuar as determinações de cobre e zinco foram preparadas por adequada diluição de soluções padrão comerciais (1000 mg/L), Certipur®, da Merck. O glicerol (87%, qualidade *proanalysis*) era da marca Panreac.

3.3.2 – Determinação de chumbo e manganês no sangue total por EAA/AE

Na primeira fase do estudo, a determinação de chumbo e manganês foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (EAA/AE), também comumente designada por EAA em “forno de grafite”.

O equipamento era um espectrofotómetro de absorção atômica da marca PerkinElmer, modelo 4100 ZL, equipado com um amostrador automático AS-70 e um sistema de atomização de aquecimento transversal (THGA) com tubos de grafite com plataforma de L'vov integrada. Este equipamento é dotado de um sistema de correção de “background” (absorção não específica e dispersão de radiação) por efeito de Zeeman longitudinal, o qual assegura uma adequada correção daquele tipo de interferências. O gás de purga e

proteção do sistema de atomização era argon de elevada pureza (BIP-X50S, ref.^a 62390, fornecido pela Gasin).

a) Determinação de chumbo

A determinação do chumbo foi feita segundo um procedimento analítico recomendado e devidamente validado [88]. Resumidamente, as amostras de sangue total (sangue colhido em tubos contendo K₂EDTA como anticoagulante) eram manualmente diluídas (50 µL + 600 µL), agitando muito bem, nas próprias cuvetes do amostrador automático, com uma solução diluente / modificadora de matriz.

Esta solução diluente / modificadora de matriz era uma solução aquosa contendo um agente tensoativo (Triton X-100 a 0,1% v/v), para promover a hemólise dos glóbulos rubros, e dihidrogenofosfato de amónio (10 g/L), que atua como “modificador de matriz”.

Para a sua preparação usou-se Triton X-100 (ref.^a 8603) e dihidrogenofosfato de amónio (ref.^a 101124), tal como comercializados pela Merck.

As soluções de calibração foram preparadas a partir de uma solução padrão comercial, PerkinElmer GFAAS Mixed Standard solution, da PerkinElmer, por adequada diluição com aquela mesma solução diluente / modificadora de matriz.

Todas as soluções assim preparadas eram depois colocadas no amostrador automático que procedia à sua injeção (20 µL) no tubo de grafite.

O programa de temperaturas do forno de grafite era o seguinte:

Etapa	Temperatura / °C	Rampa / s	“Hold” / s
1 Secagem	110	1	20
2 Secagem	130	15	30
3 Pirólise	850	10	30
4 Atomização	1600	0	5
5 Limpeza	2450	1	5

A medida da absorvência (área do pico na etapa 4) era feita a 283,3 nm (fenda 0,7 nm).

b) Determinação de manganês

A determinação do manganês foi feita segundo um procedimento analítico baseado nas recomendações do fabricante, adaptadas à matriz sangue total. Resumidamente, as

amostras eram manualmente diluídas (1+4 v/v), nas próprias cuvetes do amostrador automático, com uma solução contendo Triton X-100 0,2% (v/v) e HNO₃ 0,2% (v/v).

Como para a determinação do chumbo, as soluções de calibração foram preparadas a partir da solução padrão comercial, PerkinElmer GFAAS Mixed Standard solution, da PerkinElmer, por adequada diluição com a mesma solução diluente.

Depois, todas as soluções eram colocadas no amostrador automático que procedia à sua injeção (15 µL) no tubo de grafite conjuntamente com 5 µL de solução de modificador de matriz. Esta continha paládio e nitrato de magnésio (5 µL = 5 µg de Pd e 3 µg de nitrato de magnésio) e foi preparada a partir de soluções comerciais “Magnesium matrix modifier”, da Fluka (ref.^a 63043) e “Palladium matrix modifier”, da Merck (ref.^a B326489).

O programa de temperaturas do forno de grafite era o seguinte:

Etapa	Temperatura / °C	Rampa / s	“Hold” / s
1 Secagem	110	15	15
2 Secagem	130	15	20
3 Pirólise	1300	10	30
4 Atomização	2000	0	5
5 Limpeza	2450	1	5

A medida da absorvência (na etapa 4) era feita a 279,5 nm (fenda 0,2 nm).

3.3.3 – Determinações por ICP-MS

Na segunda fase do estudo (depois de maio de 2011), todas as determinações (cobre, zinco e selênio no soro; chumbo e manganês no sangue total) passaram a ser realizadas por ICP-MS (abreviatura do inglês Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry). Para o efeito usou-se um equipamento da marca VG Elemental (atualmente Thermo), modelo PlasmaQuad 3 e um procedimento analítico baseado no proposto e validado por Goullé et al. [89].

Para a análise do soro, as amostras eram diluídas (0,5 mL + 4,4 mL) com uma solução contendo HNO₃ 0,65% (m/v), Triton X-100 0,01% (v/v) e butanol 0,5% (v/v). Este último reagente foi adquirido à Sigma-Aldrich.

Para a análise do sangue total, as amostras e diluídas de modo idêntico, mas a solução diluente tinha uma concentração de Triton X-100 10 vezes superior: 0,1% (v/v).

As soluções de calibração foram preparadas de igual modo, partindo de uma solução padrão comercial multielemento, ICP-MS calibration standard #1 (100 mg/L), fornecida da Isostandards Material.

A todas as soluções (amostras e padrões de calibração) era adicionada uma solução de “padrões internos” (0,1 mL da uma solução de 100 µg/L), preparada a partir da solução comercial (Accutrace™ reference standard) Internal Standard #1 (Sc, Y, In, Tb e Bi), da AccuStandard.

Para a otimização diária da sensibilidade e da estabilidade do sinal (“tunning” do equipamento), usou-se a solução comercial (Accutrace™ reference standard) Tunning Solution, também da AccuStandard.

3.4 – Tratamento e análise dos resultados

O tratamento e análise estatística dos resultados, incluindo a elaboração dos gráficos apresentados, foi realizado com recurso ao software Microsoft® Excel® 2010. A comparação de médias, através o teste t de Student não emparelhado bicaudal, e o cálculo dos valores de p foi feito com o software GraphPad. Valores de $p < 0,05$ foram considerados com conferindo significado estatístico.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Chumbo

No âmbito deste estudo foram obtidos 304 resultados de Pb no sangue total, correspondendo a 8 avaliações (entre janeiro de 2011 a abril de 2012) em 58 doentes em hemodiálise (cf. Tabela abaixo).

Em duas dessas ocasiões, e para efeitos de comparação, foram também analisadas amostras de indivíduos não submetidos a hemodiálise e sem alterações analíticas sugestivas de doença renal (“controlos”).

Tabela 8 – CHUMBO: resumo do estudo.

Número de doentes	58
Idade (anos): média ± dp	67,19±14,83
Tempo em HD (anos): média ± dp	2,83±2,37
N.º de avaliações	8
Total de resultados	304
Média ± dp	14,8±4,8 µg/dL

Número de “ controlos ”	44
Idade (anos): média ± dp	52,61± 20,26
N.º avaliações	2
Total resultados	44
Média ± dp	3,8±2,5 µg/dL

A amostra de doentes foi maioritariamente masculina (n=33; 56,9%) com uma média de idades de 67,19±14,83 anos. À altura da realização do estudo os doentes encontravam-se a realizar hemodiálise há cerca de 2,83±2,37 anos.

Os resultados encontram-se resumidos na Figura seguinte, que mostra o valor médio (e respetivo desvio padrão) da concentração de chumbo no sangue para o conjunto dos doentes em cada uma das oito avaliações. Mostram-se também os resultados das amostras dos “controlos” (indivíduos não em hemodiálise), colhidas em Julho de 2011 (n=23) e Abril de 2012 (n=21) perfazendo um total de 44 indivíduos, sendo 19 do sexo masculino e 25 do sexo feminino, com uma média de idades de 52,61±20,26.

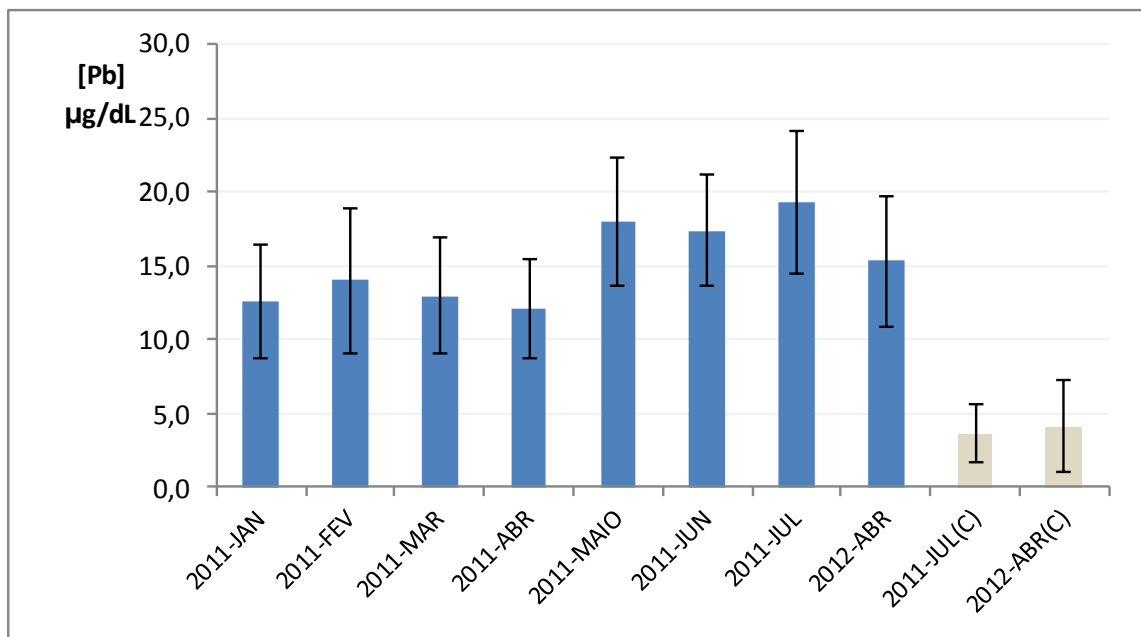


Figura 8 – Resultados obtidos na determinação de Pb no sangue dos doentes em hemodiálise em cada uma das 8 avaliações efetuadas. À direita os resultados obtidos nos “controles” em duas avaliações.

Globalmente, nos doentes em hemodiálise, observa-se a ocorrência de valores significativamente elevados, quando interpretados à luz do que são os valores de referência atualmente aceites para indivíduos não expostos ocupacionalmente a chumbo (< 4,9 µg/dL segundo a referência [90]; < 6,0 µg/dL segundo a referência [91]. Face ao grupo controlo observa-se igualmente uma diferença muito significativa ($p < 0,0001$), com um valor médio global (envolvendo todo o período de avaliação; $n=304$ resultados) de $14,8 \pm 4,8$ µg/dL nos doentes em hemodiálise versus $3,8 \pm 2,5$ µg/dL no grupo controlo.

Importa destacar que as atuais guidelines dos CDC (Centers for Disease Control and Prevention), dos EUA, recomendam que para níveis de chumbo entre 10 e 19,9 µg/dL se procure reduzir a exposição ao metal e aumentar a monitorização biológica dos indivíduos [90]. Neste estudo, a grande maioria dos doentes ($n=51$; 79,4%) apresentaram valores superiores a este limite de 10 µg/dL.

Quando se encontrem valores superiores a 20 µg/dL, é preconizada a remoção da exposição ao chumbo e a procura de uma imediata avaliação médica. Nestas circunstâncias (nível de chumbo superior a 20 µg/dL) encontraram-se dois (3,4%) dos doentes.

A quelatoterapia (administração de uma substância quelante, como por exemplo a D-penicilamina, para remover o chumbo do organismo, promovendo a sua excreção

urinária) está recomendada para níveis de chumbo superiores a 50 µg/dL, os quais não foram observados em nenhum caso.

Foi depois avaliada a eventual relação entre os níveis de chumbo e o tempo de permanência em tratamento dialítico, ou seja, entre os níveis de chumbo e o número de anos decorridos desde que o doente havia começado a realizar hemodiálise (Figura 9).

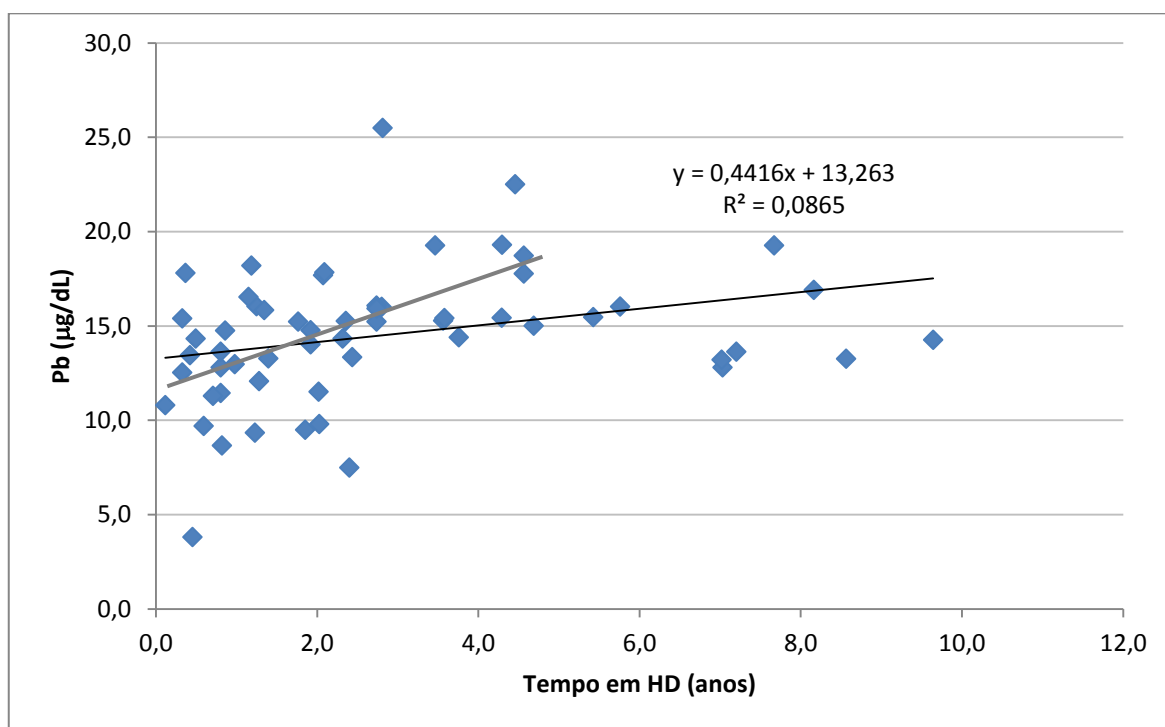


Figura 9 – Relação entre os níveis de Pb no sangue e o tempo de permanência em hemodiálise.

A figura mostra uma correlação positiva significativa entre as duas variáveis ($p < 0,0014$), sendo que a tendência para um maior nível de chumbo em função do tempo em hemodiálise se verifica até cerca dos 5 anos ($y = 1,4188x + 11,595$; $R^2 = 0,2515$), ocorrendo depois uma clara estabilização.

Num estudo de revisão sistemática e meta-análise conduzido por Tonelli *et al.* [3] em 2009, que incidiu sobre 128 estudos envolvendo doentes hemodialisados e grupos controlo em que foram determinados 19 elementos vestigiais, incluindo o chumbo, os autores concluíram que este elemento era parte integrante do grupo daqueles em que, na maioria dos casos, se haviam obtido resultados superiores nos doentes hemodialisados.

Num estudo posterior (2011) conduzido por Ari *et al.* [92], que teve como objetivo principal relacionar os distúrbios ao nível dos elementos vestigiais e metais pesados com o grau de aterosclerose nos pacientes com IRC submetidos a hemodiálise regular, os

valores obtidos para o chumbo foram também significativamente superiores ($p < 0,001$) relativamente aos controlos: $0,41 \pm 0,38 \mu\text{g/dL}$ vs. $0,10 \pm 0,05 \mu\text{g/dL}$. (Notar que estes valores se referem a determinações de chumbo no soro e não no sangue total).

Estes resultados estão corroborados por outras avaliações recentes [93,94], em que para além da obtenção de valores significativamente mais elevados nos doentes em hemodiálise relativamente aos controlos, se observou também uma correlação positiva entre os níveis de chumbo e o tempo de permanência em hemodiálise, tal como se verificou no nosso estudo.

De notar, porém, que nem sempre esta correlação tem sido observada. Num estudo já antigo (1993), de Colleoni *et al.* [95], embora também tenham sido encontrados níveis de chumbo significativamente mais elevados nos doentes em hemodiálise relativamente ao grupo controlo, o seu aumento com tempo de permanência em hemodiálise não foi observado.

Embora existam alguns trabalhos que reportem observações contrárias, como seja um estudo antigo (1998) de Bonforte *et al.* [96], em que se compararam os níveis de elementos vestigiais (incluindo o chumbo) em 24 doentes com IRC em hemodiálise convencional relativamente a 20 doentes em hemodiafiltração e a um grupo controlo e se obtiveram valores de chumbo significativamente menores nos doentes nas duas modalidades terapêuticas, algo que os próprios autores consideraram estranho, a ocorrência de níveis elevados de chumbo no sangue dos doentes em hemodiálise é um achado mais ou menos consensual [3].

Estes níveis elevados de chumbo em doentes com IRC submetidos a tratamento por hemodiálise têm sido atribuídos à reduzida função renal, que predispõe à acumulação do elemento [93,94,97] e a uma remoção inadequada através do processo de diálise em si mesmo [92,94,97].

A eventual contaminação da água utilizada na preparação da solução dialisante é também um fator referido por alguns autores [6,92,96], e poderá ter tido a sua importância no passado e ainda a ter em alguns países. Não será porém o caso de Portugal e da generalidade dos países desenvolvidos onde quer a água de consumo, quer depois a água purificada usada para preparar a solução dialisante são rigorosamente controladas, pelo que esta fonte de chumbo não deverá ter uma relevância significativa [93,97].

Os elevados níveis de chumbo também têm sido atribuídos a uma menor ingestão de ferro (o status de ferro correlaciona-se negativamente com o teor de chumbo no sangue), uma vez que a absorção de chumbo é prejudicada pela presença de ferro [93].

No entanto, ao que tudo indica, a principal causa para os níveis elevados de chumbo no sangue nos doentes em hemodiálise será o hiperparatireoidismo secundário que afeta os doentes com IRC nos estádios mais avançados. O tecido ósseo concentra a quase totalidade do chumbo do organismo (cerca de 95%) [98], sendo o seu tempo de semivida no osso muito elevado (décadas) [99]. Estes depósitos de chumbo podem ser mobilizados para a circulação sanguínea em consequência da ação da PTH a nível ósseo, a qual estimula a atividade osteoclástica com o objetivo de libertar cálcio para a corrente sanguínea de modo a corrigir a hipocalcemia que os doentes com IRC avançada habitualmente apresentam [11,16,100].

Os doentes envolvidos no nosso estudo apresentavam valores de PTH relativamente elevados ($307,7 \pm 260,7$ ng/L). Não se observou, contudo, qualquer correlação entre os valores de PTH e os níveis de chumbo, o que, porém, tem sido obtido nalguns estudos [93,95,97].

Esta associação entre hiperparatireoidismo secundário e níveis elevados de chumbo nos doentes em hemodiálise ficou bem evidenciada num estudo de Lu *et al.* [101], que consistiu na administração intravenosa, durante 4 meses, de calcitriol a doentes hemodialisados com valores de PTH superiores a 300 ng/L. A avaliação periódica dos níveis da hormona, bem como de outros marcadores de remodelação óssea (isoenzima óssea da fosfatase alcalina e fosfatase ácida resistente ao tartarato), e dos níveis de chumbo mostrou, no final do tempo de tratamento, uma redução significativa dos valores de PTH e de chumbo.

4.2 – Cobre

No âmbito deste estudo foram obtidos 268 resultados de Cu no soro, correspondendo a 6 avaliações (entre março de 2011 a abril de 2012) em 55 doentes (cf. Tabela abaixo).

Em duas dessas ocasiões (julho 2011 e abril 2012) foram também analisadas amostras de indivíduos não submetidos a hemodiálise e sem alterações analíticas sugestivas de doença renal (“controles”).

Tabela 9 – COBRE: resumo do estudo.

Número de doentes	55
Idade (anos): média ± dp	66,74±14,69
Tempo em HD (anos): média ± dp	2,60±2,15
N.º de avaliações	6
Total de resultados	268
Média ± dp	98,1±23,2 µd/dL

Número de “ controles ”	62
Idade (anos): média ± dp	52,10±18,94
N.º de avaliações	2
Total de resultados	62
Média ± dp	126,6±31,2 µd/dL

A amostra foi maioritariamente masculina (n=31; 56,4%) com uma média de idades de 66,74±14,69 anos. À altura da realização do estudo os doentes encontravam-se a realizar hemodiálise em média há cerca de 2,60±2,15 anos.

Os resultados encontram-se resumidos na Figura seguinte, que mostra o valor médio (e respetivo desvio padrão) do conjunto de resultados em cada avaliação. Mostram-se também os resultados dos dois grupos de controlo (2 x 31), perfazendo um total de 62 indivíduos, 26 (41,9%) do sexo masculino e 36 (58,1%) do sexo feminino, com uma média de idades de 52,10±18,94.

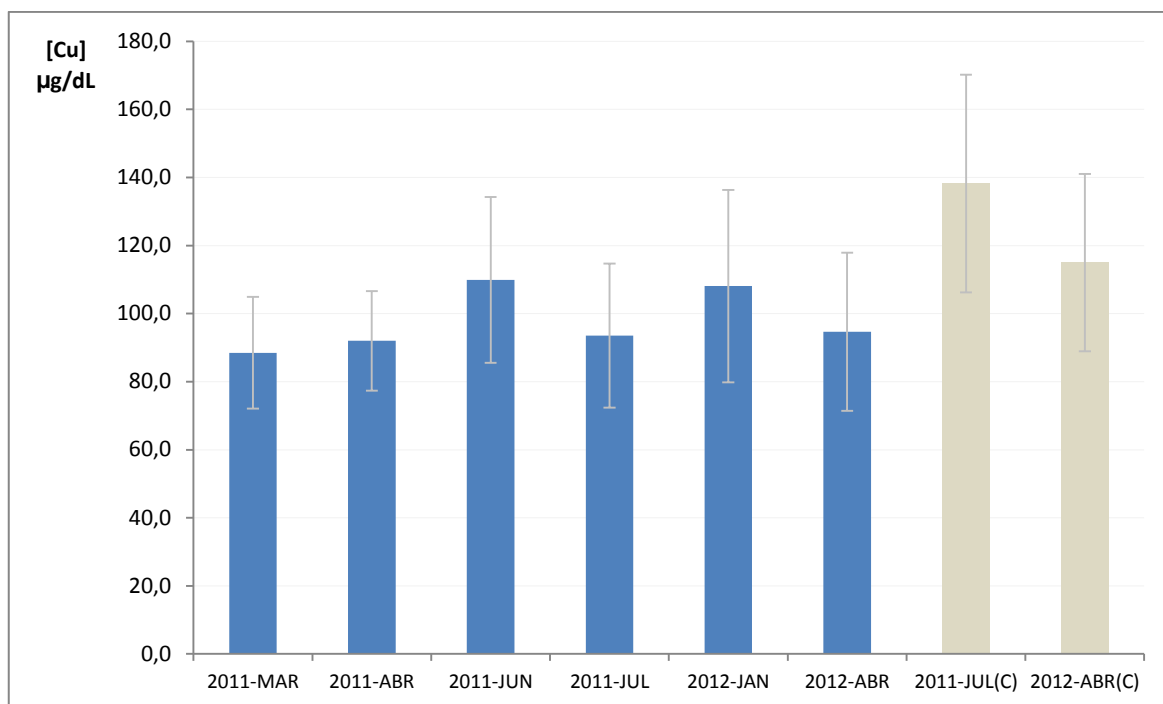


Figura 10 – Resultados obtidos na determinação de Cu no soro dos doentes em hemodiálise em cada uma das 6 avaliações efetuadas. À direita os resultados obtidos nos “controles” em duas avaliações.

Tomados em conjunto, os resultados obtidos para os doentes em hemodiálise enquadram-se dentro do intervalo de referência comumente aceite para cobre no soro [75-145 µg/dL] [91], embora com um valor médio ($98,1 \pm 23,2$ µg/dL) ligeiramente deslocado para baixo relativamente ao centro desse intervalo de referência (110 µg/dL). O mesmo se observa na sua comparação com os resultados do grupo de controlo, que resultou numa diferença estatisticamente significativa ($98,1 \pm 23,2$ µg/dL vs. $126,6 \pm 31,3$ µg/dL; $p < 0,0001$).

No trabalho de Tonelli *et al.* (2009) já referido [3], a maioria dos estudos incluídos na meta-análise ($n=20$) documentavam a obtenção de níveis de cobre não significativamente diferentes na população em hemodiálise, havendo porém estudos que indicavam quer um aumento ($n=16$) quer uma diminuição ($n=6$) dos mesmos, sendo que, portanto, o obtido no presente estudo (ligeira diminuição dos teores de cobre) se encontra dentro do menos frequente.

Mais recentemente (2011), Arif *et al.* [92], na sua avaliação em doentes hemodialisados da relação entre os distúrbios ao nível dos elementos vestigiais (essenciais e metais pesados) e o grau de aterosclerose, observaram a ocorrência de valores

significativamente mais elevados na população hemodialisada relativamente aos controlos.

De referir ainda que também existe um estudo sobre esta temática numa população pediátrica em hemodiálise [102], não tendo sido encontradas alterações significativas nos níveis de cobre.

No que se refere a uma eventual correlação entre os níveis séricos de cobre e o tempo de permanência em tratamento de hemodiálise, ao contrário do observado com o chumbo, tal não se verificou, ou seja, os níveis de cobre mostraram-se independentes do maior ou menor período de tempo a que os doentes se encontravam a fazer hemodiálise, como se observa na figura seguinte.

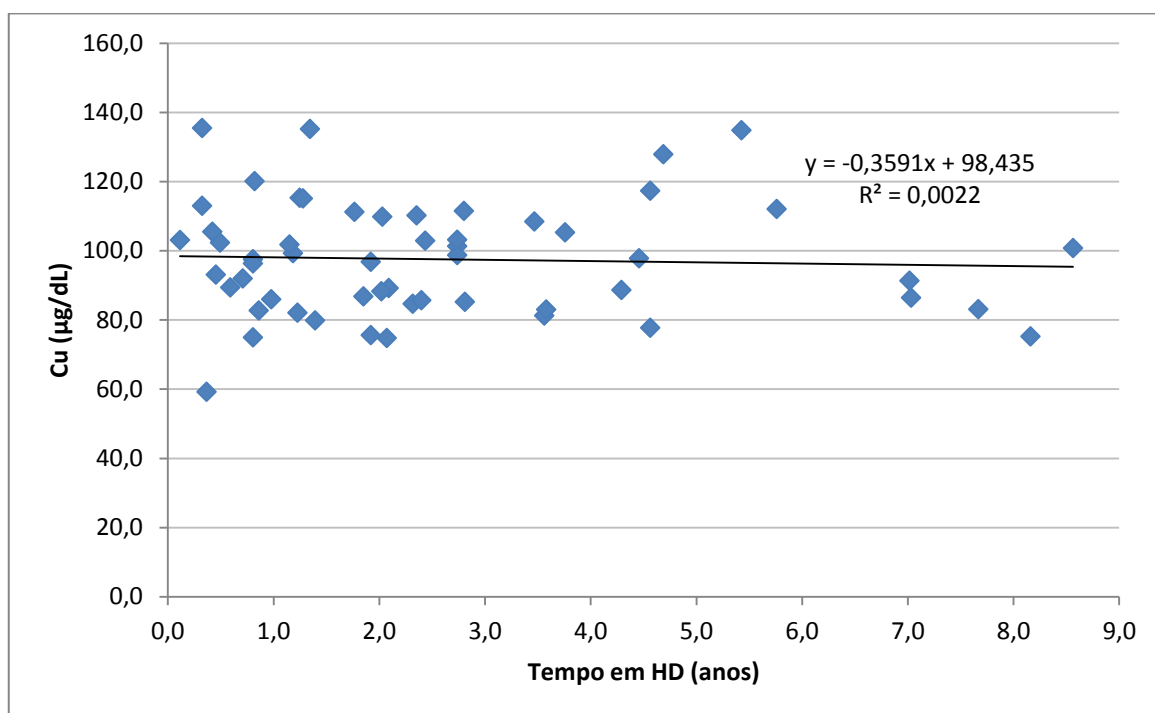


Figura 11 – Relação entre os níveis de Cu no soro e o tempo de permanência em hemodiálise.

Os resultados obtidos no presente estudo poder-se-ão explicar como a consequência da conjugação de uma série de fatores que, individualmente, pressionam os níveis de cobre no soro em sentidos opostos, e que, em conjunto, resultaram, neste caso, numa tendência para valores ligeiramente baixos.

Deve destacar-se que a revisão de Tonelli *et al.* [3] abarca estudos realizados no período de 1966 até 2008, pelo que nela estão incluídos estudos já bastante antigos, envolvendo centros de diálise que recorriam sobretudo a membranas dialíticas de cuprofano, as quais

representavam por si só uma fonte de cobre, o qual podia ser libertado para a corrente sanguínea dos pacientes durante o processo de diálise, justificando os valores elevados que foram encontrados [73]. Adicionalmente, sendo o cobre um elemento relativamente abundante na água de consumo (proveniente sobretudo das canalizações), podendo estar presente ao nível do mg/L, a sua presença na solução dialisante é muito provável se o sistema de purificação da água para hemodiálise não for devidamente eficiente.

Atualmente, com a melhoria dos processos de purificação da água e dos materiais usados para o fabrico das membranas de diálise, os fatores acima referidos terão perdido importância, pelo que, e admitindo a possibilidade de ocorrerem ligeiras perdas do elemento para a solução dialisante durante o processo de diálise, se entende que deixem de se encontrar valores elevados de cobre, podendo mesmo aparecer diminuídos, como foi o caso.

Importa referir ainda que o estado inflamatório que caracteriza habitualmente os doentes em hemodiálise está associado a níveis mais elevados de cobre [92]. No estudo por nós realizado, foi possível verificar uma correlação significativa entre os valores de cobre e de traduzido por valores elevados de proteína C reativa (PCR), como mostra a figura seguinte.

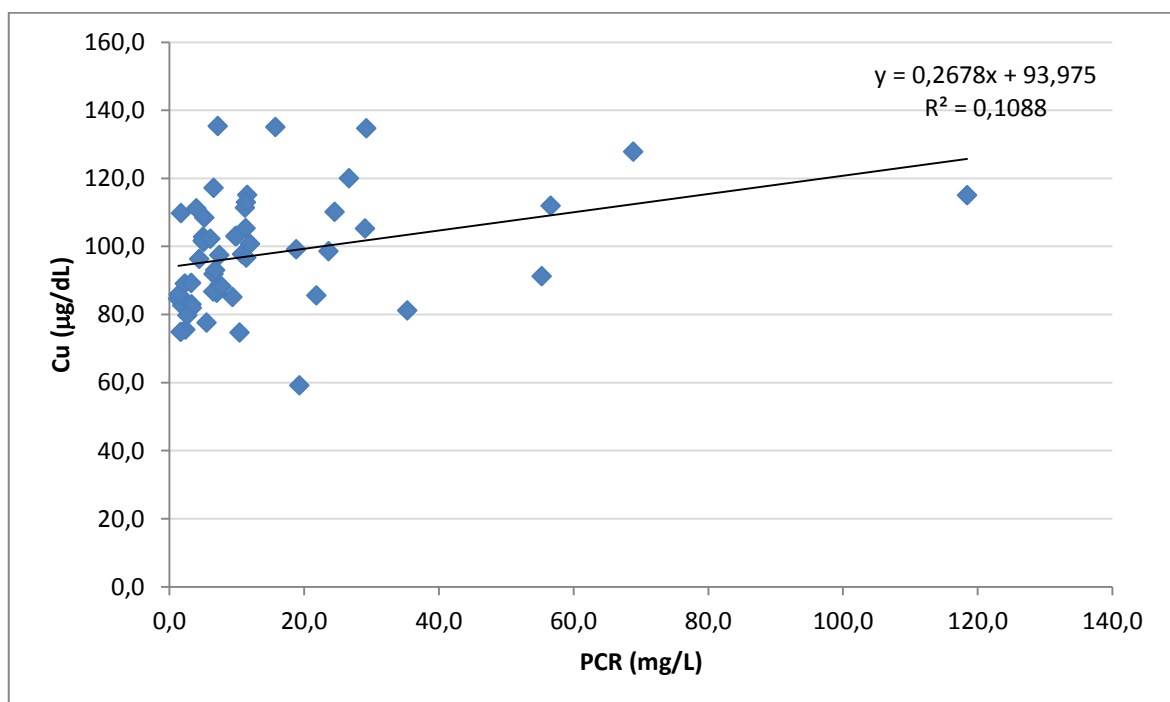


Figura 12 – Relação entre os níveis de Cu e de PCR nos doentes em hemodiálise.

Finalmente há um outro fator que pode condicionar (fazendo diminuir) os níveis séricos de cobre: uma reduzida absorção intestinal nos doentes em hemodiálise [63]. A absorção intestinal de cobre pode ainda ser mais reduzida no caso de os doentes recorrerem à toma de suplementos contendo zinco.

4.3 – Manganês

No âmbito do presente estudo foram obtidos 290 resultados de Mn no sangue total, correspondentes a 8 avaliações (entre janeiro de 2011 a abril de 2012) em 58 doentes (cf. Tabela abaixo).

Em duas dessas ocasiões (julho de 2011 e abril de 2013) foram também analisadas amostras de indivíduos não submetidos a hemodiálise e sem alterações analíticas sugestivas de doença renal (“controlos”).

Tabela 10 – MANGANÊS: resumo do estudo.

Número de doentes	58
Idade (anos): média ± dp	67,19±14,83
Tempo em HD (anos): média ± dp	2,83±2,37
N.º de avaliações	8
Total de resultados	290
Média ± dp	11,1±4,3 µg/L

Número de “ controlos ”	44
Idade (anos): média ± dp	52,61±20,26
N.º de avaliações	2
Total de resultados	44
Média ± dp	10,3±2,0 µg/L

A amostra de doentes em hemodiálise foi maioritariamente masculina (n=33; 56,9%) com uma média de idades de 67,19±14,83 anos. À altura da realização do estudo os doentes encontravam-se a realizar hemodiálise há 2,83±2,37 anos.

Os resultados obtidos (valor médio e respetivo desvio padrão) em cada uma das oito avaliações encontram-se resumidos na figura seguinte. Na figura mostram-se também os resultados do grupo controlo: 44 indivíduos, sendo 19 do sexo masculino e 25 do sexo feminino, com uma média de idades de 52,61±20,26.

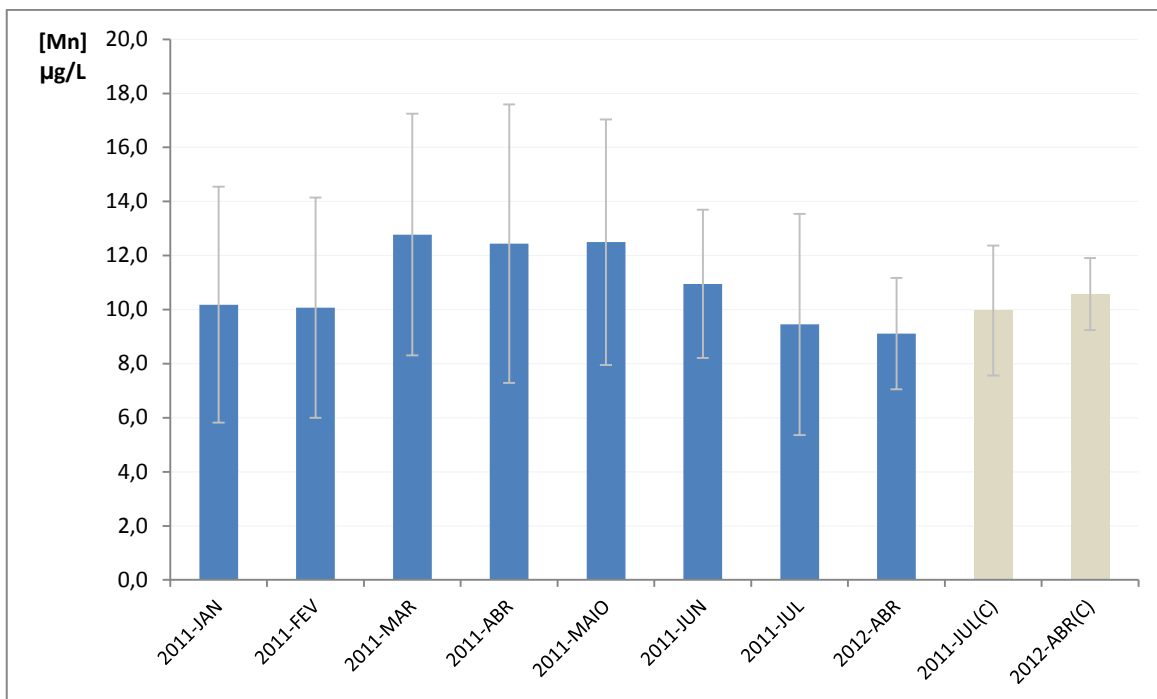


Figura 13 – Resultados obtidos na determinação de Mn no sangue total dos doentes em hemodiálise em cada uma das 8 avaliações efetuadas. À direita os resultados obtidos nos “controles” em duas avaliações.

Globalmente, e em todas as avaliações, os resultados obtidos situaram-se perfeitamente dentro do intervalo de referência habitualmente aceite (4,7-18,3 µg/L) segundo a referência [91]; 4,2-16,5 µg/L segundo a referência [90], com a média de todo o conjunto de resultados obtidos ($11,1 \pm 4,3$ µg/L; $n=290$) a situar-se praticamente no ponto médio desse intervalo de referência.

Quando comparados com os valores obtidos para o grupo controlo, a diferença não foi estatisticamente significativa ($11,1 \pm 4,3$ µg/L vs. $10,3 \pm 2,0$ µg/L com $p=0,2257$).

Na revisão e meta-análise de Tonelli *et al.* [3] verificou-se que, de oito estudos considerados, em nenhum se observou valores de manganês superiores nos doentes em hemodiálise relativamente aos controlos, sendo igual o número de estudos (quatro) que encontraram valores de manganês inferiores e em que não se verificou uma diferença estatisticamente significativa.

De notar que aqui estão incluídos estudos incidindo tanto sobre a determinação de manganês em sangue total como sobre a determinação em soro / plasma.

Um estudo mais recente (2011), de Ari *et al.* [92], também descreve valores de manganês significativamente inferiores nos doentes em hemodiálise, tendo as determinações sido efetuadas no soro sanguíneo.

No nosso caso, as determinações foram realizadas sangue total, a opção mais habitual, já que, a nível sanguíneo o manganês se encontra na sua maior parte ligado à hemoglobina, dentro dos eritrócitos [91,103]. Segundo alguns autores [6,104], a determinação no sangue total poderá refletir melhor os níveis de manganês nos tecidos. Alguns autores já testaram outro tipo de amostras, como o cabelo, onde foram encontrados níveis de manganês superiores nos doentes em hemodiálise relativamente aos controlos [105].

Em relação aos resultados obtidos, a não existência de diferenças significativas entre os dois grupos (doentes em hemodiálise e controlos) poderá justificar-se sobretudo com base no facto de a sua eliminação ser essencialmente hepatobiliar (fezes), sendo a excreção urinária pouco significativa [91].

Por outro lado, não se encontrou uma correlação significativa entre os valores de manganês no sangue total e o tempo de permanência em hemodiálise, à semelhança do observado noutro estudo [49].

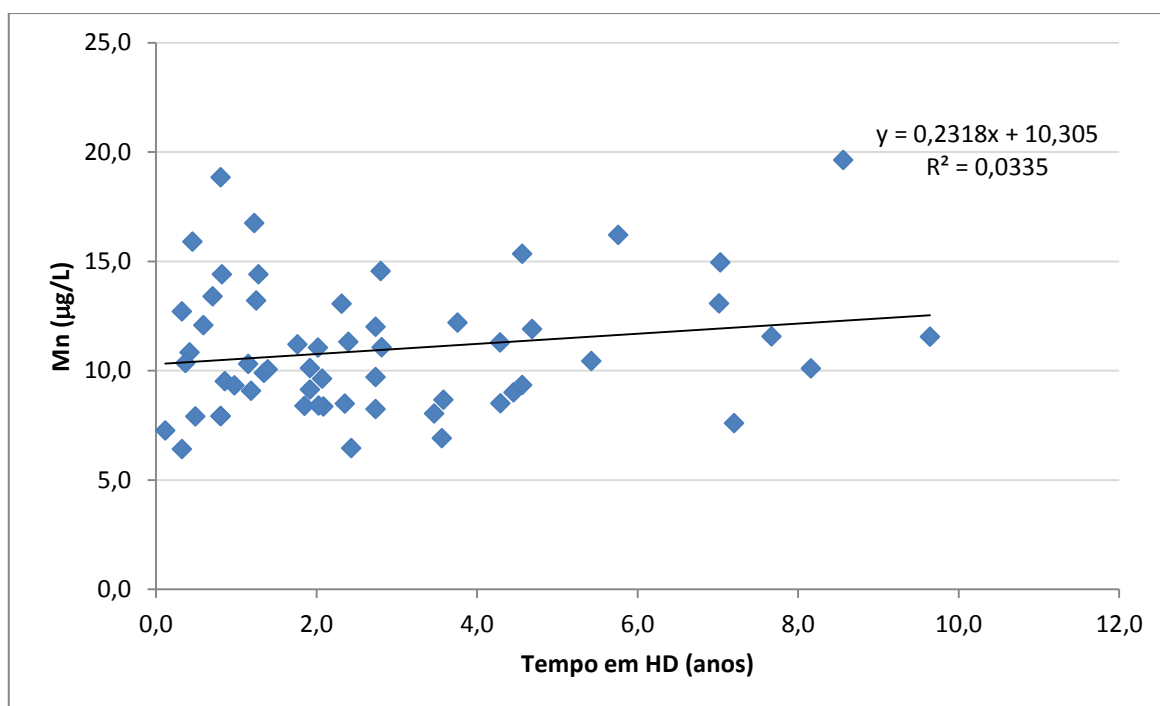


Figura 14 – Relação entre os níveis de Mn no sangue total e o tempo de permanência em hemodiálise.

4.4 – Selénio

No âmbito deste estudo foram obtidos 137 resultados de Se no soro, correspondendo a 3 avaliações (entre junho de 2011 a abril de 2012) em 52 doentes (cf. Tabela abaixo).

Numa dessas ocasiões, em abril 2012, foi também determinado o teor de selénio num grupo controlo (n=30).

Tabela 11 – SELÉNIO: resumo do estudo.

Número de doentes	52
Idade (anos): média ± dp	66,44±14,97
Tempo em HD (anos): média ± dp	2,78±2,17
N.º de avaliações	3
Total de resultados	137
Média ± dp	82,5±28,8 µg/L

Número de “ controles ”	30
Idade (anos): média ± dp	55,17±18,21
N.º de avaliações	1
Total de resultados	30
Média ± dp	129,5±28,4 µg/L

A amostra de doentes foi maioritariamente masculina (n=31; 59,6%) com uma média de idades de 66,44±14,97 anos. À altura da realização do estudo os doentes encontravam-se a realizar hemodiálise em média há cerca de 2,78±2,17 anos.

O grupo controlo era constituído por 13 indivíduos do sexo masculino (43,3%) e 17 do sexo feminino (56,7%), com uma média de idades de 55,17±18,21 anos.

Os resultados obtidos em ambos os grupos (doentes em hemodiálise e controlos) encontram-se graficamente representados na Figura 14, que mostra o valor médio e respetivo desvio padrão do conjunto de resultados em cada avaliação.

Como se observa, globalmente os valores obtidos neste estudo (82,5±28,8 µg/L) situaram-se dentro do intervalo de referência para selénio no soro adotado quer pelos *Mayo Medical Laboratories* (70-150 µg/L [91] quer pelo *Scottish Trace Element and*

Micronutrient Reference Laboratory (63-158 µg/L) [106]⁶, embora deslocados para zona inferior desse intervalo. Por comparação com o grupo controlo, para a qual se obteve um valor médio de selénio de 129,5±28,4 µg/L, a população de doente em hemodiálise apresentou um nível de selénio significativamente mais baixo ($p < 0,0001$).

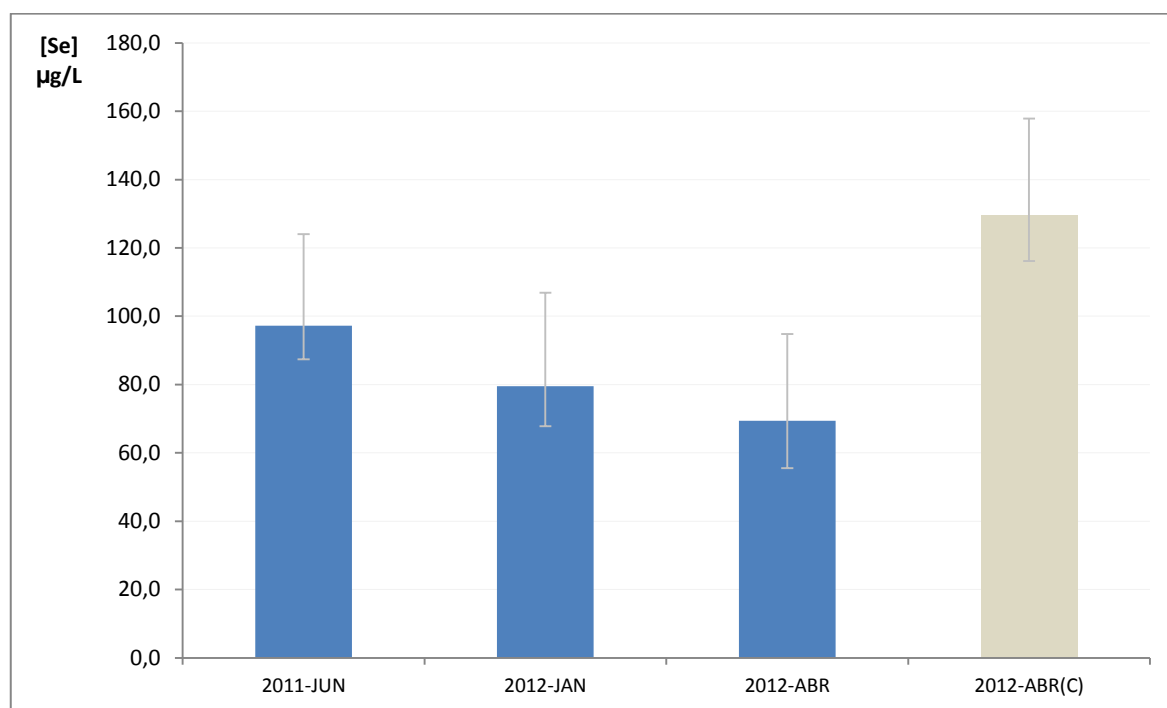


Figura 15 – Resultados obtidos na determinação de Se no soro dos doentes em hemodiálise nas 3 avaliações efetuadas. À direita os resultados obtidos no grupo “controlo”.

Tonelli *et al.*, na sua já referida revisão e meta-análise de 2009 [3], refere uma clara predominância (37/46) de estudos em que foram encontrados níveis de selénio inferiores nas populações de doentes hemodialisados versus controlos (em 8 não se observou uma diferença significativa e num os doentes apresentaram níveis superiores).

Posteriormente, em 2010, reconhecendo que as estatinas parecem apresentar efeitos antioxidantes não relacionados com a sua ação hipolipemiante, e admitindo que esses efeitos pudessem estar relacionados com um aumento, provocado pela administração de estatinas, dos níveis séricos de selénio, Taccone-Gallucci *et al.* [107] conduziram um interessante estudo que demonstrou não só que o uso crónico de estatinas aumenta de facto os níveis de selénio no soro como, por outro lado, confirmou que os doentes em hemodiálise tendem a apresentar níveis de selénio inferiores aos controlos saudáveis (81,65±19,66 µg/L versus 96,47±15,62 µg/L).

⁶ Nota: os valores de referência dos ARUP Laboratories não foram considerados neste caso por apresentarem um intervalo estranhamente alargado: 23-190 µg/L (38).

Sendo então a “deficiência” em selênio um achado muito consistente nos doentes em hemodiálise, foram já realizados estudos que procuraram avaliar o impacto desta deficiência em determinados distúrbios que afetam aqueles doentes, nomeadamente comportamentais ou de humor [81], bem como o efeito que a toma de suplementos poderá ter no sentido de a corrigir [77,108]. O efeito da administração de eritropoietina recombinante humana nos níveis de selênio (aumento ao fim de 3 meses de uso) também está demonstrado [80].

Estes menores níveis de selênio nos doentes em hemodiálise relativamente à população normal têm sido atribuídos a um menor aporte alimentar do elemento [77,81,96,109], seja por situações de alteração do paladar ou depressão, seja pelas restrições alimentares impostas pelo próprio regime terapêutico, podendo as restrições financeiras também consistirem um fator adicional [110].

Isto é consubstanciado, como se mostra nas figuras seguintes, pela observação de uma correlação direta entre os níveis de selênio e de albumina, a qual é usada como um indicador do estado nutricional nos doentes em hemodiálise, e de uma correlação inversa entre o selênio e a proteína C reativa, uma proteína de fase aguda que tem uma relação negativa com o teor de albumina no organismo [110].

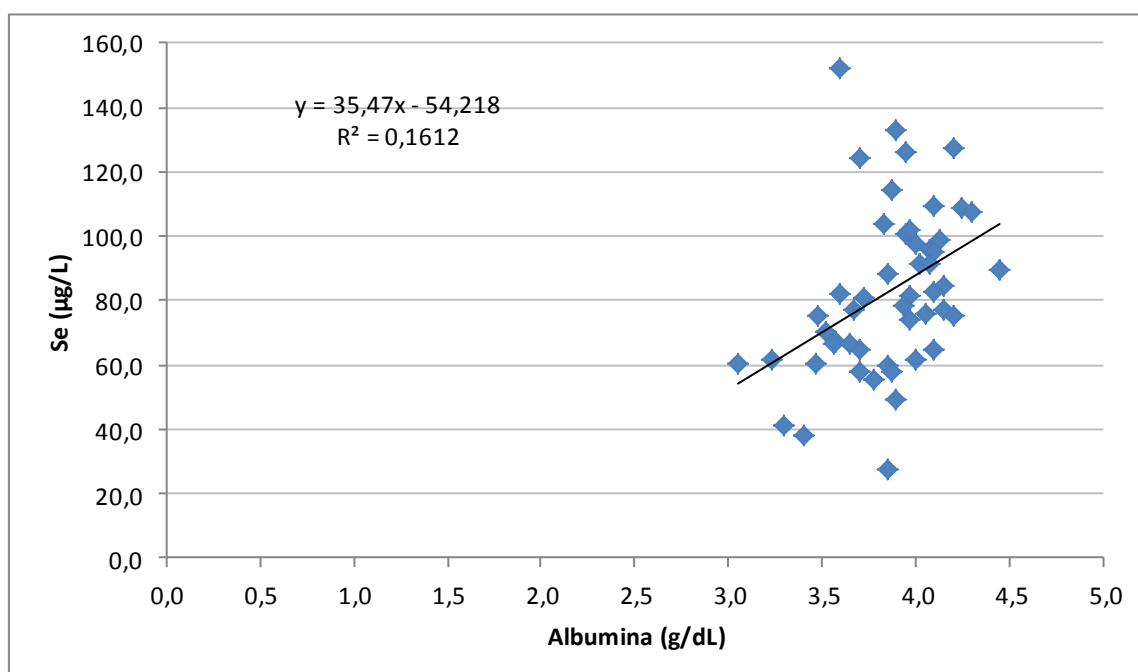


Figura 16 – Relação entre os níveis de Se e os níveis de albumina no soro dos doentes em hemodiálise.

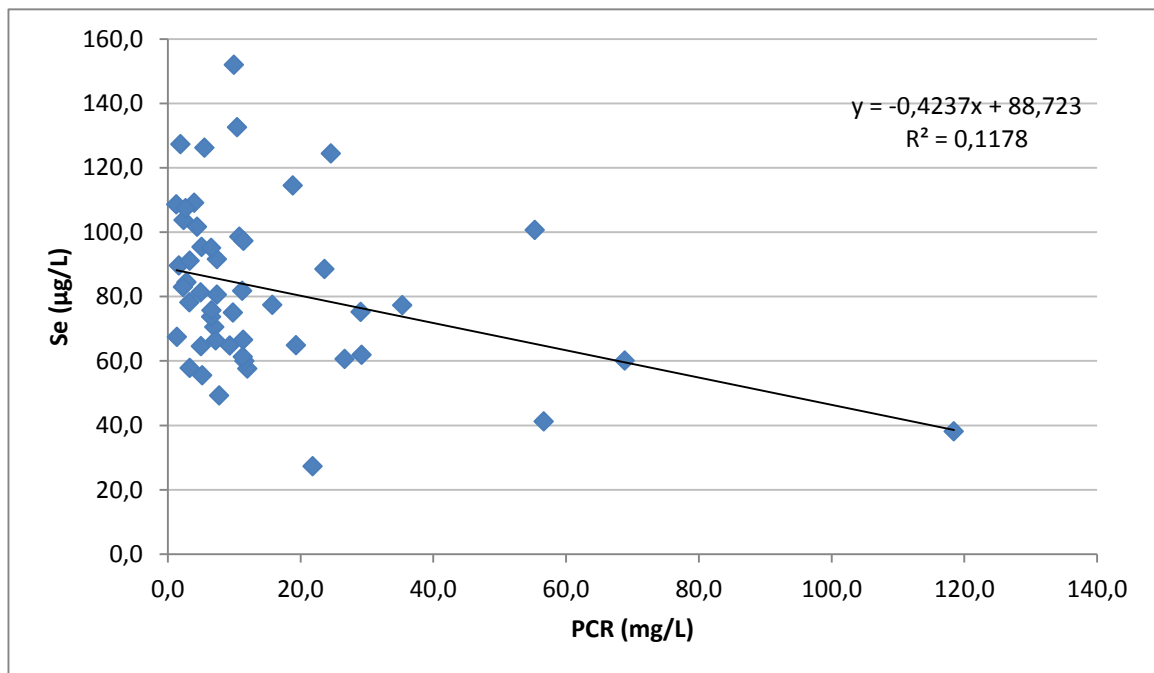


Figura 17 – Relação entre os níveis de Se e os níveis de proteína C reativa no soro dos doentes em hemodiálise.

Outros fatores que têm sido invocados para justificar os menores níveis de selênio nos doentes em hemodiálise incluem uma reduzida absorção intestinal do elemento [77,81,109], possíveis perdas urinárias acrescidas [77,109], eventuais perdas durante o próprio processo de hemodiálise [77,81,96,109]. Interações medicamentosas e uma ligação anormal às proteínas de transporte do selênio são também hipóteses que têm sido colocadas [77].

Num trabalho de revisão de Vanholder *et al.* [111] são referidos estudos em que se observou que os valores de selênio nos doentes em hemodiálise ou em diálise peritoneal são tendencialmente inferiores face aos de indivíduos com IRC que ainda não estejam sob terapêutica renal de substituição, o que permitia admitir a hipótese destas terapêuticas poderem ter um efeito de diminuição dos níveis de selênio.

No entanto, num estudo de Miura *et al.* [112], a hipótese de se verificarem perdas durante o processo de hemodiálise não foi confirmada, uma vez que não se observaram diferenças estatisticamente significativas nos níveis de selênio no soro nem na concentração de selênio na solução dialisante antes e após a sessão de diálise.

Importa referir por fim que não foi observada qualquer correlação entre os níveis de selênio e o tempo de permanência em diálise (Figura 18), o que de algum modo se entende à luz das considerações anteriores.

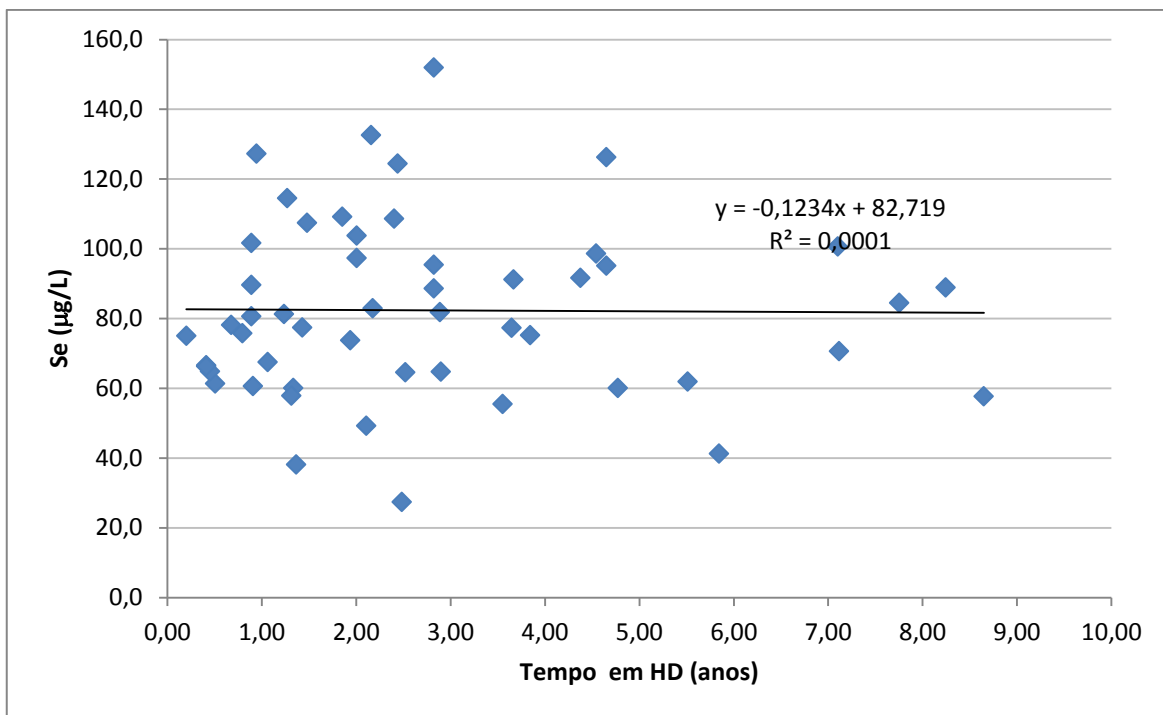


Figura 18 – Relação entre os níveis de Se no soro e o tempo de permanência em hemodiálise.

4.5 – Zinco

No âmbito do estudo realizado foram obtidos 268 resultados de Zn no soro, correspondendo a 6 avaliações (entre março de 2011 a abril de 2012) em 55 doentes (cf. Tabela abaixo).

Em duas dessas ocasiões (julho 2011 e abril 2012) foram também analisadas amostras de indivíduos controlos (n=62).

Tabela 12 – ZINCO: resumo do estudo.

Número de doentes	55
Idade (anos): média ± dp	66,83±14,69
Tempo em HD (anos): média ± dp	2,69±2,15
N.º de avaliações	6
Total de resultados	272
Média ± dp	60,3 ± 12,4 µg/dL

Número de " controlos "	62
Idade (anos): média ± dp	52,10±18,94
N.º de avaliações	2
Total de resultados	62
Média ± dp	91,0 ± 16,8 µg/dL

A amostra de doentes foi maioritariamente masculina (n=31; 56,4%) com uma média de idades de 66,83±14,69 anos. À altura da realização do estudo os doentes encontravam-se a realizar hemodiálise em média há cerca de 2,69±2,15 anos.

Os resultados encontram-se resumidos na Figura seguinte, que mostra o valor médio (e respetivo desvio padrão) do conjunto de resultados em cada uma das 6 avaliações. Nas colunas da direita mostram-se também os resultados das duas avaliações em grupos de controlo (2 x 31), perfazendo um total de 62 indivíduos, 26 (41,9%) do sexo masculino e 36 (58,1%) do sexo feminino, com uma média de idades de 52,10±18,94.

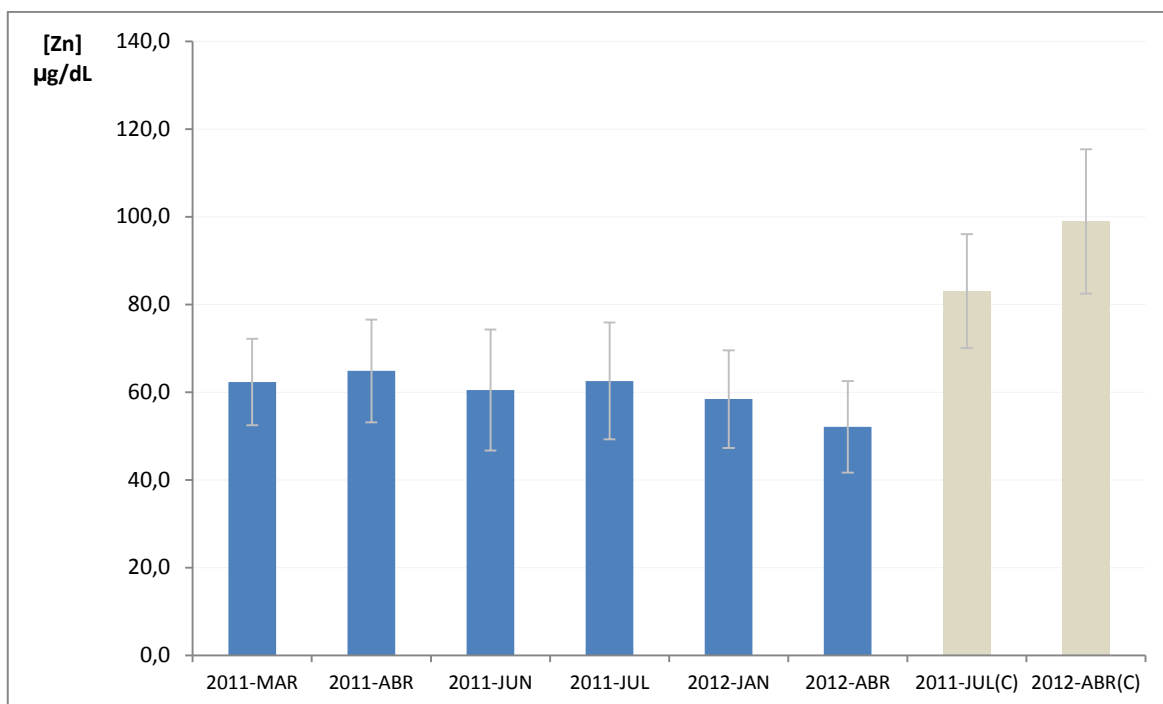


Figura 19 – Resultados obtidos na determinação de Zn no soro dos doentes em hemodiálise nas 6 avaliações efetuadas. À direita os resultados obtidos nos grupos controlo.

No seu conjunto e interpretados à luz dos valores de referência comumente aceites (66-110 µg/dL, segundo a referência [91]; 60-120 µg/dL, segundo a referência [90] os resultados obtidos ($60,3 \pm 12,4$ µg/dL) encontram-se sobre, ou mesmo abaixo do limite inferior do intervalo de referência. E relativamente indivíduos controlo, os doentes em hemodiálise apresentaram também níveis de zinco significativamente inferiores: $60,3 \pm 12,4$ µg/dL versus $91,0 \pm 16,8$ µg/L ($p < 0,0001$).

À semelhança do verificado para o selénio, esta observação também está bem documentada no estudo de revisão de Tonelli *et al.* de 2009 [3], onde é referido que a maioria dos estudos analisados (cerca de 76%) reportava níveis de zinco nos doentes em hemodiálise significativamente inferiores aos dos controlos. Este achado foi mais recentemente (2011) confirmado por Ari *et al.* [92].

Segundo os dados de Vanholder *et al.* [111], na sua revisão de 2002, estes níveis diminuídos de zinco parecem estar associados à própria insuficiência renal, já que os doentes com IRC apresentavam valores significativamente inferiores mesmo sem estarem ainda a realizar terapia dialítica (hemodiálise ou diálise peritoneal).

Num estudo mais recente (2011), que visou estabelecer uma ligação entre a concentração de alguns elementos vestigiais, a contagem de linfócitos no sangue periférico, a inflamação e o stress oxidativo em doentes a efetuar hemodiálise ou diálise

peritoneal, Guo *et al.* [113] encontraram, no que se refere ao zinco, valores significativamente inferiores nos doentes hemodialisados relativamente tanto aos controlos como também aos doentes em diálise peritoneal.

À semelhança do referido para o selénio, também aqui o reduzido aporte diário do elemento tem sido considerado o principal fator que justifica a obtenção de valores de zinco mais baixos nos doentes em hemodiálise [82,112,114].

Nas figuras seguintes pode verificar-se a correlação positiva que foi encontrada no nosso estudo entre os níveis de zinco e a concentração sérica de albumina e a correlação negativa entre os níveis de zinco e de proteína C reativa.

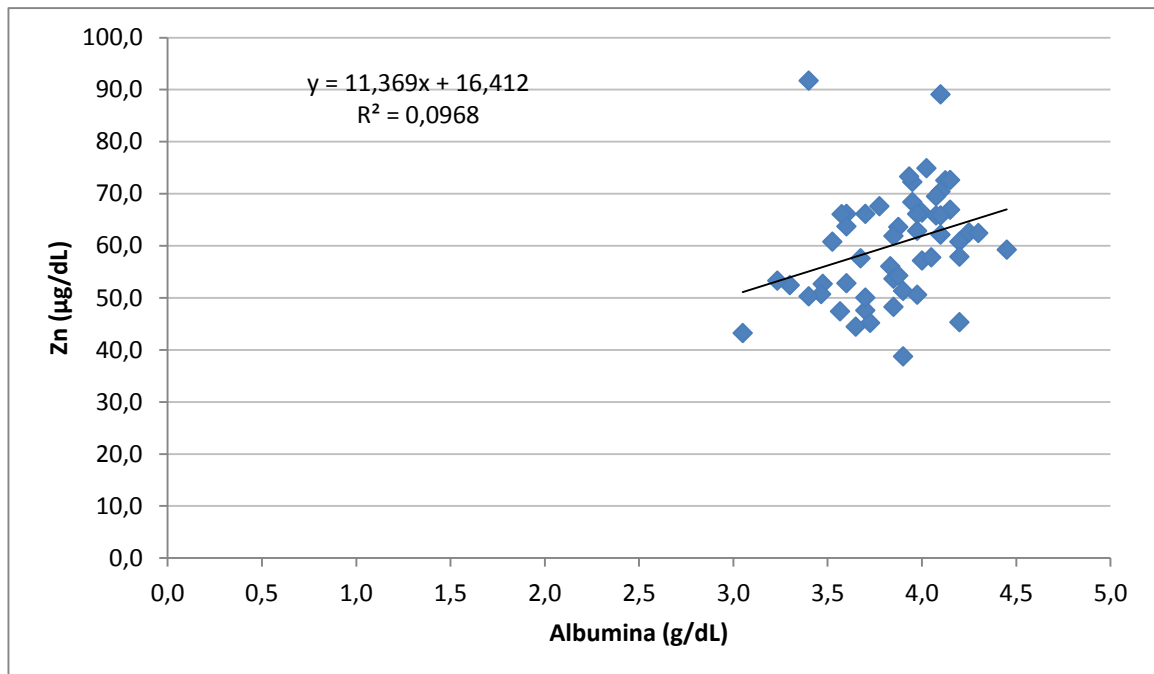


Figura 20 – Relação entre os níveis de Zn e os níveis de albumina no soro dos doentes em hemodiálise.

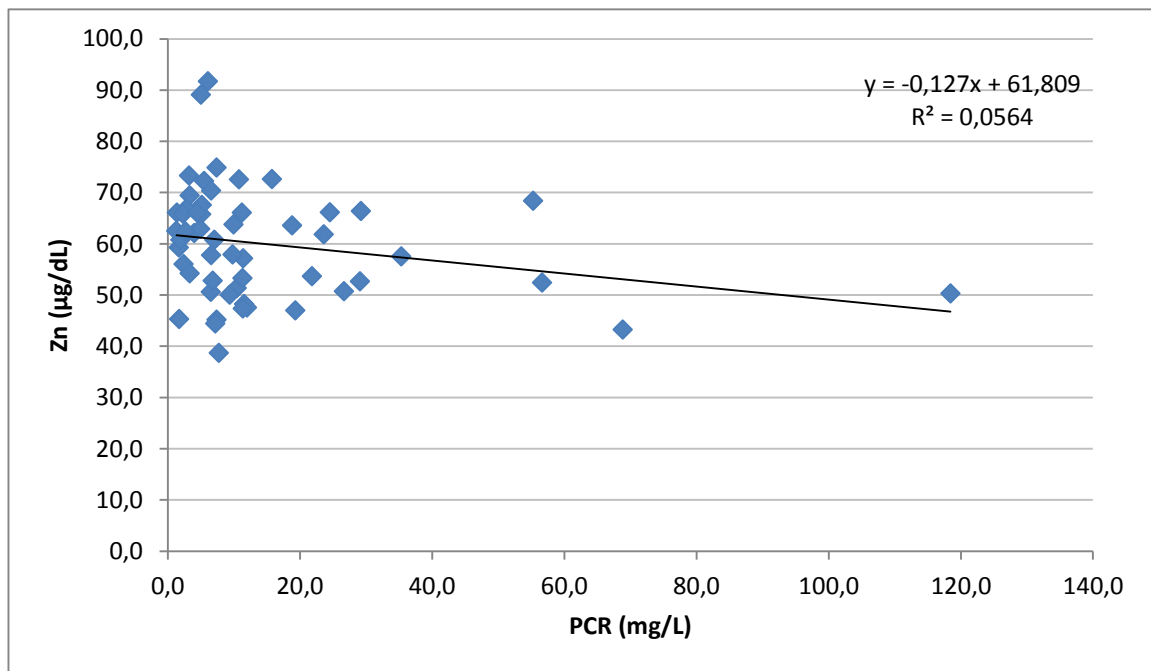


Figura 21 – Relação entre os níveis de Zn e os níveis de proteína C reativa no soro dos doentes em hemodiálise.

A má absorção intestinal zinco é outro fator que pode justificar os diminuídos níveis de zinco nos doentes em hemodiálise [6,63,82,112,114]. A perturbação da absorção intestinal do zinco devido ao aumento do teor de fosfato no lúmen intestinal na sequência da utilização de quelantes de fosfato, como o hidróxido de alumínio [63] ou sais de cálcio [96], pode ser outro fator que justifica a diminuição da concentração sérica de zinco nos doentes em hemodiálise.

A possibilidade de, durante o processo dialítico, poderem ocorrer perdas consideráveis de zinco para a solução dialisante também foi uma hipótese considerada [6]. No entanto, estudos especificamente realizados para esclarecer esta questão parecem contrariá-la, tendo mesmo sido observados ligeiros aumentos da concentração de zinco no soro [112,115] e a diminuição da concentração de zinco na solução dialisante durante a sessão de diálise.

O tempo de permanência em tratamento de hemodiálise não parece condicionar significativamente os níveis de zinco no soro, embora se possa admitir a tendência para um pequeno aumento nos primeiros anos de tratamento

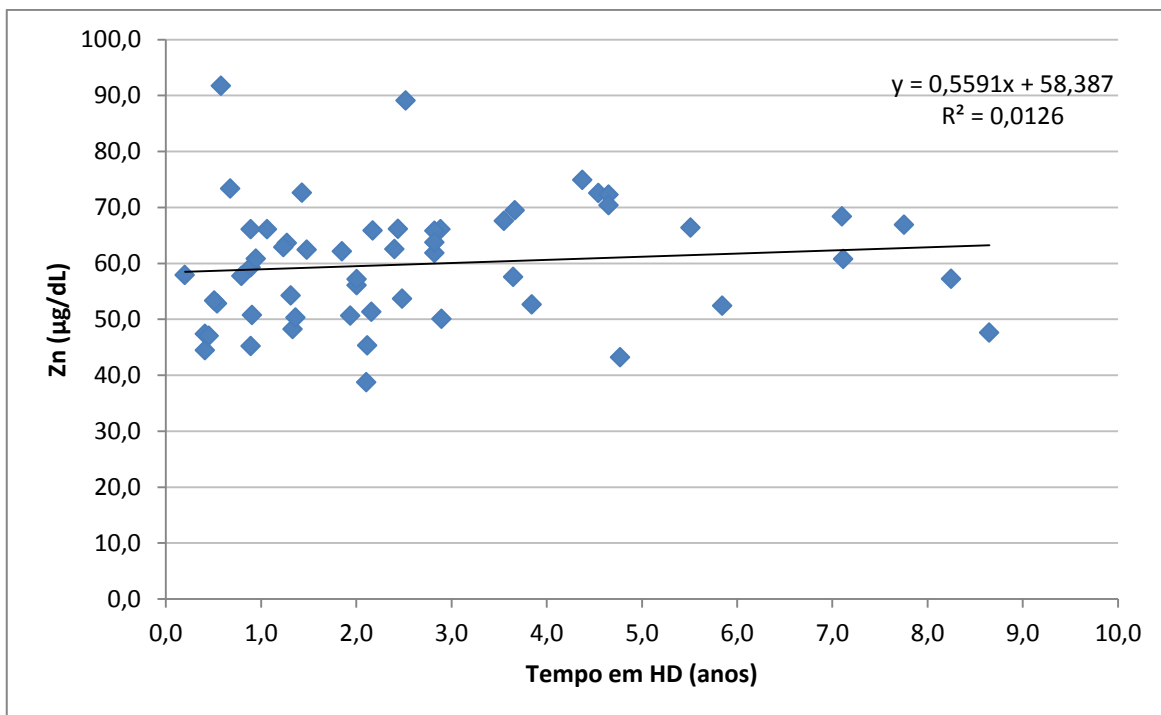


Figura 22 – Relação entre os níveis de Zn no soro e o tempo de permanência em hemodiálise.

Atendendo às semelhanças verificadas no comportamento do zinco e do selênio ao longo do estudo, avaliou-se a possível existência de correlação entre as concentrações dos dois elementos, tendo-se obtido uma correlação positiva muito significativa.

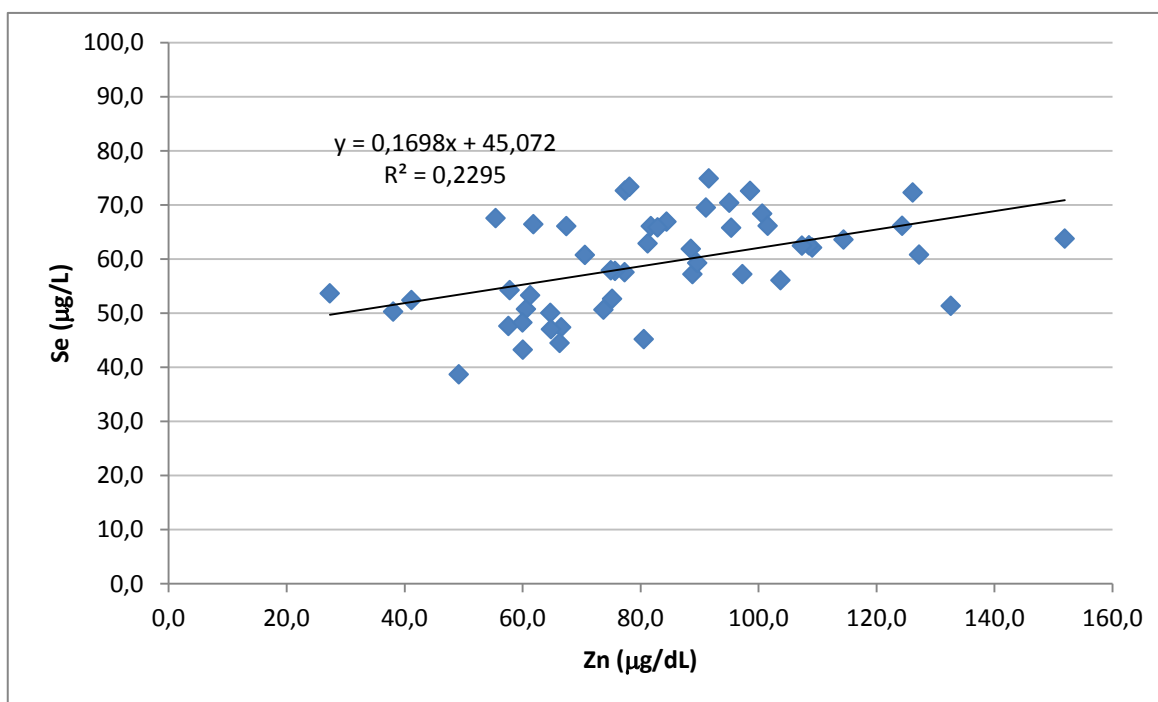


Figura 23 – Correlação entre os níveis de Zn e de Se no soro dos doentes em hemodiálise.

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1 – Conclusões

Os resultados obtidos neste estudo de monitorização confirmam que nos doentes com insuficiência renal crónica a realizar tratamento de hemodiálise tende a verificar-se a ocorrência de desequilíbrios nos níveis de importantes elementos vestigiais. Com exceção do manganês, em que se observaram valores normais e não significativamente diferentes dos do grupo controlo, para os restantes elementos foram observadas diferenças significativas: valores aumentados no caso do chumbo e valores diminuídos nos restantes casos (cobre, selénio e zinco).

O estudo decorreu durante um período de tempo relativamente longo (cerca de 16 meses), com exceção do selénio envolveu 6 ou 8 avaliações, entre o que permitiu obter um conjunto alargado de resultados, com vários doseamentos para o mesmo doente ao longo do tempo, o que confere consistência às conclusões, ao eliminar o efeito das naturais flutuações dos valores individuais ao longo do tempo.

Foi também estudado o efeito que, nos níveis dos elementos vestigiais, tem o tempo a que o doente se encontra sob tratamento de hemodiálise, fator que só se mostrou verdadeiramente importante no caso do chumbo, em que parece haver um significativo aumento da concentração de chumbo no sangue durante os primeiros 5 anos de tratamento.

Embora este estudo não tivesse sido concebido no sentido de determinar quais as principais causas responsáveis pelas distúrbios nos níveis de elementos vestigiais nos doentes em hemodialise, foi possível verificar que, nomeadamente no caso do selénio e do zinco, aspetos de natureza nutricional poderão estar grandemente implicados.

5.2 – Considerações finais

Ao longo da realização deste trabalho pude constatar que a temática das alterações nos níveis de elementos vestigiais nos doentes em hemodiálise tem sido objeto de estudo a nível de investigação, existindo um relativamente grande número de publicações sobre o assunto, mas que, porém, na prática clínica este tema não é ainda muito considerado, sendo o alumínio, por razões bem conhecidas, o único elemento vestigial que é periodicamente controlado neste tipo de doentes.

Pela análise da literatura sobre o assunto, complementado com a observação dos resultados obtidos, parece-me que seria positivo que estes parâmetros passassem a merecer maior atenção por parte dos clínicos, pelas claras implicações que estes distúrbios acarretam.

Por outro lado, foi-me possível verificar que está definido um rigoroso controlo da qualidade da água utilizada na preparação da solução dialisante, bem como do processo de fabrico dos concentrados e da manutenção de todos os equipamentos, nomeadamente dos dialisadores, que também tecnicamente evoluíram bastante nos últimos anos, o que poderá justificar que tenham deixado de se observar algumas das sobrecargas de elementos vestigiais descritas na literatura.

Os estados de deficiência, ou melhor, a ocorrência nos doentes em hemodiálise de níveis mais baixos que nos indivíduos que não realizam esse tipo de tratamento, parecem ser mais comuns. Em alguns casos, nomeadamente no caso do zinco e do selénio, podem justificar a realização de ensaios no sentido de verificar se a correção dessas (ligeiras) deficiências não resultaria numa diminuição da morbilidade e mortalidade que afeta os doentes em hemodiálise.

Seria igualmente interessante efetuar estudos onde se conjugasse o doseamento dos elementos vestigiais com o de marcadores de stress oxidativo, como MDA (malonildialdeído), TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) e enzimas antioxidantes (SOD, GPx), de forma a esclarecer qual o mecanismo pelo qual as alterações nos níveis dos elementos vestigiais causam doença. Concretamente, saber se isso se resume a implicações no processo de stress oxidativo, como é geralmente considerado, ou se outro tipo de mecanismos estarão envolvidos.

CAPÍTULO 6

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referências bibliográficas

- [1] Bioquímica básica – Insuficiência renal crônica. In: Gaw A, Cowan RA, O'Reilly D SJ, Stewart MJ, Shepherd J. Bioquímica Clínica. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2001. p. 32-3.
- [2] Covic A, Gusbeth-Tatomir P. Trace elements in end-stage renal disease--unfamiliar territory to be revealed. BMC Nephrol 2009 Jun; 10:12.
- [3] Tonelli M, Wiebe N, Hemmelgarn B, Klarenbach S, Field C, Manns B, et al. Trace elements in hemodialysis patients: a systematic review and meta-analysis. BMC Med. 2009 May;7:25.
- [4] Silva F, Boleta A, Rico C, Godinho AP, Almeida L, Lucena R. Água, concentrados e fluidos de diálise. In: Gomes A, Ambrósio F, Gomes F, Vieira F, Fazendeiro J, Oliveira R, et al. Revisão técnica. Manual de hemodiálise para Enfermeiros. Coimbra: Almedina; 2011. p. 91-6.
- [5] Lockitch G, Fasset JD, Gerson B, Nixon DE, Parson JP, Savory J. Control of preanalytical variation in trace element determinations; Approved Guideline. NCCLS document C38-A 1997 Set; 17 (13):1.
- [6] Rucker D, Thadhani R, Tonelli M. Trace element status in hemodialysis patients. Semin Dial. 2010 Jul-Aug; 23(4):389-95.
- [7] Pinto G, Ferreira AB, Ribeiro OM, Antunes VM, Galvão J. Anatomia e fisiologia renal e insuficiência renal crônica. In: Gomes A, Ambrósio F, Gomes F, Vieira F, Fazendeiro J, Oliveira R, et al. Revisão técnica. Manual de hemodiálise para Enfermeiros. Coimbra: Almedina; 2011. p. 39-47.
- [8] Rego M. Revisão técnica. Atlas de Anatomia. 1.^a ed. Potsdam: h.f.ullmann; 2009.
- [9] Junqueira LC, Carneiro J. Aparelho urinário. In: Junqueira LC, Carneiro J. Histologia básica. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1990. p. 281-97.
- [10] Guyton AC. Formação de urina por el riñón: filtración glomerular, función tubular y aclaramiento plasmático. In: Guyton. Tratado de fisiología medica. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de Espanha; 1988. p. 392-4.
- [11] Whelton A, Watson AJ, Rock RC. Nitrogen metabolites and renal function. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 2.^a ed. Philadelphia: Saunders; 1994. p. 1513-75.

- [12] Química Geral. In: Sacher RA, McPherson RA, Campos JM. Widmann: Interpretação clínica dos exames laboratoriais. Barueri (SP): Manole; 2002. p. 455.
- [13] Interpretação Laboratorial dos Exames Endócrinos. In: Sacher RA, McPherson RA, Campos JM. Widmann: Interpretação clínica dos exames laboratoriais. Barueri (SP): Manole; 2002. p. 751-3.
- [14] Gianella P, Martin PY, Stucker F. Management of renal anemia in 2013. Rev Med Suisse. 2013; 9(375):462-4, 466-7.
- [15] Métodos hematológicos. In: Sacher RA, McPherson RA, Campos JM. Widmann: Interpretação clínica dos exames laboratoriais. Barueri (SP): Manole; 2002. p. 35-6.
- [16] Interpretação laboratorial dos exames endócrinos. In: Sacher RA, McPherson RA, Campos JM. Widmann: Interpretação clínica dos exames laboratoriais. Barueri (SP): Manole; 2002. p. 798-800.
- [17] Ponce P. Doença renal crónica. In: Ponce P, coordenação. Manual de terapêutica médica. Lisboa: Lidel; 2010. p. 213-6.
- [18] The Kidneys. In: Marshall WJ. Clinical Chemistry. London: Mosby; 2000. p. 67.
- [19] Pendse SS, Singh A. Abordagem dos pacientes com doença renal crónica, estágios 1 a 4. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS, editors. Manual de diálise. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2008. p. 3.
- [20] Ponce P. Terapêutica substitutiva da função renal. In: Ponce P, coordenação. Manual de terapêutica médica. Lisboa: Lidel; 2010. p. 217-26.
- [21] Marchão C, Cachado AS, Matias T, de Sousa T, Pimenta S. Insuficiência renal crónica terminal – Manifestações clínicas e opções terapêuticas. In: Gomes A, Ambrósio F, Gomes F, Vieira F, Fazendeiro J, Oliveira R, et al. Revisão técnica. Manual de hemodiálise para Enfermeiros. Coimbra: Almedina; 2011. p. 51-64.
- [22] Pendse SS, Singh A, Zawada Jr E. Início da diálise. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS, editors. Manual de diálise. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2008. p. 16-8.
- [23] Daugirdas JT. Princípios fisiológicos e modelo da cinética da ureia. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS, editors. Manual de diálise. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2008. p. 23-31.

- [24] Ashmad S, Misra M, Hoenich N, Daugirdas JT. Aparelho de hemodiálise. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS, editors. Manual de diálise. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2008. p. 54-63.
- [25] Braunwald E, Chertow GM. Diálise. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. Harrison manual de medicina. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil; 2002. p. 698-9.
- [26] Daugirdas JT. Prescrição de hemodiálise crônica: uma abordagem da cinética da ureia. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS, editors. Manual de Diálise. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2008. p. 137-8.
- [27] Lacson Jr E. Hemodiálise: Avaliando a adequação. In: Hricik DE, Sedor JR, Ganz MB. Segredos em Nefrologia. São Paulo: Artmed Editora; 2002. p. 197-8.
- [28] Wish JB. Aspectos técnicos da hemodiálise. In: Hricik DE, Sedor JR, Ganz MB. Segredos em Nefrologia. São Paulo: Artmed Editora; 2002. p. 193-6.
- [29] Ward RA, Ing TS. Água especial e preparo da solução de hemodiálise. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS, editors. Manual de diálise. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2008. p. 76-81.
- [30] Batista PM, Peixoto AB, Ribeiro ID, Fonseca MM, Gonçalves MML, Neto S, Neves J, et al. Máquinas de hemodiálise. In: Gomes A, Ambrósio F, Gomes F, Vieira F, Fazendeiro J, Oliveira R, et al. Revisão técnica. Manual de hemodiálise para Enfermeiros. Coimbra: Almedina; 2011. p. 143-4.
- [31] Sherman RA, Daugirdas JT, Ing TS. Complicações durante a hemodiálise. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS, editors. Manual de diálise. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2008. p. 158-67.
- [32] Negrea LA. Complicações da hemodiálise. In: Hricik DE, Sedor JR, Ganz MB. Segredos em Nefrologia. São Paulo: Artmed Editora; 2002. p. 202-5.
- [33] Salgueiro J, Santos R, Alves M, de Matos AS, Encarnação SRO. Complicações e acidentes. In: Gomes A, Ambrósio F, Gomes F, Vieira F, Fazendeiro J, Oliveira R, et al. Revisão técnica. Manual de hemodiálise para Enfermeiros. Coimbra: Almedina; 2011. p. 261-7.

- [34] Hawser SL. Doenças musculares. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. Harrison manual de medicina. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil; 2002. p. 942.
- [35] Sippel JM. Dor na Perna. In: Mladenovic J, Aguilar I, Albert SF, Amlie-Lefond CM, Anderson CA, Anderson JC, et al. Segredos em atenção primária. São Paulo: Artes Médicas; 1997. p. 358-9.
- [36] Blake PG, Daugirdas JT. Fisiologia da diálise peritoneal. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS, editors. Manual de diálise. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2008. p. 297-8.
- [37] Weiss MF. Aspectos técnicos da diálise peritoneal. In: Hricik DE, Sedor JR, Ganz MB. Segredos em Nefrologia. São Paulo: Artmed Editora; 2002. p. 206-7.
- [38] Heimbürger O, Blake PG. Aparelho para diálise peritoneal. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS, editors. Manual de diálise. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2008. p. 312-22.
- [39] Rodrigues A. Diálise peritoneal – Uma diálise feita em casa: para quando a opção?. 1ª ed. Lisboa: Lidel; 2010.
- [40] Cacho CP. Complicações da diálise peritoneal. In: Hricik DE, Sedor JR, Ganz MB. Segredos em Nefrologia. São Paulo: Artmed Editora; 2002. p. 213.
- [41] Hricik DE. Transplante renal: epidemiologia e resultados. In: Hricik DE, Sedor JR, Ganz MB. Segredos em Nefrologia. São Paulo: Artmed Editora; 2002. p. 220-3.
- [42] Braunwald E. Transplante renal. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. Harrison manual de medicina. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil; 2002. p. 699-702.
- [43] Knauss TC. Transplante Renal: Avaliação do doador e do receptor. In: Hricik DE, Sedor JR, Ganz MB. Segredos em Nefrologia. São Paulo: Artmed Editora; 2002. p. 225-29.
- [44] Knauss TC. Complicações do transplante renal. In: Hricik DE, Sedor JR, Ganz MB. Segredos em Nefrologia. São Paulo: Artmed Editora; 2002. p. 240-2.
- [45] Lameiere N, Vanholder R, Faller B. Disturbances in carbohydrate, protein, and trace metal metabolism in uremia and dialysis patients. In: Lameiere N, Mehta RL, editors. Complications of dialysis. New York: Marcel Dekker Inc; 2000. p. 563-4.

- [46] Salwen MJ. Vitamins and trace elements. In: McPherson RA, Pincus MR, editors. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011. p. 423-8.
- [47] Fraga CG. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Mol Aspects Med.* 2005; 26(4-5):235-44.
- [48] Parsons PJ, Barbosa F. Atomic spectrometry and trends in clinical laboratory medicine. *Spectrochim Acta Part B: At Spectrosc* 2007; 62(9):992-1003.
- [49] Hsieh YY, Shen WS, Lee LY, Wu TL, Ning HC, Sun CF. Long-term changes in trace elements in patients undergoing chronic hemodialysis. *Biol Trace Elem Res* 2006 Feb; 109(2):115-21.
- [50] De Broe ME, D'Haese PC. Trace elements in dialysis patients. In: Winchester JF, Horl WH, Koch KM, Lindsay RM, Ronco C, editors. Replacement of renal function by dialysis. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 2004. p. 903-13.
- [51] Public Health Statement - Lead. Disponível em <http://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=92> [acedido em 14/12/2012].
- [52] Toxicological Profile for Lead. Disponível em <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf> [acedido em 14/12/2012].
- [53] Aspectos toxicológicos do chumbo. Disponível em <http://www.uff.br/toxicologiaclinica/Toxicologia%20do%20chumbo.pdf> [acedido em 15/12/2012].
- [54] Exposição ocupacional ao chumbo e seus compostos. Disponível em www.farmacia.ufmg.br/lato/downloads/Apchumbo2006.doc [acedido em 15/12/2012].
- [55] Jameson JL. Intoxicação e overdose de medicamentos. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. Harrison manual de medicina. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil; 2002. p. 167.
- [56] Pádua MM. Tóxicos. In: Pádua MM. Patologia clínica para técnicos. Loures: Lusociência; 2009. p. 330-2.
- [57] Pincus MR, Abraham Jr NZ. Toxicology and therapeutic drug monitoring. In: McPherson RA, Pincus MR, editors. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011. p. 363.

- [58] Therapeutic drug monitoring and chemical aspects of toxicology. In: Marshall WJ. Clinical chemistry. London: Mosby; 2000. p. 311.
- [59] Health issues for lead workers and the general population. Disponível em <http://www.ila-lead.org> [acedido em: 14/12/2012].
- [60] de Romaña DL, Olivares M, Uauy R, Araya M. Risks and benefits of copper in light of new insights of copper homeostasis. *J Trace Elem Med Biol* 2011 Jan; 25(1):3-13.
- [61] Goldhaber SB. Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2003 Oct; 38(2):232-42.
- [62] Investigações especializadas – cobre e zinco. In: Gaw A, Cowan RA, O'Reilly DSJ, Stewart MJ, Shepherd J. *Bioquímica clínica*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2001 p. 108-9.
- [63] Schmitt Y. Copper and zinc determination in plasma and corpuscular components of peripheral blood of patients with preterminal and terminal renal failure. *J Trace Elem Med Biol*. 1997 Dec; 11(4):210-4.
- [64] Dozza AL, Fernandes GD, Yuen CT, Santanna BA, Souza KS, Araújo AP. Doença de Menkes: relato de caso. *Rev Bras Neurol* 2009 Out Nov Dez; 45(4):43-9.
- [65] Testes de função hepática. In: Sacher RA, McPherson RA, Campos JM. *Widmann: Interpretação clínica dos exames laboratoriais*. Barueri (SP): Manole; 2002. p. 589.
- [66] Caquet R. *Guia prático Climepsi de análises clínicas*. 1ª ed. Lisboa: Climepsi Editores; 2004.
- [67] Coppola AR, Jameson JL. Hemocromatose, porfirias e doença de Wilson. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. *Harrison manual de medicina*. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil; 2002. p. 866.
- [68] Diagnosis and treatment of Wilson disease: An update. Disponível em <http://www.aasld.org/practiceguidelines/Documents/Bookmarked%20Practice%20Guidelines/Diagnosis%20and%20Treatment%20of%20Wilson%20Disease.pdf> [acedido em 05/01/2013].
- [69] Aschner M, Guilarte TR, Schneider JS, Zheng W. Manganese: recent advances in understanding its transport and neurotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007 Jun; 221(2):131-47.

- [70] The Clinical effects of manganese. Disponível em <http://www.tldp.com/.../Clinical%20Effects%20of%20..> [acedido em 05/01/2013].
- [71] Aschner JL, Aschner M. Nutritional aspects of manganese homeostasis. *Mol Aspects Med.* 2005 Aug-Oct; 26(4-5):353-62
- [72] Santamaria AB. Manganese exposure, essentiality & toxicity. *Indian J Med Res.* 2008 Oct; 128(4):484-500.
- [73] Kasama RK. Trace minerals in patients with end-stage renal disease. *Semin Dial.* 2010 Nov-Dec; 23(6):561-70.
- [74] Strachan S. Trace elements. *Curr Anaesth Crit Care* 2010; 21: 44-8.
- [75] Engstrom JW. Doença de Parkinson. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. *Harrison manual de medicina.* Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil; 2002. p. 912.
- [76] Brenneisen P, Steinbrenner H, Sies H. Selenium, oxidative stress, and health aspects. *Mol Aspects Med.* 2005 Aug-Oct; 26(4-5):256-67.
- [77] Stockler-Pinto MB, Mafra D, Farage NE, Boaventura GT, Cozzolino SM. Effect of Brazil nut supplementation on the blood levels of selenium and glutathione peroxidase in hemodialysis patients. *Nutrition.* 2010 Nov-Dec; 26(11-12):1065-9.
- [78] Rayman MP. Selenium and human health. *Lancet* 2012 Mar 31; 379(9822):1256-68.
- [79] Selenium. Disponível em <http://ods.od.nih.gov/factsheets/Selenium-HealthProfessional/> [acedido em 05/02/2013].
- [80] Celiker A, Giray B, Başay T, Oner L. The effect of recombinant human erythropoietin on serum selenium levels in hemodialysis patients. *J Trace Elem Med Biol.* 2001; 15(4):215-20.
- [81] Sher L. Role of selenium depletion in the effects of dialysis on mood and behavior. *Med Hypotheses* 2002 Jul; 59(1):89-91.
- [82] Sen S, Bor NM, Colakoglu M, Ercan A. Zinc and copper deficiency in maintenance hemodialysis patients with end stage renal disease – Preliminary Report. *J Islamic Acad Sci* 1991; 4(1): 71-3.
- [83] Sriram K, Abraham G. Loss of zinc and selenium does not occur through peritoneal dialysis. *Nutrition* 2000 Nov-Dec; 16(11-12):1047-51.

- [84] Stefanidou M, Maravelias C, Dona A, Spiliopoulou C. Zinc: a multipurpose trace element. *Arch Toxicol* 2006 Jan; 80(1):1-9.
- [85] Meunier N, O'Connor JM, Maiani G, Cashman KD, Secker DL, Ferry M, et al. Importance of zinc in the elderly: the ZENITH study. *Eur J Clin Nutr.* 2005 Nov; 59 Suppl 2:S1-4.
- [86] Prasad AS. Discovery of human zinc deficiency: its impact on human health and disease. *Adv Nutr* 2013;4(2):176-90.
- [87] Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy. The PerkinElmer Inc., USA, 1996.
- [88] Determinación de plomo en sangre. Método de cámara de grafito/ Espectrofotometría de Absorción Atómica. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT), Baracaldo (Vizcaya) Espanha. (disponível em http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/MetodosAnalisis/Ficheros/MB/MB_011_R92.pdf [acedido em 15/09/2013].
- [89] Goullé JP, Mahieu L, Castermant J, Neveu N, Bonneau L, Lainé G, et al. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair. Reference values. *Forensic Sci Int.* 2005 Oct; 153(1):39-44.
- [90] ARUP Laboratories, Laboratory Test Directory. Disponível em <http://ltd.aruplab.com> [acedido em 15/09/2013].
- [91] Mayo Clinic – Mayo Medical Laboratories. Disponível em <http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Overview/8612> [acedido em 02/09/2013].
- [92] Ari E, Kaya Y, Demir H, Ascioglu E, Keskin S. The correlation of serum trace elements and heavy metals with carotid artery atherosclerosis in maintenance hemodialysis patients. *Biol Trace Elem Res.* 2011 Dec; 144(1-3):351-9.
- [93] Lin JL, Lin-Tan DT, Hsu CW, Yen TH, Chen KH, Hsu HH, et al. Association of blood lead levels with mortality in patients on maintenance hemodialysis. *Am J Med* 2011 Apr; 124(4):350-8.
- [94] M SP, Rajan PM, Santhi S, Jothimalar. Blood Lead in End-Stage Renal Disease (ESRD) Patients who were on Maintenance Haemodialysis. *J Clin Diagn Res* 2012 Dec; 6(10):1633-5.

- [95] Colleoni N, Arrigo G, Gandini E, Corigliano C, D'Amico G. Blood lead in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 1993; 13(3):198-202.
- [96] Bonforte G, Surian M, Dozio B, Scanziani R, Baj A, Colombo S, Toffoletto F. Plasma or whole blood concentrations of trace elements in patients treated by haemodiafiltration with on-line prepared substitution fluid. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13 Suppl 5:29-33.
- [97] Lin JL, Lin-Tan DT, Yen TH, Hsu CW, Jenq CC, Chen KH, et al. Blood lead levels, malnutrition, inflammation, and mortality in patients with diabetes treated by long-term hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 2008 Jan; 51(1):107-15.
- [98] Josephson J. Measuring Lead Effects: Blood and bone together are better. *Environ Health Perspect* 2004 Aug; 112(11): A636.
- [99] Hu H, Shih R, Rothenberg S, Schwartz BS. The epidemiology of lead toxicity in adults: measuring dose and consideration of other methodologic issues. *Environ Health Perspect*. 2007 Mar; 115(3):455-62.
- [100] Silbergeld EK, Sauk J, Somerman M, Todd A, McNeill F, Fowler B, et al. Lead in bone: storage site, exposure source, and target organ. *Neurotoxicology* 1993 Summer-Fall; 14(2-3):225-36.
- [101] Lu KC, Wu CC, Ma WY, Chen CC, Wu HC, Chu P. Decreased blood lead levels after calcitriol treatment in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Bone* 2011 Dec; 49(6):1306-10.
- [102] Shouman M.G, Ibrahim H.Y, Salama E.E.E, El-Khayat Z, Ashour M. Trace elements in pediatric hemodialysis patients. *Res J Medicine & Med Sci* 2009; 4(2):435-40.
- [103] Pleban PA, Pearson KH. Determination of manganese in whole blood and serum. *Clin Chem* 1979 Nov; 25(11):1915-8.
- [104] Milne DB, Sims RL, Ralston NV. Manganese content of the cellular components of blood. *Clin Chem* 1990 Mar;36(3):450-2.
- [105] Ochi A, Ishimura E, Tsujimoto Y, Kakiya R, Tabata T, Mori K, et al. Trace elements in the hair of hemodialysis patients. *Biol Trace Elem Res* 2011 Nov; 143(2):825-34.
- [106] Scottish Trace Element and Micronutrient Reference Laboratory: Selenium (Se). Disponivel em <http://www.trace-elements.co.uk/selenium.asp>. Acedido em 20-09-2013.

- [107] Taccone-Gallucci M, Noce A, Bertucci P, Fabbri C, Manca-di-Villahermosa S, Della-Rovere FR, et al. Chronic treatment with statins increases the availability of selenium in the antioxidant defence systems of hemodialysis patients. *J Trace Elem Med Biol* 2010 Jan; 24(1):27-30.
- [108] Birrenbach T. Detection of selenoprotein P by western blot in the serum of hemodialysis patients after selenium supplementation. *J Trace Elem Med Biol* 2001; 15:69.
- [109] Zachara BA, Trafikowska U, Adamowicz A, Nartowicz E, Manitius J. Selenium, glutathione peroxidases, and some other antioxidant parameters in blood of patients with chronic renal failure. *J Trace Elem Med Biol* 2001;15(2-3):161-6.
- [110] Rocco MV, Ikizler TA. Nutrição. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS, editors. *Manual de diálise*. Rio de Janeiro: Editora Gaunabara Koogan; 2008. p. 428-30.
- [111] Vanholder R, Cornelis R, Dhondt A, Lameire N. The role of trace elements in uraemic toxicity. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17 Suppl 2:2-8.
- [112] Miura Y, Nakai K, Suwabe A, Sera K. Trace elements in renal disease and hemodialysis. *Nucl Instr and Meth in Phys Res B* 2002; 189: 443-9.
- [113] Guo CH, Wang CL, Chen PC, Yang TC. Linkage of some trace elements, peripheral blood lymphocytes, inflammation, and oxidative stress in patients undergoing either hemodialysis or peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*. 2011 Sep-Oct; 31(5):583-91.
- [114] Fukushima T, Horike H, Fujiki S, Kitada S, Sasaki T, Kashihara N. Zinc deficiency anemia and effects of zinc therapy in maintenance hemodialysis patients. *Ther Apher Dial* 2009 Jun; 13(3):213-9.
- [115] Senft, V., Racek, J., Motáň, J., Křížek, M., Bejčková, H., Kohout, J.: An evaluation of the influence of therapeutic interventions on serum trace elements levels in group of patients. *J Trace Elem Med Biol* 2003; 17(1): 7-11.