CARLA BARBOSA MURARO FURLAN

**O impacto de reúso de dialisadores nos marcadores
de estresse oxidativo e inflamatórios
em pacientes em hemodiálise**

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

Programa de Nefrologia

Orientador: Prof. Dr. Hugo Abensur

**São Paulo
2014**

*Dedico esse trabalho ao meu querido esposo Sérgio,
que é e sempre será a pessoa que faz a minha vida
realmente valer a pena;
À minha nova fonte de luz, minha querida filha Raquel,
que veio encher nossas vidas de alegria e motivação;
Aos meus estimados pais Antonio e Maria das Graças,
que foram brilhantes em sua missão, e que ainda hoje
alicerçam nossos passos com muito carinho, paciência e
generosidade;
Aos meus queridos irmãos Sérgio, Rogério e Adriano,
que são meus verdadeiros amigos e com quem quero ter o
prazer de conviver pelo resto de minha vida.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me mostrar o caminho nos momentos mais difíceis;

Ao meu querido esposo, pelo carinho, pela paciência e pelo amor incondicionais;

Ao meu orientador Prof. Dr. Hugo Abensur, pela oportunidade de desenvolver a pós-graduação, por todos estes anos de convívio harmonioso, pela compreensão e generosidade em meus momentos mais difíceis e em minhas falhas, estando sempre presente e me estimulando a continuar adiante;

À Prof. Dra. Rosilene Motta, pelo carinho, pelas orientações e pelo incentivo para a realização deste trabalho;

À Dra. Denise Frediani e a todos os integrantes do Laboratório LIM 51, pela cordialidade, pela presteza e pelo carinho no desenvolvimento de nosso estudo;

Ao Prof. Dr. Isac de Castro, pela atenção e tempo dispensados;

À toda a equipe de funcionários do Serviço de Hemodiálise do Hospital das Clínicas (incluindo o Laboratório, Enfermagem e Auxiliares de Enfermagem, Secretaria), que preferi não nomear para não incorrer no erro de injustiça, mas que, igualmente, me auxiliaram em tudo o que precisei, sendo muito zelosos e carinhosos, e que, com muita paciência, me acolheram e proporcionaram um ambiente agradável de trabalho em todos estes anos;

A todos os amigos e colegas que de uma forma ou outra contribuíram para a conclusão deste trabalho.

*“A felicidade não se resume à ausência de problemas, mas sim a sua
capacidade de lidar com eles.”*

*“A mente que se abre a uma nova idéia
jamais volta ao seu tamanho original.”*

Albert Einstein

“Se cheguei até aqui foi porque me apoiei no ombro de gigantes.”

Isaac Newton

Normalização Adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE GRÁFICOS

RESUMO

SUMMARY

1 INTRODUÇÃO	2
1.1 Dialisadores e equipamentos para hemodiálise	2
1.2 Reutilização de dialisadores.....	8
1.2.1 Dialisadores “coil”	8
1.2.2 Dialisadores Kill	9
1.2.3 Dialisadores de fibra oca (capilares).....	10
1.3 Técnica para reprocessamento manual nos Centros de diálise	12
1.4 Vantagens e desvantagens relacionadas ao reuso.....	13
1.5 Preocupações associadas ao reuso de dialisadores	14
1.5.1 Segurança do procedimento	14
1.5.2 Reações pirogênicas	15
1.5.3 Exposição prolongada aos germicidas	15
1.5.4 Dose efetiva de diálise.....	15
1.6 Mortalidade	16
1.7 Estresse oxidativo	19
1.8 Principais espécies reativas de oxigênio.....	20
1.9 Alvos biológicos específicos do estresse oxidativo	23
1.10 Mecanismos de defesa celular contra o estresse oxidativo	23
1.10.1 Albumina	24
1.10.2 Interleucina 6	26
1.10.3 Proteína C reativa	27
1.10.4 Superóxido dismutase.....	27
1.10.5 Glutathione (GSH)	28

1.11 Biomarcadores de estresse oxidativo	30
1.12 Consequências do estresse oxidativo	32
1.13 Estresse oxidativo e inflamação no paciente portador de doença renal crônica	33
1.14 Medidas descritas para minimizar o estresse oxidativo relacionado à hemodiálise	37
2.OBJETIVOS DO ESTUDO.....	42
2.1 Objetivo principal.....	42
2.2 Objetivo secundário	42
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS	44
3.1 Desenho do estudo	44
3.2 Seleção de pacientes	45
3.3 Características dos pacientes selecionados	46
3.4 Características do tratamento dialítico	47
3.5 Avaliação clínica	47
3.6 Monitoramento da qualidade do tratamento de água.....	48
3.7 Avaliação laboratorial.....	48
3.8 Marcadores inflamatórios	50
3.8.1 Dosagem de Proteína C reativa ultrasensível (PCR ultrasensível)	50
3.8.2 Dosagem de interleucina 6 (IL6)	50
3.9 Indicadores de peroxidação lipídica	51
3.9.1 Determinação de malondialdeído (MDA) por meio do teste das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	51
3.9.2 Determinação da atividade de superóxido dismutase (SOD).....	51
3.9.3 Determinação da concentração de glutathione total (GSH)	51
4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
5 RESULTADOS.....	56
5.1 Características clínico-laboratoriais dos pacientes nos períodos 1, 2, 3 e 4.....	56
5.2 Resultados do monitoramento do tratamento de água	57
5.3 Avaliação do estresse oxidativo	60
5.4 Avaliação de marcadores inflamatórios	67
6 DISCUSSÃO	77
6.1 Indicadores de peroxidação lipídica e marcadores inflamatórios	77
6.2 Albumina	80

6.3 Antioxidante NAC.....	83
7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO	85
8 CONCLUSÕES	87
9 ANEXO.....	89
10 REFERÊNCIAS.....	93

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAMI	<i>Association for the Advancement of Medical Instrumentation</i>
ANOVA	Análise de Variância para Medidas não Repetidas
DD	<i>Disposable Dialyser</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DOOPS	<i>Dialysis Outcomes and Practice Patterns of Hemodialysis</i>
DRC	Doença Renal Crônica
eNOS	Óxido Nítrico Sintase Endotelial
EUA	Estados Unidos da América
FAV	Fístula Arteriovenosa
Fe	Ferro
GSH	Glutathione Total
GSSH	Glutathione Oxidada
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
HC	Hospital das Clínicas
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HD	Hemodiálise
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HO ₂	Hidroperóxido
IECA	Inibidores de Enzima Conversora da Angiotensina
IL6	Interleucina 6
INAMPS	Instituto Nacional de Assistência Médica e Previdência Social
iNOS	Óxido Nítrico Sintase Induzível
KD	<i>Kiil Dialyser</i>

MDA	Malondealdeído
NAC	N-acetilcisteína
NO	Óxido Nítrico
O ₂ ⁻	Íon Superóxido
OH	Radical Hidroxil
ONOOH	Peroxinitrito
PCR	proteína C Reativa
PTFE	Enxerto de Politetrafluoetileno Expandido
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
RD	Reúso de Dialisadores
RP	Reações Pirogênicas
RR	Risco Relativo
-SH	Grupos Sulfidril
SOD	Superóxido Dismutase
SPU	Síndrome do Primeiro Uso
TAC	Capacidade Antioxidante Total
TBARS	Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TNB	Nitrobenzoico
uPCR	PCR ultrassensível
VIF	Volume Interno das Fibras
ZnCuSOD	Superóxido Dismutase
γGGT	γ-glutamiltanspeptidase

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação esquemática do “Rim artificial” de Kolff-Brigham.	6
Figura 2	Fotografia do “rim artificial” utilizado para primeira hemodiálise no Brasil.	7
Figura 3	Fotografia comparando os tamanhos do Dialisador Kill e outra forma mais compacta (K.D.=Kiil dialyser. D.D.=Disposable dialyser).....	7
Figura 4	Dialisador Kill compacto e os fluxos de sangue (B) e de solução de diálise (D) em contracorrente.	8
Figura 5	Representação esquemática: Espécies Reativas de Oxigênio causando dano oxidativo. Modificado de: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification.	22
Figura 6	Representação esquemática da inter-relação entre estresse oxidativo e inflamação em pacientes em Hemodiálise.	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Espécies reativas de oxigênio e respectivos símbolos	19
Tabela 2	Presença de Glutathione e enzimas em diversos tecidos humanos	30
Tabela 3	Exames bioquímicos, métodos e valores de referência utilizados no Laboratório Central do HC-FMUSP	49
Tabela 4	Distribuição quanto à Doença Renal de base	56
Tabela 5	Resultados laboratoriais nos Períodos 1, 2, 3, e 4	56
Tabela 6	Avaliação do estresse oxidativo entre os períodos 1 (reúso), 2 (uso único), 3 (reúso de novo) e 4 (reúso + NAC)	61
Tabela 7	Avaliação dos marcadores de estresse oxidativo no início e no final das sessões de hemodiálise, nos períodos 1 (reúso), 2 (uso único), 3 (reúso de novo) e 4 (reúso + NAC)	65
Tabela 8	Avaliação do PRC ultrasensível no início e final das sessões de Hemodiálise	67
Tabela 9	Análise estatística dos marcadores de estresse oxidativo e inflamatórios, por sexo	69
Tabela 10	Análise estatística dos marcadores de Estresse oxidativo e inflamatórios, por categorização de idade (< 40 anos e > 40 anos)	70
Tabela 11	Análise estatística dos marcadores de Estresse oxidativo e inflamatórios, por acesso vascular para hemodiálise (Fístula arteriovenosa e catéter de longa permanência do tipo Permcath)	72
Tabela 12	Análise estatística dos marcadores de Estresse Oxidativo e inflamatórios nos pacientes diabéticos e não diabéticos	73
Tabela 13	Análise estatística dos marcadores de Estresse oxidativo e inflamatórios nos pacientes hipertensos e não hipertensos	75

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Resultados das análises do monitoramento mensal no Tratamento de água, com parâmetros de limite máximo regulamentados pela RDC 154-de 15 de junho de 2004	59
Quadro 2	Padrão de qualidade da água tratada utilizada na preparação de solução de diálise.....	91

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Representação gráfica da concentração de TBARS nos períodos 1 (com reúso de dialisadores), 2 (uso único de dialisadores), 3 (com reúso de novo de dialisadores), 4 (com reúso de dialisadores + uso de N-acetilcisteína), no início da sessão de Hemodiálise (PRÉ-HD) 62
Gráfico 2	Representação gráfica da concentração de SOD (Superóxido Dismutase) nos períodos 1 (com reúso de dialisadores), 2 (uso único de dialisadores), 3 (com reúso de novo de dialisadores), 4 (com reúso de dialisadores + uso de N-acetilcisteína), no início da sessão de Hemodiálise (PRÉ-HD) 63
Gráfico 3	Representação gráfica da concentração de Glutathione total nos períodos 1 (com reúso de dialisadores), 2 (uso único de dialisadores), 3 (com reúso de novo de dialisadores), 4 (com reúso de dialisadores + uso de N-acetilcisteína), no início da sessão de Hemodiálise (PRÉ-HD). 64
Gráfico 4	Representação gráfica da concentração de TBARS (A), SOD (B), GSH total (C), e PCR (D) PRÉ e PÓS-HD, nos períodos 1, 2, 3 e 4. ANOVA: A** diferença significativa do TBARS 2 PRÉ-HD em relação aos períodos 1, 3 e 4 PRÉ-HD, bem como em relação aos períodos 1, 2, 3 e 4 PÓS-HD ($p=0,004$); B: não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,147$); C: não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,512$); D: PCRU 1 PRÉ-HD vs PCRU 1 PÓS-HD $*p<0,05$; PCRU 2 PRÉ-HD vs PCRU 2 PÓS-HD $**p<0,05$, PCRU 3 PRÉ-HD vs PCRU 3 PÓS-HD $†p<0,05$; PCRU 4 PRÉ-HD vs PCRU 4 PÓS-HD $‡p<0,05$ 66
Gráfico 5	Representação gráfica de PCR ultrasensível nos períodos 1 (com reúso de dialisadores), 2 (uso único de dialisadores), 3 (com reúso de novo de dialisadores), 4 (com reúso de dialisadores + uso de N-acetilcisteína), no início da sessão de Hemodiálise (PRÉ-HD) 68
Gráfico 6	Representação gráfica de Interleucina 6 nos períodos 1 (com reúso de dialisadores), 2 (uso único de dialisadores), 3 (com reúso de novo de dialisadores), 4 (com reúso de dialisadores + uso de N-acetilcisteína), no início da sessão de Hemodiálise, PRÉ-HD 68

RESUMO

Furlan CBM. *O impacto de reúso de dialisadores nos marcadores de estresse oxidativo e inflamatórios em pacientes em hemodiálise* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

A morbimortalidade dos pacientes em hemodiálise permanece alta apesar da evolução tecnológica do procedimento, sendo que os eventos cardiovasculares são a sua principal causa. Estes desencadeados pela alta prevalência de fatores de risco tradicionais, fatores relacionados ao procedimento dialítico e estresse oxidativo. Considerando o procedimento dialítico e o estresse oxidativo, foi avaliado o quanto a habitual prática de reuso de dialisadores/RD (difundida nas Américas e amparada principalmente por questões econômicas) e uso único de dialisadores, influenciam nos marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo. Para isto, foram utilizados como marcadores laboratoriais as medidas de PCR ultrasensível (u PCR), interleucina 6 (IL6), a determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), superóxido dismutase (SOD), glutatona (GSH) e albumina, em 29 pacientes em tratamento de hemodiálise. Estes pacientes encontravam-se em tratamento com dialisadores de alto fluxo do tipo polietersulfona e reuso manual, e ao iniciar este estudo foram programados 3 ciclos sequenciais com duração de 6 semanas com as seguintes características: primeiro ciclo (uso único de dialisadores); segundo ciclo (reuso de dialisadores); terceiro ciclo (reuso de dialisadores e administração de N-acetilcisteína/NAC, na dose de 1200 mg/dia). Foram coletadas amostras de sangue de cada paciente no início e final da última sessão de hemodiálise anteriormente ao início dos ciclos (denominado Período 1) e no início e final da última sessão de hemodiálise de cada ciclo (denominados Períodos 2, 3 e 4 respectivamente). O TBARS aumentou no período de uso único. Todas as demais variáveis não apresentaram diferença significativa. Os resultados indicaram que o RD pode proporcionar uma melhora no estresse oxidativo. O uso único foi associado com maior estresse oxidativo. Não foi encontrado nenhum benefício adicional com NAC.

Descritores: Diálise renal; Inflamação; Estresse oxidativo; Substâncias reativas com ácido tiobarbitúrico; Reutilização de equipamento; Ácido peracético; Acetilcisteína/uso terapêutico

SUMMARY

Furlan CBM. *Evaluation of oxidative stress and inflammatory markers on hemodialysis patients with and without dialysers reuse* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

The morbidity and mortality of patients undergoing hemodialysis remains high despite the technological development of this procedure, and cardiovascular events are the main causes of morbidity and mortality. These cardiovascular events are triggered by the high prevalence of traditional risk factors, factors associated with dialysis procedures, and oxidative stress. Considering the factors associated with dialysis procedures and oxidative stress, we assessed how dialyzer reuse (DR; widespread in the Americas, especially because of economic issues) and use of single-use dialyzers influence oxidative stress and inflammatory markers. We used ultrasensitive PCR (u-PCR) to measure levels of the laboratory markers interleukin-6 (IL6), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH), and albumin in 29 patients undergoing hemodialysis treatment. These patients were receiving treatment with polyethersulfone high-flux dialyzers and manual reuse. In the initial phase of this study, the 3 following sequential cycles, each lasting 6 weeks, were scheduled: first cycle (single-use dialyzers); second cycle (DR); and third cycle (DR and administration of *N*-acetylcysteine [NAC] at a dose of 1200 mg/day). Blood samples were collected from each patient at the beginning and end of the last hemodialysis session that preceded the start of the cycles (termed Period 1), and at the beginning and end of the last hemodialysis session of each cycle (termed Periods 2, 3, and 4, respectively).

The levels of TBARS increased during the single-use period. The remaining variables did not show significant differences. The results indicated that DR may ameliorate oxidative stress. Single-use dialyzers were associated with higher oxidative stress. No additional benefit was found with use of NAC.

Descriptors: Renal dialysis; Inflammation; Oxidative stress; Thiobarbituric acid reactive substances; Equipment reuse; Peracetic acid; Acetylcysteine/therapeutic use.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Dialisadores e equipamentos para hemodiálise

O primeiro aparelho de hemodiálise desenvolvido em laboratório para utilização em experimentos animais foi chamado de “rim artificial” e desenvolvido por Abel e cols.^{1,2} (*Pharmacology Laboratory, Johns Hopkins Medical School, Baltimore, MD*) no início do século XX. Como a fabricação dos tubos e a montagem do dialisador era muito demorada, teve início também a reutilização do material necessário para o experimento, com o dialisador sendo utilizado por até 30 experimentos. A limpeza do sangue era feita com ácido-pepsina e a desinfecção do material, com timol.

A primeira hemodiálise bem sucedida foi realizada por William Kolff em 1945 na Holanda. O seu aparato para hemodiálise consistia de um longo tubo de celofane, que era envolto espiralmente em um grande cilindro de aço, o qual girava horizontalmente em banho de diálise, como um tambor rotatório. A artéria radial do paciente era canulada e o sangue era escoado para um recipiente esterilizado que ficava acima dos tubos de celofane, e, sob ação da gravidade e com auxílio de um motorzinho que girava o cilindro, o sangue passava por meio da solução de diálise. O sangue era estocado em recipiente no outro oposto da máquina, e retornava, sob ação da gravidade, pela veia antecubital do paciente, conferindo a este aparato uma forma eficaz na remoção de toxinas urêmicas, mas não do excesso de líquido do paciente. Em 1948, surgiu a máquina de diálise de Kolff-Brigham, que consistia de uma modificação do equipamento anteriormente descrito, no qual o sangue do paciente era impulsionado por uma bomba. (Figura 1)³.

Simultaneamente, Murray, no Canadá, desenvolveu um aparelho com cilindro vertical, imóvel, imerso em solução de diálise, e que utilizava a Pressão Arterial como propulsor para o sangue avançar pelo tubo de celofane. Baseado nesta literatura, no Brasil, a Hemodiálise teve seu início

em 19 de maio de 1949 pelo Dr. Tito Ribeiro de Almeida, no Hospital das Clínicas de São Paulo (Figura 2)⁴.

Este rim era fabricado artesanalmente, com cerca de 30 metros de tubo fino de celofane (utilizado na fabricação de salsichas), enrolado feito serpentina em uma tela de aço inoxidável cilíndrica, que ficava imersa no líquido dialisador. Depois de testado e descartados os furos, o tubo de celofane era esterilizado fervendo-se o conjunto. O líquido dialisador era feito também artesanalmente, com os sais pesados e diluídos no momento da hemodiálise em um tanque com cerca de 40 litros, com necessidade de troca a cada duas horas, e com a temperatura mantida por meio de uma resistência. Por um motorzinho elétrico, o líquido dialisador era agitado. Em 1º de dezembro de 1949, a primeira paciente sobreviveu à sessão de hemodiálise. Era uma mulher de 47 anos, com insuficiência renal aguda secundária à intoxicação por bicloreto de mercúrio⁴.

De 1949 a 1954, foram tratados cerca de cem pacientes, quase todos portadores de insuficiência renal aguda (somente os dois primeiros casos foram pacientes renais crônicos), e um fator limitante à realização de várias sessões no mesmo paciente era o acesso vascular para o procedimento, pois era necessário dissecar uma artéria e uma veia, que poderia ser usada apenas poucas vezes. Nesta época, somente os pacientes portadores de insuficiência renal aguda usufruíam do tratamento dialítico.

Em 1956, no Rio de Janeiro – Hospital Pedro Ernesto – e em São Paulo – Hospital dos Servidores do Estado e Hospital das Clínicas (HC) de São Paulo, chegaram os rins artificiais de *Kolff-Brigham* importados dos Estados Unidos da América (EUA). Dr. Massola, do Hospital das Clínicas de São Paulo, relatou sobre um paciente que foi aos EUA para fazer um transplante e não conseguiu. Este paciente foi submetido à confecção de uma fístula arteriovenosa e esse retornou ao Hospital das Clínicas para tratamento de hemodiálise de forma crônica, em uma máquina que trouxe dos EUA e doou ao HC. A partir desta doação, e com alguns rins artificiais mais modernos, formou-se a Unidade de Diálise do HC, que também contou

com os conhecimentos do Prof. Dr. Emil Sabbaga, que retornava de sua pós-graduação no serviço do Prof. Merrill, em Harvard, Boston⁴.

Portanto, em meados de 1960, o tratamento de hemodiálise aparecia como opção terapêutica para os portadores de doença renal crônica no Brasil. Cabe salientar que, nesta época, o desenvolvimento do *shunt* arteriovenoso desenvolvido pelo grupo do Prof. Seribner em Seattle, como acesso para os procedimentos dialíticos, contribuiu sobremaneira para a implantação da hemodiálise crônica. Em 1962, surgiu a utilização de fístula interna, evitando os problemas com trombose e infecção do *shunt*.

Na Noruega, ainda em 1960, surgiram as placas de Kill, que utilizavam folhas de cuprophane prensadas entre cada par de placas. O sangue passava entre as camadas da membrana, e a solução de diálise por fora do envelope em sentidos opostos, introduzindo o mecanismo de contracorrente, com remoção do excesso de líquido, aplicando-se pressão negativa na linha efluente do líquido de diálise. Porém, a sua montagem era demorada e trabalhosa, e sua esterilização incompleta, e, desta forma, pouco depois, houve o lançamento de um dispositivo pré-montado, pré-esterilizado e mais compacto⁵.

Os avanços tecnológicos nesta época traduziram-se no surgimento de máquinas de hemodiálise, como o Modelo 4002 da Drake-Willock, com filtro de diálise Kill, em 1960, cuja fabricação mensal chegou a 300 unidades por mês; e a máquina nomeada “Travenol RSP”, que consistia em um sistema integrado para hemodiálise, com reservatório de 120 litros de água e concentrado. Em 1968, começaram a comercialização no Brasil destes equipamentos.

Na década de 1970, surgiram os filtros de diálise de fibra oca, também denominados de capilares. Este dispositivo tornou-se o modelo para os hemodialisadores atuais, sendo, inicialmente, composto de fibras de acetato de celulose, e, posteriormente, de materiais mais biocompatíveis, porém contando sempre com o mesmo princípio de funcionamento.

Ainda hoje, os dialisadores são do tipo fibra-oca; contudo o material que o compõe desenvolveu-se, podendo ser compostos de celulose,

celulose modificada ou polímero sintético. A função de um dialisador é promover a remoção de solutos do meio interno, por meio de trocas entre o sangue e a solução de diálise; a um estado próximo da normalidade; utilizando mecanismos como difusão através da membrana, convecção ou adsorção, além de remoção de água, dependente da permeabilidade hidráulica desta membrana⁶. As membranas utilizadas nestes dialisadores podem ser classificadas de acordo com sua composição química em celulósicas ou sintéticas. A celulose foi utilizada para produzir o Cuprophane, que foi a membrana mais utilizada no início do tratamento crônico, porém ela deixou de ser fabricada em 2006 devido à bioincompatibilidade provocada pela presença de grupos hidroxílicos hidrofílicos em sua composição. A partir de 1970, surgiram membranas que sofreram substituição da hidroxila por outra molécula, como o acetato (diacetato e triacetato de celulose) ou dietilaminoetila (hemophane); sendo chamadas de membranas de celulose modificada. E, ao longo da década de 1970, começaram a ser utilizadas as membranas sintéticas (polissulfona, poliamida, polietersulfona), mais biocompatíveis, com menor ativação do sistema complemento e de leucócitos quando há interação entre sangue e membrana do dialisador.

As membranas dos dialisadores podem ainda ser classificadas de acordo com o seu desempenho, em dialisadores de baixo e alto fluxos, sendo os primeiros aqueles que conseguem clearance de β 2microglobulina (peso molecular de 11800 Da) menores do que 10 ml/min durante sessão de hemodiálise; enquanto os de alto fluxo caracterizam-se por clearance de β 2microglobulina > 20 ml/min e coeficiente de ultrafiltração > 14 ml/h/mmHg⁷.

As máquinas de hemodiálise também modernizaram-se, principalmente nos últimos dez anos, visando monitorar a eficiência e segurança da diálise. Suas principais funções são promover a circulação do sangue por meio do dialisador, preparar a solução de diálise a partir da água tratada e dos concentrados, e monitorar perdas na integridade do circuito durante o procedimento dialítico. Mas, atualmente, contamos com muitos recursos acoplados a estes equipamentos, como o cálculo do KT/V *on line*,

programação de ultrafiltração sequencial, perfil de sódio e UF, preparação de concentrados *on line*, reduzindo risco de contaminação na solução de diálise e aumentando a segurança no procedimento dialítico⁶.

Sabemos que foi a partir de 1976 que houve a consolidação do tratamento dialítico para pacientes com insuficiência renal crônica no Brasil; quando os serviços prestados passaram a ser reembolsados pelo INAMPS – Instituto Nacional de Assistência Médica e Previdência Social, e isto contribuiu para o crescimento das unidades de diálise no Brasil. Segundo o Censo Brasileiro de Diálise de 2011, contamos, atualmente, com 643 centros de diálise. O número de pacientes tratados passou de 500 em 1976, para 9 mil em 1986, 32 mil em 1996, chegando a 92.091 em 2010 e 91.314 em 2011. Em 2010, cerca de 18.972 pacientes iniciaram tratamento de hemodiálise (100 pacientes por milhão da população) e, em 2011, 28.680 pacientes, correspondendo a 149 pacientes por milhão da população^{8,9}.

Desta forma, notamos o avanço e a implementação técnica nos equipamentos utilizados para hemodiálise nestas últimas décadas, bem como o maior acesso da população a este tratamento.

FONTE: Merrill JP, Thorn GJ, Walter CW, Callahan EJ III, Smith LH. The use of an artificial kidney. I. Technique. *J Clin Invest.* 1950;29(4):412-24.

Figura 1 - Representação esquemática do "Rim artificial" de Kolff-Brigham.

FONTE: Nefro SP, ano V, n. 16. Disponível em: <www.sonesp.org.br>.
Figura 2 - Fotografia do “rim artificial” utilizado para primeira hemodiálise no Brasil.

FONTE: British Medical Journal, 1969.
Figura 3 - Fotografia comparando os tamanhos do Dialisador Kill e outra forma mais compacta (KD = Kiil dialyser. DD = Disposable dialyser).

FONTE: British Medical Journal, 1969.

Figura 4 - Dialisador Kill compacto e os fluxos de sangue (B) e de solução de diálise (D) em contracorrente.

1.2 Reutilização de dialisadores

Assim como os dialisadores e equipamentos utilizados para a realização da sessão de hemodiálise evoluiu com o tempo, as técnicas para o seu reprocessamento também foram mudando e adequando-se aos novos materiais e às necessidades. O incentivo para o reúso, inicialmente, foi o ganho de tempo; porém este procedimento passou também a ter objetivo econômico. Em 1950, com a introdução dos dialisadores pré-montados, este era o item mais caro da hemodiálise. Ainda hoje têm impacto no custo das sessões de hemodiálise, e por isto apenas alguns centros de diálise adotam o uso único de dialisadores como padrão. Infelizmente, não encontramos censo sobre estas práticas no Brasil.

1.2.1 Dialisadores “coil”

Dentre as técnicas descritas para o reprocessamento dos dialisadores, a refrigeração dos dialisadores “coil” foi descrita e aplicada por Shaldon e cols.¹ (*Royal Free Hospital*, Londres, Inglaterra) nas primeiras tentativas de reutilização de dialisadores e linhas em pacientes com insuficiência renal aguda e crônica. Nos pacientes em programa crônico, submetidos a duas sessões semanais de diálise, a reutilização era feita por cerca de 4 a 5

vezes, em 15 dias. Esta técnica foi associada a reações febris e foi abandonada.

Bell e Figueroa¹⁰, após o término da diálise, retiravam o sangue do “coil” por meio de um dispositivo a ar, e o estocavam separadamente do dialisador em recipiente estéril. O “coil”, então, era recirculado com solução salina estéril heparinizado e estocado em recipiente plástico, a 4°C. Com esta técnica, foi possível o reuso por 14 vezes sem queda importante na dialisância da ureia. As reações febris eram raras, bem como a ocorrência de bacteremia, confirmada com várias hemoculturas negativas.

Outra técnica foi descrita por Tchetchik e cols., quando, ao final do procedimento, o sangue não era devolvido ao paciente e era recirculado por cerca de 7 minutos com heparina e cloranfenicol, e o dialisador estocado em bolsa plástica a 4°C até o próximo uso. Antes de sua utilização, esse era recirculado por alguns minutos com solução salina. O reuso chegou a 11 vezes, porém houve aumento de diátese hemorrágica¹.

1.2.2 Dialisadores Kill

Inicialmente, o compartimento de sangue do dialisador era lavado com solução salina estéril antes do procedimento, e o compartimento da solução de diálise era lavada com água de torneira. Devido à ocorrência de reações pirogênicas e o crescimento bacteriano constatado em culturas, introduziu-se a esterilização química.

A primeira substância utilizada para este fim foi o cloreto de benzalcônio (Zephiran®), com o compartimento da solução de diálise lavado com água e o compartimento do sangue lavado com salina estéril, até o teste com tetrafenilboron ser negativo para o cloreto de benzalcônio.

Em 1960, Kiil¹¹ (*Ulleval Hospital*, Oslo, Noruega) desenvolveu um novo modelo de dialisador com membrana de cuprophan, e descreveu a montagem e esterilização deste dialisador, que era muito trabalhosa e

impraticável; tinha início no dia anterior ao da utilização, e esterilização química pós-montagem com o cloreto de benzalcônio.

Down¹² comparou resultados clínicos e laboratoriais com a hemodiálise dos dialisadores kiil e coil, além de análise de custos destes procedimentos, e relatou reuso de seis vezes com coil, utilizando formalina 1%, preservando eficiência com baixo custo.

Johnson e cols. (*Mayo Clinic*, em Rochester, MN) utilizaram formalina a 6%, já numa concentração esporádica. A formalina era lavada do compartimento do dialisador com água quente (65°C) por cerca de 35 minutos e o compartimento do sangue lavado com solução salina, e testado com reagente de Schiff para liberação para uso.

Shaldon e Baillod foi o primeiro a usar formaldeído 1% para esterilização, com reagente de Nessler pré-utilização do dialisador.

Pollard e cols. (Universidade de Washington, Seattle, WA) desenvolveram uma técnica com o hipoclorito de sódio utilizado para a limpeza de dialisadores e formaldeído para a esterilização. Esta técnica permaneceu por longo período, apenas com algumas modificações. Os problemas relacionados a esta técnica foram a exposição prolongada do dialisador ao hipoclorito de sódio, que removia eficientemente proteína, fibrina e o sangue do dialisador, porém danificava a membrana. Já o formaldeído não danificava a membrana, mas relacionou-se, posteriormente, à anemia hemolítica e anticorpo anti-N-like¹.

1.2.3 Dialisadores de fibra oca (capilares)

Na década de 1970, houve o surgimento dos dialisadores de fibra oca, a primeira descrição de reuso com este dialisador foi feita por Goech e cols. Após a diálise, o sangue retornava ao paciente por *flush* de ar no circuito extracorpóreo, usando uma pressão de 50 mmHg. O compartimento de sangue era lavado com água filtrada e preenchido com formaldeído 2,5%. A

diferença no preenchimento das fibras pré e pós-hemodiálise era medido, mas não havia um valor crítico estabelecido para descarte do dialisador.

Lazarus e cols. (*Peter Bent Brigham Hospital and Harvard Medical School*, Boston MA), em 1973, padronizaram o reuso destes dialisadores. Neste protocolo, o peróxido de hidrogênio foi introduzido, porém, apenas com o intuito de desocluir as fibras ocas ocluídas pelos coágulos de sangue, com utilização ainda do formaldeído a 2% como germicida. Em seu protocolo, o volume do dialisador era medido antes e após a diálise, e baseado na correlação de redução da eficiência do dialisador à redução do volume de preenchimento das fibras, os autores recomendaram o descarte do dialisador se o volume de redução excedesse 30% ou 30 ml. O formaldeído foi o principal agente esterilizante utilizado até meados da década de 80, porém relacionou-se à hemólise e anemia com formação de anticorpos anti N-like, sendo, então, gradativamente, substituído por outros germicidas¹.

O ácido peracético surgiu como opção eficiente para esterilização dos dialisadores em 1983, sendo menos tóxico do que o formaldeído, e com propriedades bactericidas, esporicidas e virucidas. Sua utilização aumentou e tornou-se o principal agente germicida a partir de 1990.

Outras formas de esterilização de dialisadores foram estudadas, porém verificamos baixos índices de utilização ao longo do tempo. O glutaraldeído a 0,8% tinha ação microbiológica comparável ao formaldeído, porém não permitia muitos reusos; a esterilização por calor, que evitaria a exposição dos pacientes e funcionários aos agentes germicidas, permitiu 7 a 8 reusos, porém necessitava de altas temperaturas (105°C) para ação germicida, ocasionando problemas com a integridade do dialisador, com rachaduras e vazamentos frequentes. Outra tentativa foi associar ácido cítrico a altas temperaturas (95°C), com obtenção de até 12 reusos sem alteração significativa dos clearances de pequenas e grandes moléculas¹.

Nos EUA, em 2002, 63% dos centros de hemodiálise praticavam reuso de dialisadores, sendo 20% com formaldeído, 72% com ácido peracético,

4% com glutaraldeído e 4% com calor¹. No Brasil, não encontramos trabalhos de pesquisa que descrevessem essas práticas.

1.3 Técnica para reprocessamento manual nos Centros de diálise

As principais etapas para o reprocessamento do dialisador são: identificação do dialisador, lavagem, limpeza, mensuração do desempenho do dialisador, esterilização, e remoção do germicida pré-utilização do dialisador.

A identificação do conjunto de dialisador e linhas arterial e venosa com o nome do paciente, contribui para individualização do material e permite que o mesmo receba o tratamento com seu dialisador específico.

Após o procedimento, o sangue deve retornar ao paciente por meio de lavagem com solução salina, e o dialisador deve receber lavagem pressurizada nos compartimentos de sangue e de solução de diálise, com o intuito de preservar a patência dos feixes de fibras e reduzir a quantidade de material orgânico que possa potencializar o crescimento bacteriano.

A limpeza do dialisador, que objetiva a remoção de sangue residual, pode ser obtida por meio de ultrafiltração reversa entre 15 e 20 psi entre o compartimento da solução de diálise e o compartimento do sangue, ou pela utilização de agentes químicos, como o hipoclorito de sódio 1% e o peróxido de hidrogênio a 3%.

Após a limpeza, deve-se realizar a medição do Volume Interno das Fibras (VIF), definido como o volume líquido no compartimento de sangue após o deslocamento por ar. Quando o VIF cai a 80% do volume inicial, as diretrizes da *Association for the Advancement of Medical Instrumentation* (AAMI) preconizam o descarte do dialisador.

A desinfecção e esterilização é obtida preenchendo-se o conjunto de dialisador nos compartimentos de sangue e de solução de diálise, bem como as linhas arterial e venosa, com solução germicida, e exposição mínima de 24 horas.

Antes da utilização do dialisador novamente, deve-se proceder a remoção do germicida com lavagem do compartimento de sangue, seguida pela lavagem do compartimento de solução de diálise com soro fisiológico, e realização de teste para ausência de germicida com *kits* de reagentes recomendados pelo fabricante para o germicida empregado⁷.

1.4 Vantagens e desvantagens relacionadas ao reúso

Lacson E, Lazarus MJ¹³ apontam em seu artigo um comparativo entre as práticas de reúso e uso único de dialisadores, visto que, até o presente momento, não há consenso sobre superioridade entre as técnicas. Quanto às vantagens atribuídas à prática de reúso, relata-se a redução de sintomas intradialíticos, redução da síndrome de primeiro uso, melhora da biocompatibilidade, mas, principalmente, a redução de custos. Dentre as desvantagens, podemos apontar a necessidade de profissionais treinados, estrutura física adequada, e vigilância quanto ao cumprimento da técnica de reúso correta, para esterilização adequada dos dialisadores; risco de infecção, como pelo vírus da hepatite C, reações pirogênicas e exposição em longo prazo dos pacientes e profissionais aos agentes germicidas, além de preocupações quanto à alteração na integridade da membrana e dose efetiva de diálise.

A síndrome do primeiro uso (SPU) foi, inicialmente, relacionada a maior ativação de complemento (C3a e C5a) observada em dialisadores de celulose, após interação sangue-dialisador, com redução desta ativação com o reúso, provavelmente devido à adsorção de proteínas plasmáticas e C5b à membrana, que funcionaria como um isolamento da membrana em relação à circulação, com menor ativação do sistema complemento¹⁴⁻¹⁶. Atualmente, com o uso de membranas de celulose modificada e sintéticas, aceita-se que esta reação esteja mais relacionada a reações de hipersensibilidade ao óxido de etileno utilizado pelos fabricantes para manutenção dos dialisadores; com recomendação de limpeza (*"rinsing"*) e adequado pré-

tratamento para evitar-se a ocorrência da SPU¹⁷⁻¹⁹. Houve o desenvolvimento de técnicas de esterilização a vapor ou por radiação gama do dialisador, a partir de 1990, como forma alternativa à utilização do óxido de etileno e às reações anafilactoides relacionadas ao primeiro uso²⁰.

Em 1983, Chenoweth verificou alteração de ativação no sistema complemento com diferentes membranas, relacionando biocompatibilidade ao tipo de membrana utilizado, mais do que ao reuso propriamente dito.

Com o surgimento de membranas sintéticas, como polissulfona, mais biocompatíveis (Banche, 2006), e a sua maior utilização ao longo do tempo, a prática de reuso encontrou outro ponto de apoio, com justificativa econômica para sua manutenção, já que estas membranas eram muito caras e os serviços de hemodiálise trabalhavam em sistema de reembolso fixo pelas sessões de hemodiálise^{21,22}.

Porém, são bastantes as preocupações relacionadas a esta prática, o que já motivou muitos centros de diálise nos EUA e Europa a adotarem o uso único de dialisadores por paciente, por sessão, como procedimento padrão.

1.5 Preocupações associadas ao reuso de dialisadores

1.5.1 Segurança do procedimento

Os episódios iniciais de infecções relacionadas com o reprocessamento de dialisadores foram associados à dose insuficiente e ao tempo de exposição inadequado ao germicida ou à contaminação da solução de diálise^{23,24}.

Em 1981, a *Association for the Advancement of Medical Instrumentation* (AAMI) publicou as diretrizes para reutilização de dialisadores, com intuito de assegurar maior segurança e uniformidade ao procedimento.

1.5.2 Reações pirogênicas

Quanto às reações pirogênicas (RP) relacionadas ao reuso de dialisadores, um estudo prospectivo, realizado em três centros de hemodiálise nos Estados Unidos, utilizando solução de diálise ultrafiltrada, encontrou taxas semelhantes de RP quando comparou reuso ou uso único de dialisador, em três modalidades de HD: com membranas de alto fluxo, alta eficiência ou diálise convencional. Com estes resultados, concluíram que estas reações estariam mais relacionadas com contaminação da solução de diálise do que com a prática de reuso em si²⁵.

1.5.3 Exposição prolongada aos germicidas

O formaldeído foi o germicida mais comumente utilizado em 1989, porém, em 1996, a mistura de ácido peracético/peróxido de hidrogênio já era o esterilizante mais comumente utilizado para o reuso de dialisadores²². Em 1983, Bauer e cols. (*University of Ulm, Germany*) introduziram o ácido peroxiacético no reuso devido às suas propriedades bactericidas, fungicidas, virucidas e esporocidas, apresentando como vantagem sua menor toxicidade, menor incidência de hipotensão ou cefaleia quando comparado ao formaldeído²⁶. A exposição crônica ao formaldeído foi associada à formação de anticorpos contra antígeno N do eritrócito (Anticorpo anti N-like), com hemólise e piora da anemia nos pacientes submetidos ao reuso com esta substância²⁷.

1.5.4 Dose efetiva de diálise

Como existem relatos de oclusões de fibras dos dialisadores por proteínas plasmáticas, a prática de reuso poderia impactar na efetividade do

tratamento de diálise oferecido ao paciente. Meri K. Scott, em 1999, pesquisou as alterações ocorridas com reuso^{1,5,10,15}, efetivado com ácido peracético/peróxido de hidrogênio (Renalin®), utilizando duas membranas de alto fluxo (triacetato de celulose e polissulfona) e não encontraram diferenças significantes nas depurações de pequenos solutos. Com relação à depuração de β_2 microglobulina, notou-se redução desse com reuso (15° reuso), sendo mais acentuada esta perda com o dialisador de triacetato de celulose- CT 190G (68%) do que com o dialisador de polissulfona - F80A (29%). Além disto, há relato de redução do coeficiente de ultrafiltração com a prática de reuso, principalmente quando se utiliza hipoclorito de sódio²⁸⁻³¹. Entretanto, se os dialisadores são descartados quando o preenchimento do volume interno do feixe de fibras é inferior a 80%, as reduções nas depurações com o reuso ficam em níveis aceitáveis. O hipoclorito de sódio foi utilizado durante muito tempo como agente de limpeza antes do esterilizante, verificou-se a propriedade de remoção das proteínas plasmáticas adsorvidas à membrana, porém com dano estrutural à membrana de polissulfona, com aumento da carga negativa em sua superfície, além de aumento do tamanho dos poros, permitindo maior perda de moléculas grandes, como a albumina^{32,33}. De qualquer forma, recomenda-se a medição do KT/V de ureia, mensalmente, como forma de avaliar a dose efetiva de diálise³⁴. Trabalhos realizados com pacientes em hemodiálise, utilizando dialisador de acetato de celulose e polietersulfona, com reuso manual ou automatizado, não encontraram variações significantes dos KT/Vs com o reuso, respeitando-se o descarte do dialisador quando o preenchimento do volume interno das fibras era inferior a 80%^{35,36}.

1.6 Mortalidade

Os estudos que procuram avaliar o impacto do reuso na mortalidade dos pacientes em diálise ainda não são conclusivos. Algumas pesquisas não encontraram associação entre mortalidade e reuso^{37,38}.

Feldman e cols.³⁹ estudaram a associação entre reúso com hospitalização e taxa de sobrevivência entre pacientes em HD, unidades satélites, nos EUA. Encontraram taxa de morte 25% maior com reúso, após ajuste para sexo, idade e comorbidades. Há evidências de que o reúso estaria relacionado também a um aumento de 35% em taxa de hospitalização nesta população ($p < 0.001$). A taxa de hospitalização foi maior com o emprego de formaldeído (37 a 42%, $p < 0.0001$) em relação ao ácido peracético (21 a 25%, $p < 0.0001$)⁴⁰.

Collins e cols.⁴¹ avaliaram o risco da prática de reúso comparativamente ao uso único de dialisadores, ajustando para presença de comorbidades e características dos centros de diálise (unidades satélite x dentro de hospitais e com fins lucrativos x sem fim lucrativo), além das técnicas de reúso (manual x automatizado, com formaldeído, glutaraldeído ou ácido peracético), nos períodos de 1989 a 1993. No período de 1989 a 1990, foi verificada a associação entre reúso com ácido peracético, com técnica manual, em unidades satélite com fins lucrativos, teve um maior risco relativo de mortalidade [1.35 ($p = 0,001$)]. Porém, no período de 1991 a 1993, estes achados não se confirmaram. Da mesma forma, os resultados do USRDS apontam um risco relativo para mortalidade não diferente entre os pacientes que reutilizam ou não os dialisadores^{42,43}.

A grande variação entre as características dos serviços de diálise, entre as técnicas e germicidas utilizados no reúso, além das características e severidade das doenças entre as populações em diálise, com reúso ou não, dificultam conclusões definitivas sobre sua influência nas taxas de morbimortalidade.

Sabemos que a prática de reúso é ainda muito comum nos EUA, permanece em alguns países da Europa, e foi abandonada no Japão. Quando analisamos a mortalidade geral destas populações, notamos diferenças importantes (EUA 21,7%, Europa 15,6% e Japão 6,6%).

O estudo DOOPS (*Dialysis Outcomes and Practice Patterns of Hemodialysis*), após realizar ajustes para idade, sexo, raça e 25 comorbidades, verificou risco relativo (RR) de mortalidade de 2.84

($p < 0.0001$) para Europa e 3.78 ($P < 0.0001$) para os EUA comparados ao Japão. A população em hemodiálise no Japão era mais jovem e estava em HD há mais tempo. Nos EUA, a população apresentou a maior média de idade (60.5 ± 15.5 anos), com maior prevalência de doença cardiovascular, particularmente doença arterial coronariana, insuficiência cardíaca congestiva, hipertensão, doença cerebrovascular, e doença vascular periférica, além de Diabetes Mellitus e *Human Immunodeficiency Virus* HIV⁴⁴. Hull (2004)⁴⁵ concluiu que, provavelmente, esta maior mortalidade dos EUA esteja relacionada à características da população em HD, como citadas acima, além de características dos serviços de diálise, com menor tempo de HD oferecido aos pacientes, baixo percentual de fístula arteriovenosa, baixo reembolso, e, provavelmente, estas taxas não estejam relacionadas à prática de reúso.

No Brasil, de acordo com o Censo Brasileiro de diálise, a taxa de mortalidade bruta foi 17.9% em 2010, e 19,9% em 2011, com uma população em hemodiálise com idade acima de 65 anos de 30,7% e 31,5%, respectivamente, sendo 57% do sexo masculino, 28% com Diabetes Mellitus, 1,2% com HIV e 13,6% dos pacientes em hemodiálise por catéter venoso central, temporário ou permanente^{8,9}.

De fato, a prática de reúso permanece por décadas, com várias técnicas de reúso desenvolvidas procurando aliar uma diminuição de custos a uma qualidade aceitável de tratamento.

Apesar de toda a evolução tecnológica que sucedeu à descoberta do procedimento de hemodiálise, os índices de mortalidade permanecem altos.

Atualmente, mais de 50% da mortalidade da população com Doença Renal Crônica (DRC) está relacionada à doença cardiovascular, sendo 20 vezes mais frequente do que na população em geral⁴⁶. Acredita-se que estes eventos tenham maior prevalência nesta população devido a fatores de risco tradicionais, como diabetes *mellitus*, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, idade avançada, tabagismo; bem como a fatores de risco não tradicionais. Dentre estes, podemos destacar aqueles relacionados à doença

renal crônica, como uremia, anemia e desnutrição; e ao procedimento de hemodiálise em si.

O estresse oxidativo ganhou importância como fator de risco não tradicional, desde que pesquisas o relacionaram à aceleração da aterosclerose, disfunção endotelial, inflamação, doenças degenerativas, carcinogênese e doença cardiovascular^{47,48}.

1.7 Estresse oxidativo

As reações redox (de redução e oxidação) são a base de muitos eventos fisiológicos celulares, porém o estresse oxidativo ocorre quando há um desbalanço entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) excedendo a capacidade de defesa antioxidante e resultando em alterações dos mecanismos de sinalização celular, com consequente dano oxidativo a alvos biológicos; como lipídios, proteínas e DNA.

As espécies reativas de oxigênio (ROS), em geral, são pró-oxidantes e classificados em duas categorias: Radicais livres (íon superóxido, íon hidroxil, íon peroxil, óxido nítrico) ou derivados de oxigênio não radicais (Peróxido de hidrogênio, ácido hipocloroso, ozônio, aldeídos, peroxinitrito), como mostrado na Tabela 1^{49,50}.

Tabela 1 - Espécies reativas de oxigênio e respectivos símbolos.

Espécies Reativas de Oxigênio	Símbolo
<i>Radicais livres</i>	
Oxigênio (bi-radical)	O ²
Íon superóxido	O ²⁻
Íon Hidroxil	OH
Íon Peroxil	ROO
Íon Alkoxil	RO
Óxido Nítrico	NO
<i>Não radicais</i>	
Peróxido de Hidrogênio	H ₂ O ₂
Ácido Hipocloroso	HOCL
Ozônio	O ³
Aldeídos	HCOR
Peroxinitrito	ONOOH

FONTE: Kohen R, Nyska A.

NOTA: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol.* 2002; 30(6):620-50.

As espécies reativas de oxigênio tem meia-vida curta, que pode variar de poucos segundos (peroxil: 17 segundos) a horas (como o ácido hipocloroso); reagem rapidamente com outras substâncias (e possuem constantes de velocidades de reação diferentes), bem como potencial redutor ou oxidante específicos; e a sua toxicidade está relacionada à interação destes fatores, como sua reatividade, tempo de meia-vida, presença de alvo biológico próximo à sua produção e incapacidade de defesa antioxidante para prevenir o dano oxidativo⁵⁰.

1.8 Principais espécies reativas de oxigênio

Íon Superóxido (O₂⁻): Em situação fisiológica, apresenta-se como O₂⁻, porém em pH ácido pode existir como hidroperoxil HO₂. O superóxido pode ser citotóxico por seu efeito direto, mas também por gerar outras espécies reativas. A sua principal reação é a dismutação de O₂⁻, na qual um radical

superóxido reage com outro radical superóxido, e um é oxidado à oxigênio e outro é reduzido à peróxido de hidrogênio. Mas o H_2O_2 é pouco reativo em níveis fisiológicos, embora possa atacar algumas enzimas diretamente. A espécie mais citotóxica é o peroxinitrito (ONOO^- , o qual gera espécies nocivas mesmo em condições fisiológicas)⁵⁴.

Radical Hidroxil ($\text{OH}^\bullet$): é considerado o radical mais reativo nos sistemas biológicos, um poderoso oxidante, e, devido à sua alta reatividade, é capaz de interagir com várias moléculas celulares, tais como *Deoxyribonucleic Acid* (DNA), lipídios, aminoácidos, e metais.

Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2): é produzido por meio de algumas enzimas ou da dismutação de superóxido. Embora seja considerado um produto não radical, pode causar dano celular em baixas concentrações ($10\mu\text{M}$), por meio de sua atividade direta, ou indiretamente com a produção de mais espécies reativas, como $\text{OH}^\bullet$ ou HOCL . Ele age diretamente na degradação de proteínas heme, liberação de ferro, inativação de enzimas, oxidação de DNA, lipídios, grupos SH e cetoácidos⁵⁰.

Óxido Nítrico (NO), Peroxinitrito (ONOOH): o óxido nítrico é produzido por meio da L-arginina, que é convertida em NO e L-citrulina, e catalisada pela enzima óxido nítrico sintase. Existem 3 tipos desta enzima: a NOS neuronal, NOS endotelial (eNOS), e NOS induzível (iNOS). Uma das mais importantes reações em condições fisiológicas é a interação do NO com superóxido, resultando em peroxinitrito, pois é responsável pela manutenção do balanço de superóxido no sistema redox.

O peroxinitrito é um oxidante poderoso que pode provocar depleção de grupos sulfidril ($-\text{SH}$), danos ao DNA, quebra ou oxidação de proteínas, nitração de resíduos de aminoácidos aromáticos em proteínas (ex: nitrotirosina).

Metais de transição: a maioria dos metais de transição, com exceção do zinco, podem ser considerados radicais, e podem converter oxidantes

relativamente estáveis em radicais poderosos. Os principais são Ferro (Fe) e Cobre. Tanto a deficiência quanto o excesso do íon Ferro podem gerar estresse oxidativo^{49;50}.

FONTE: Toxicol Pathol, v. 30, n. 6, p. 620-50, 2002.

Figura 5 - Representação esquemática: Espécies Reativas de Oxigênio causando dano oxidativo. Modificado de: *Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification*.

1.9 Alvos biológicos específicos do estresse oxidativo

– Lipídios: o dano ao lipídio é chamado de peroxidação lipídica e ocorre em 3 estágios: iniciação, propagação e interrupção do processo. O primeiro estágio é caracterizado pelo ataque de ROS capazes de abstrair um átomo de hidrogênio do grupo metileno do lipídio. Então, o radical ácido graxo retém 1 elétron e estabiliza a estrutura molecular, porém, na presença de mais ROS, o radical ácido graxo pode reagir com radical peroxil, sendo capaz de abstrair mais 1 átomo de hidrogênio, formando hidroperóxido lipídico. Na fase de propagação, podemos ter a peroxidação de todo lipídio insaturado da membrana. Este processo é interrompido quando há interação de ROS com outro radical ou antioxidante ⁵⁰.

– Proteínas: as proteínas, constituintes das membranas também podem ser alvos de ROS. O peróxido de hidrogênio e superóxido em concentrações fisiológicas exercem pouco dano proteico, porém os grupos -SH, quando interagem com H₂O₂, podem provocar oxidação. A repercussão dá-se pela degradação, pela fragmentação, pela peroxidação proteica, pelas mudanças na estrutura terciária com perda de atividade enzimática, pela interferência com potencial de membrana e pelas mudanças nos tipos de proteínas.

Os produtos da peroxidação proteica são aldeídos, compostos ceto e carbonilas, que podem servir como marcadores deste processo.

– DNA: embora o DNA seja bem protegido e uma molécula estável; ROS são capazes de provocar danos com a modificação de bases do DNA, ou alteração no sistema de reparo de DNA. O principal agressor seria o radical hidroxil e um dos principais protetores nucleares seria o sistema GSH^{50,51}.

1.10 Mecanismos de defesa celular contra o estresse oxidativo

A exposição crônica e contínua do organismo ao estresse oxidativo, estimula as células a utilizarem mecanismos de defesa que tentam restabelecer o equilíbrio e evitar o dano oxidativo. Os antioxidantes, que, por definição, são substâncias que, quando presentes em baixas concentrações, são capazes de prevenir ou retardar um processo oxidativo, podendo ser sintetizados *in vivo*, ou virem por meio da dieta, são essenciais neste mecanismo de reequilíbrio.

Os mecanismos de defesa celulares podem agir de forma direta ou indireta pela redução da geração de ROS, como, por exemplo, xantina oxidase; ou por meio de proteínas que minimizam a ação de pró-oxidantes, como os íons ferro, cobre ou heme; ou por meio de agentes que cataliticamente removem espécies reativas, tais como Superóxido Dismutase, catalase e enzimas peroxidases; proteínas que protegem biomoléculas contra dano oxidativo por outros mecanismos, como, por exemplo, chaperonas; ou agentes que, preferencialmente, são oxidados por espécies reativas para preservar biomoléculas mais importantes, como GSH, alfa-tocoferol (Vitamina E), bilirrubina, ascorbato (Vitamina C), urato e albumina⁵⁰.

1.10.1 Albumina

A albumina é uma proteína composta de 585 aminoácidos, sintetizada no fígado e catabolizada no endotélio vascular; tem uma meia-vida de cerca de 14 dias, é responsável pela manutenção da pressão osmótica, pelo transporte de drogas, hormônios e ácidos graxos no sangue. Além disso, é um dos principais antioxidantes do extracelular, possui um resíduo amino da posição 34 N-terminal que é uma cisteína e um grupo tiol (grupo - SH), contribuindo com 500µM de “tióis totais do plasma” e promovendo uma proteção antioxidante dez vezes maior. Age inibindo a geração de radicais

hidroxil cobre-dependentes e peroxidação lipídica, protegendo alvos contra dano, como o LDL. Além disto, é seletivamente oxidada por uma variedade de oxidantes, reagindo rapidamente com ONOOH, HOCL, NO₂ e CO₃·, e lentamente com H₂O₂, funcionando como um “limpador suicida”, e prevenindo lesão de lipoproteínas e parede vascular⁴⁹.

O grupo tiol deoxida algumas substâncias de acordo com o estresse oxidativo e é, por si, oxidada⁵². Ou seja, a albumina pode agir como uma proteína de ligação para produtos de oxidação de carboidratos, lipídios e proteínas, tais como pentosidina e carboximetilisina, que se encontram cerca de 90% ligadas à albumina quando circulam no plasma. Todas estas observações são consistentes com um papel de “limpeza”, embora também sugira-se que a albumina oxidada possa ser tóxica ao endotélio vascular, além de induzir produção de RS (espécies reativas) pelo fagócito⁴⁹.

Em pacientes renais crônicos e em hemodiálise, demonstrou-se níveis elevados de carbonil proteína (um biomarcador de dano proteico oxidativo), apontando para o início do estresse oxidativo antes mesmo do início da hemodiálise; além de altos níveis de albumina oxidada quando comparados a indivíduos saudáveis, sinalizando para albumina como um dos principais alvos do estresse oxidativo, o que contribui para menor defesa antioxidante nesta população^{52,53}.

Além disso, grande parte dos pacientes em hemodiálise apresentam hipoalbuminemia, o que é um forte preditor de mortalidade nesta população⁵⁴; e a relação entre inflamação, hipoalbuminemia e risco cardiovascular pode-se dar pelo processo de estresse oxidativo.

Vários são os mecanismos aventados para hipoalbuminemia encontrada nos pacientes em tratamento dialítico, dentre eles, podemos citar: redução na síntese de albumina; alteração na taxa de remoção ou catabólica; de distribuição corporal; ou por perdas externas – urinárias – e pela membrana do dialisador⁵⁵.

A redução na síntese de albumina parece ser o principal mecanismo envolvido na hipoalbuminemia e pode ser consequência de desnutrição proteico-calórica; muitas vezes estes termos foram utilizados como

sinônimos na população em diálise. Porém, outros fatores devem ser lembrados como causa na redução de síntese proteica, como a presença de inflamação, ou deficiência de hormônio tireoidiano, hormônio de crescimento ou cortisol, necessários à manutenção da taxa basal de síntese de albumina; ou uma associação destes fatores⁵⁵.

1.10.2 Interleucina 6

A interleucina 6 é uma citocina pró-inflamatória (22 a 27 KD) produzida por vários tipos de células, como monócitos, células mesoteliais, fibroblastos, adipócitos e linfócitos, em resposta a estímulos como TNF alfa, IL-1b, endotoxinas bacterianas, exercícios físicos e estresse oxidativo. IL6 age nas células-alvo após ligar-se a um receptor (IL6R ou gp80) e ativar o componente gp130 na transdução de sinal, importante na resposta, e transição entre a fase inicial e tardia da resposta inflamatória^{56,57}.

A IL6 está aumentada na doença renal crônica, provavelmente por redução na eliminação de IL6 associada com a queda no ritmo de filtração glomerular, mas também por aumento de produção. Os fatores que podem estar associados com maiores níveis de IL6 circulantes e TNF alfa nos pacientes com doença renal crônica seriam: idade avançada, ICC descompensada, infecções subclínicas persistentes, como periodontite, infecções de catéter, infecção por *Chlamydia pneumoniae*, aumento de gordura visceral, estresse oxidativo, além de fatores genéticos⁵⁶. Um estudo realizado com 29 pacientes em HD relatou uma alta variabilidade interindividual [0,16 mg/l (13,3%)] e intraindividual de IL6 [1,04mg/l (86.7%)], e encontrou correlação entre idade avançada e maior variabilidade neste biomarcador, lembrando que fatores genéticos poderiam também explicar flutuações na resposta inflamatória⁵⁸.

Além disto, o procedimento de hemodiálise representa um estímulo adicional à resposta inflamatória, com algumas investigações demonstrando o aumento de IL6 e PCR ao final da sessão de HD^{59,60}, e apontando como

fatores contribuidores a utilização de solução de diálise não estéril ou membranas bioincompatíveis.

Níveis aumentados de IL6 se correlacionaram com maior mortalidade em pacientes renais crônicos, aterosclerose acelerada; desnutrição, por meio da inibição do apetite e da síntese de albumina, além de menor resposta à eritropoietina^{58,61,62}.

1.10.3 Proteína C reativa

A Proteína C Reativa encontra-se elevada nos pacientes renais crônicos e em hemodiálise, demonstrando o estado de microinflamação crônica destes pacientes, e alguns estudos relacionam níveis maiores de 6 mg/l a maiores taxas de hospitalização, menores valores de hemoglobina com menor resposta à eritropoietina, além de associação com menores níveis de albumina sérica^{63,64}.

Também o PCR pode apresentar variabilidade interindividual e intraindividual, com estudo relatando um índice de confiabilidade de cerca de 57 a 68% com 2 medições semanais para pacientes em HD sem eventos clínicos agudos⁵⁸. Porém, em uma pesquisa realizada com 280 pacientes em HD em seguimento por 4 anos, uma única medida de PCR foi um bom indicador de mortalidade total e cardiovascular⁶⁵.

Em pacientes em HD, somente a presença de evento clínico agudo se correlacionou com alteração do PCR, não se detectando diferença estatisticamente significativa entre pacientes com FAV e catéter, ou entre HD com ou sem solução de diálise ultrapura, sugerindo que um processo infeccioso subclínico crônico ou mesmo pequena contaminação na solução de diálise não teria influência no PCR^{66,67}.

1.10.4 Superóxido dismutase

A superóxido dismutase (ZnCuSOD) é uma enzima dimérica elipsoidal de 30x40x70 angstrom, cada subunidade possui 153 resíduos aminoácidos + 1 íon zinco e 1 íon cobre. São altamente eficazes na remoção de superóxido (O_2^-), por meio de dismutação de O_2^- , e estão presentes em muitas células na concentração de $\sim 10^{-5}$ M.

Possui um íon Zinco, que ajuda a estabilizar a enzima, e um íon Cobre, que catalisa a dismutação por oxidação e redução alternativas:

A enzima superóxido dismutase extracelular, algumas vezes chamada de SOD3, pode ser CuZnSOD ou MnSOD (SOD2), porém, na maioria das vezes, a SOD extracelular é um tipo de CuZnSOD, com massa molecular alta (135000). Há várias isoformas de SOD extracelular (A, B e C); B e C se ligam à heparina, C mais isometricamente do que B. Injeção de heparina em animais produz um aumento no plasma de SOD extracelular por deslocar esta enzima da superfície celular; também ajuda a ligação da SOD à parede vascular. Ela pode ser inativada pelo excesso de H_2O_2 , e serve para minimizar a interação de O_2^- e NO à forma $ONOO^-$, especialmente em algumas situações, tais como de hipertensão quando a produção de O_2^- está aumentada. Por sua vez, NO em excesso pode aumentar a biossíntese de SOD extracelular⁴⁹.

1.10.5 Glutathione (GSH)

O GSH é um tripeptídeo contendo tiol, é sintetizado no citoplasma de todas as células animais e o fígado é o órgão onde é mais ativo. Possui ação intra e extracelular. No intracelular, juntamente com o sistema tiorredoxina, constitui-se em um dos principais mecanismos de proteção nuclear, mantendo o ambiente altamente reduzido e protegido contra danos oxidativos⁵¹.

A síntese de GSH dá-se por meio da sequência abaixo descrita, em que a γ -glutamylcisteína sintetase catalisa o primeiro passo e a glutathione sintetase faz a conversão à GSH.

A cisteína necessária à síntese de GSH pode ser advinda da metionina, ou da cistina, que é reduzida à cisteína dentro da célula, e a deficiência de cisteína ou glicina podem limitar a síntese desta enzima. A γ -glutamylcisteína sintetase é inibida por *feedback* negativo pelo GSH (competitivamente com o glutamato) e não aparece como um substrato saturado com níveis normais de cisteína celular; então, o aumento de cisteína frequentemente promove a síntese de GSH.

O fígado constantemente secreta GSH no plasma para fornecer substratos para síntese de GSH em outros tecidos. O GSH é quebrado pelo γ -glutamyltranspeptidase (γ GGT) que age no extracelular e em outras células, a não ser nos eritrócitos, determinando um alto *turnover* desta enzima, com meia-vida de poucos minutos.

O GSH está presente em concentrações mM no intracelular, na maioria sob a forma reduzida (GSH reduzida) e a sua ação dá-se por meio da presença da Glutathione peroxidase, que remove o H_2O_2 e o transforma a H_2O , e da oxidação da glutathione, formando o dissulfeto de glutathione (GSH-GSSH).

O GSH pode reagir *in vivo* com OH, OHCL, ONOO⁻, RO, CO₃⁻ e O₂, mas não com O₂⁻ (ou, pelo menos, muito pouco com O₂⁻). A glutathione peroxidase possui em sua constituição o Selênio, e a deficiência desta substância pode ser responsável por menor atividade desta enzima. O Selênio é ingerido pela dieta e a quantidade normal recomendada seria de 30 a 200 µg/dia, sendo que a deficiência de Selênio geralmente acompanha desnutrição proteico-calórica.

O GSSH é reconvertido à GSH por meio da glutathione redutase. A tabela abaixo descreve os níveis de glutathione encontrados em diversos tecidos humanos⁶⁸.

Tabela 2 - Presença de Glutathione e enzimas em diversos tecidos humanos.

Tecidos humanos	Concentração GSH	Taxa GSH/GSSH	Glutathione peroxidase	Glutathione redutase
Fígado	4 mmol/g	>100/1	Alto	Alto
Rim	2µmol/g	>100/1	Alto	Alto
Eritrócitos	240 µg/ml sg	>100/1	Moderado	Moderado
Sangue total	~1mM	>100/1	Alto	Alto
Plasma	1-3 µM	varia	Baixo	Ausente
Fluido alveolar	40-200 µM	Varia (>10/1)	Traços	Traços ou Ausente

FONTE: Halliwell B, Gutteridge J. Free radicals in biology and medicine. Fourth Edition.

1.11 Biomarcadores de estresse oxidativo

Para determinação do estresse oxidativo, devemos lembrar que a quantificação direta dos radicais (livres ou não) é difícil devido à sua meia-vida curta. Desta forma, procuramos avaliar este fenômeno por meio da quantificação do dano oxidativo (peroxidação lipídica ou dano proteico,

determinação de dano ao DNA,) ou da quantificação dos sistemas de defesa antioxidante (enzimas antioxidantes, atividade antioxidante total).

A peroxidação lipídica em sua fase inicial, na qual há perda de cadeias de ácidos graxos insaturados, poderia ser documentada por meio de medidas de lipídios antes e após a exposição ao OS. Na fase de propagação, há consumo de oxigênio e formação de peróxidos, e estima-se este processo por meio de medidas de formação de peróxidos. Quando há a abstração de um hidrogênio pelas espécies reativas, este processo é caracterizado pela formação de dieno conjugado, que também pode ser monitorado por espectroscopia. Num estágio mais avançado da peroxidação, os peróxidos são decompostos a aldeídos, sendo o principal deles o Malondealdeído (MDA), que pode ser detectado pelo ácido tiobarbitúrico. Outros aldeídos também compõem este produto final, e todos eles são chamados de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)⁵⁰. Este é um dos métodos mais utilizados para acessar a peroxidação lipídica no organismo^{69,70,71}.

O LDL-ox é também um marcador de peroxidação lipídica e está envolvido na aterogênese. A aterosclerose representa uma doença inflamatória crônica, induzida parcialmente pela LDL-ox, que estimula a adesão de monócitos circulantes a células endoteliais pela indução de moléculas de adesão (VCAM-1); tem ação pró-trombótica, há aumento da ativação plaquetária; mecanismos envolvidos na formação da placa aterosclerótica^{72,73}.

A oxidação da porção lipídica do LDL, em geral, representa a fase inicial de modificação do LDL. Um dos mecanismos envolvidos neste processo seria relacionado a altas concentrações de ácido hipocloroso, com transformação das lipoproteínas em formas mais captadas pelos macrófagos; além de modificações nas propriedades de HDL com formação de partículas pró-aterogênicas. O ácido hipocloroso é gerado pela ação da enzima mieloperoxidase, agindo no peróxido de hidrogênio, liberado de neutrófilos e monócitos ativados, em condições inflamatórias. A

mieloperoxidase parece ligar-se diretamente à LDL também levando à sua oxidação⁷².

O isoprostano é outro marcador de peroxidação lipídica *in vivo*, e pode ser medido com espectrometria de massa-cromatografia gás, no plasma ou urina⁷⁴.

O dano proteico pode ser avaliado pela produção de carbonilas, utilizando como métodos a determinação do *pool* total de carbonilas, detecção de peróxidos, perda de grupos – SH, nitração de proteínas ou hidroxilação de aminoácidos⁵⁰.

Quando ocorre dano oxidativo direto pelas ROS ou indiretamente pelos subprodutos da peroxidação lipídica (MDA) ao DNA; e os mecanismos de reparo tornam-se insuficientes, podemos utilizar como marcadores deste processo bases de DNA, 2-, 8 hidrox adenina ou 8- hidroxiguanina^{49,51}.

1.12 Consequências do estresse oxidativo

O estresse oxidativo, resultado da maior produção de espécies reativas pela ativação excessiva de sistemas naturais produtores de espécies reativas, ou pela ativação de células fagocíticas em doenças inflamatórias crônicas; associado a menores níveis de defesas antioxidantes; resulta em diferentes respostas celulares, dependendo, principalmente, da severidade do estresse oxidativo.

Espécies reativas de oxigênio estão envolvidos em funções fisiológicas por meio da regulação de síntese de óxido nítrico, por cascatas de sinalização intracelular, incluindo citocinas, fatores de crescimento, MAPK e NF-KB, modulação de resposta imune ou em sua produção durante liberação fagocítica na defesa contra patógenos ambientais⁶⁸.

Baixos níveis de estresse oxidativo estimulam a proliferação de vários tipos celulares, e podem relacionar-se à angiogênese, artrite reumatoide ou aterosclerose. Níveis maiores de estresse oxidativo resultam em resposta adaptativa, pelo aumento de síntese de antioxidantes na tentativa de

restaurar o balanço oxidante-antioxidante, com maior resistência a insultos subsequentes. Com aumento do estresse oxidativo e da insuficiência dos mecanismos protetores, há dano mitocondrial ou ao DNA, e morte celular, que pode ocorrer por apoptose ou necrose⁶⁸.

Apoptose caracteriza-se por rompimento da membrana celular, mas sem perda de sua integridade, não há desintegração de organelas, é um processo ativo dependente de ATP, representa morte celular individual induzida, frequentemente, por mecanismos fisiológicos, e não há indução de resposta inflamatória importante. A necrose celular representa um processo passivo, com perda da integridade da membrana e desintegração de organelas, consequente morte de grupo de células com liberação de seus conteúdos e indução de resposta inflamatória importante⁶⁸.

1.13 Estresse oxidativo e inflamação no paciente portador de doença renal crônica

Vários estudos realizados em pacientes com insuficiência renal crônica não dialítica demonstraram maior estresse oxidativo e inflamação quando comparados a indivíduos saudáveis^{52,73,75-78}.

Oberg e cols.⁷⁶ constataram níveis aumentados de marcadores de estresse oxidativo (F2-isoprostanos, carbonilas) e inflamatórios (IL6 e PCR) em 60 pacientes com DRC estágio 3 a 5, quando comparados a indivíduos saudáveis; porém não conseguiram correlacionar um aumento progressivo destes biomarcadores com o declínio na taxa de filtração glomerular.

Mezzano e cols.⁷⁹ avaliaram 64 pacientes com DRC não dialítica e demonstraram aumento na peroxidação lipídica (TBARS) e na oxidação proteica (AOPP) com correlação positiva com marcadores inflamatórios (TNF alfa, IL 8, PCR) e de disfunção endotelial (ICAM-1, trombomodulina, fator de Von Willebrand).

Himmelfarb e cols.⁷⁸ afirmam que “o ambiente urêmico é um ambiente de maior estresse oxidativo”, devido ao aumento de formação de aldeídos reativos, retenção de substratos oxidáveis, além de redução de tióis

reduzidos, envolvidos na defesa antioxidante, contribuindo para maior inflamação e estresse oxidativo encontrados nesta população. Além disto, procura correlacionar os achados de inflamação, desnutrição e aterosclerose ao estresse oxidativo, citando-o como um dos principais fatores unificadores destes processos e associando-o à alta morbimortalidade encontrada nestes pacientes.

Annuk e cols.⁸⁰ descrevem como o aumento do estresse oxidativo na uremia levaria à lesão endotelial e de célula muscular lisa, e consequente maior adesão e agregação plaquetárias e aterosclerose. Um dos mecanismos propostos seria a redução da síntese de óxido nítrico endotelial por ação direta de ROS em seus cofatores; apesar de outro estudo⁸¹ relatar aumento da produção basal de óxido nítrico na uremia, porém com maior inativação desse devido à reação com superóxido em excesso, resultando na produção de peroxinitrito. Outro mecanismo seria por meio da oxidação de LDL, que estimula a adesão de monócitos circulantes às células endoteliais por indução de moléculas de adesão (VCAM-1) e receptores específicos, produção e liberação de proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1); aumento da captação de LDL-ox por macrófagos, levando à formação de células espumosas, precursoras das placas ateroscleróticas; destruição de célula endotelial por toxicidade direta de LDL-ox; além de seu efeito pró-trombótico e de ativação plaquetária⁷³.

Miyata e cols.⁸² relatam excesso de aldeído medido, como compostos carbonil no plasma urêmico. Estes compostos reagem irreversivelmente com amino grupos de proteínas, formando produtos finais da glicosilação avançada (AGEs), que promovem aterosclerose por meio de sua interação com receptor (RAGE), causando maior expressão de moléculas de adesão e atração de monócitos circulantes à parede vascular. A interação de AGE com RAGE pode levar à maior produção de IL6 por monócitos e, indiretamente, ao aumento de síntese de PCR pelo fígado. Também verifica-se redução na concentração de GSH e da atividade de enzimas relacionadas ao GSH de pacientes urêmicos, contribuindo para o maior estresse oxidativo⁷⁸.

Quando o paciente inicia o tratamento de hemodiálise, notamos maior aumento dos biomarcadores de estresse oxidativo⁸³⁻⁸⁷. Apesar de termos redução do estado urêmico com a instituição do tratamento, o procedimento de hemodiálise propriamente dito parece exacerbar e perpetuar o desbalanço redox. Após o início do tratamento HD, há relato de melhora do estresse oxidativo, porém às custas de reações de oxidação que são reversíveis, como as do grupo sulfidril, ou da redução de substratos oxidáveis dialisáveis^{88,89}; porém não há melhora das reações de oxidação irreversíveis, tais como a produção de grupos carbonilas e AOPP.

Dentre os fatores que estimulariam a produção de espécies reativas de oxigênio em pacientes em hemodiálise, os mais citados são o estado urêmico *per si*, a escolha do dialisador e os contaminantes do dialisato.

O mecanismo efetor seria por meio da ativação de polimorfonucleares, e amplificação da resposta de neutrófilos pelo complexo enzimático NAPH-oxidase. O complexo NAPH-oxidase ativado catalisa a redução de oxigênio molecular a ânion superóxido, que, rapidamente, sofre dismutação a peróxido de hidrogênio, sob ação da enzima superóxido dismutase. Posteriormente, sob ação da mieloperoxidase, uma enzima presente em grânulos azurófilos de leucócitos, o H_2O_2 é transformado em Ácido hipocloroso. Estas reações representam uma fonte deletéria de produção de ROS em pacientes urêmicos^{90,91}.

A interação entre o sangue e a membrana do dialisador levaria à ativação do sistema complemento por meio de componentes como C3a e C5a ou o Fator Ativador de Plaquetas, os quais estimulariam os neutrófilos durante HD. Neste contexto, o tipo de membrana utilizada durante HD teria papel, sendo as membranas sintéticas de alto fluxo as mais biocompatíveis e que reduziriam a produção de ROS por neutrófilos⁹²⁻⁹⁴.

Outra via de ativação de neutrófilos seria pelos produtos bacterianos da solução de diálise que atravessariam a membrana do dialisador e direta ou indiretamente estimulariam a liberação de ROS. Estudos demonstram o estímulo a monócitos por membranas de alto e baixo fluxos, levando à produção de citocinas, como IL 1 e TNF alfa, que, então, promovem a

1.14 Medidas descritas para minimizar o estresse oxidativo relacionado à hemodiálise

Dentre as medidas descritas para tentar minimizar o maior estresse oxidativo em pacientes em hemodiálise, encontramos: utilização de membranas mais biocompatíveis; membranas ligadas à vitamina E; solução de diálise com glicose, água para diálise ultrapura, além de suplementação de antioxidantes exógenos, como vitamina C, E ou N-acetilcisteína.

Alguns estudos compararam diferentes dialisadores e sua repercussão nos marcadores de estresse oxidativo, com melhores resultados observados com membrana de polissulfona^{93,100-102}. Bober e cols. relataram uma redução de estresse oxidativo com utilização de banhos com glicose^{103,104}. Cão encontrou benefício com utilização de membrana de polissulfona ligada à vitamina E (Vitabran E)¹⁰⁵⁻¹⁰⁸, assim como a utilização de solução de diálise ultrapura¹⁰⁹.

O quanto a contaminação da solução de diálise ou a presença de endotoxina estimularia a produção de citocinas pelos leucócitos é difícil determinar, porém a utilização de solução de diálise ultrapura, definida pela *Association for the Advancement of Medical Instrumentation* como àquela que possui <0,1 unidades formadoras de colônia por ml e um nível de endotoxina menor do que 0,03 EU/ml, parece estar associada a menores níveis de PCR e marcadores de estresse oxidativo.

Uma meta-análise realizada em abril de 2012 para verificar os efeitos da solução de diálise ultrapura sobre marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo selecionou 31 artigos (1.580 pacientes) de 918 citações. Em relação aos marcadores inflamatórios, houve queda significativa de PCR e IL6 após a conversão para solução de diálise ultrapura; redução de LDL ox e TNF alfa, e aumento de albumina e hemoglobina, com menores doses utilizadas de eritropoetina¹¹⁰.

Com relação à suplementação de antioxidantes exógenos, um trabalho realizado com pacientes em hemodiálise e suplementação de vitamina C oral, na dose de 250 mg/dia, encontrou redução dos níveis de malondealdeído (MDA)¹¹¹, porém, com relação à vitamina E, os resultados

são conflitantes, com algumas investigações demonstrando benefício e redução de risco cardiovascular e outras demonstrando efeitos pró-oxidantes^{112,113}. Kamgar e cols. avaliaram a resposta de pacientes em HD recebendo antioxidantes (vitamina C, E) em conjunto com suplementação vitamínica (B6, B12, ácido fólico), sem alterações em marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo¹¹⁴.

As pesquisas com N-acetilcisteína mostraram-se bastante eficazes, com alguns estudos indicando redução no estresse oxidativo e um trial mostrando redução em eventos cardiovasculares^{115,116}.

NAC tem função mucolítica, é utilizada no tratamento de bronquite crônica, funciona como antídoto na overdose de paracetamol, e, na área de Nefrologia, tem utilização na prevenção de nefropatia induzida por contraste, ou na tentativa de preservar a função da membrana peritoneal^{2,117-119}. Estudos em modelos de ratos com insuficiência renal mostraram efeito protetor da NAC com gadolínio¹²⁰.

N-acetilcisteína é um composto que contém thiol ($C_5H_9NO_3S$, com peso molecular de 163.2), o que explica a tendência à ligação com compostos reativos, sendo deacetilada a cisteína, seu principal metabólito, que é um precursor da glutathione. Esta medicação tem pico plasmático após 1 hora da administração oral, e meia-vida de 2 horas, não sendo detectada muitas vezes após 10 a 12 horas de seu uso¹²¹. Por meio do grupo sulfidril, está envolvido na limpeza direta de espécies reativas do oxigênio, como ácido hipocloroso, radical hidroxil e peróxido de hidrogênio; também foi relacionado à maior redução de homocisteína, quando administrada durante a sessão de hemodiálise, além de melhora descrita na pressão de pulso e função endotelial¹²².

Estudos realizados com pacientes em diálise peritoneal e N-acetilcisteína na dose de 1200 mg/dia, por 8 semanas, demonstraram redução de marcadores inflamatórios (IL6, TNF alfa, PCR ultrasensível) com o uso desta medicação^{123,124}.

Em pacientes portadores de DRC e em HD que receberam infusão de Ferro endovenoso, houve redução do TBARS associado ao uso de NAC na

dose de 1,2 g/dia^{125,126}, porém, após um evento inflamatório agudo (IAM), a resposta da NAC para nefrotoxicidade foi dose-dependente, com melhores resultados com uso de 2,4 g/dia¹²⁷.

Em nossa pesquisa, utilizamos NAC associada à prática de reuso de dialisadores. A utilização de reuso dos dialisadores vem sendo substituída nos países desenvolvidos pelo uso único de dialisadores; porém, em vários países, inclusive no Brasil, o uso único de dialisadores ainda apresenta-se economicamente inviável na maioria dos centros de hemodiálise, e a repercussão destas práticas no processo inflamatório e de estresse oxidativo conta com poucas investigações.

2 OBJETIVOS DO ESTUDO

2 OBJETIVOS DO ESTUDO

2.1 Objetivo principal

Avaliar a contribuição da prática de reúso sobre o estresse oxidativo e marcadores inflamatórios em pacientes em hemodiálise.

2.2 Objetivo secundário

Avaliar um possível efeito protetor da N-acetilcisteína em pacientes em hemodiálise com reúso de dialisadores.

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Realizamos pesquisa prospectiva e autocontrolada, no Serviço de Hemodiálise do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), no período de julho de 2010 a janeiro de 2011, com pacientes portadores de Doença Renal Crônica em Programa de Hemodiálise Convencional (três vezes por semana, com duração entre 3h30min a 4h). A investigação foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sob o número 0692/08.

O estudo foi dividido em 4 períodos consecutivos (Figura 1), conforme descrito abaixo:

Período 1:

Pacientes em tratamento regular de hemodiálise (HD), há mais de 6 meses, em rotina de reutilização de dialisador, tiveram amostras de sangue coletadas no início e no final de uma sessão de HD.

Período 2:

Todos os pacientes passaram a realizar sessões de HD com uso único de dialisador por um período de 6 semanas, com coleta de amostra de sangue ao final deste período, no início e final da sessão de HD.

Período 3:

Os pacientes voltaram a reutilizar os dialisadores, seguindo a rotina do Serviço, com descarte programado a cada 12 sessões ou quando o volume interno das fibras não preenchesse 80%, por um período de 6 semanas, e tiveram amostras de sangue coletadas ao final deste período, no início e no final da sessão de HD.

Período 4:

Por fim, os pacientes passaram a fazer uso de N-acetilcisteína (NAC), na dose de 1200 mg/dia, com reutilização de capilares, por mais 6 semanas, e tiveram amostras de sangue coletadas ao final deste período, também no início e no final da sessão de HD. A NAC foi fornecida em embalagem individualizada para cada paciente, em quantidade suficiente para uso nas 6 semanas. Não foi realizado controle com contagem de embalagens, porém, semanalmente, os pacientes foram arguidos sobre a utilização da medicação e possíveis efeitos colaterais ou benéficos.

Figura 10 - Desenho do Estudo. HD: hemodiálise, NAC: N-acetilcisteína.

3.2 Seleção de pacientes

O Serviço de Hemodiálise do Hospital das Clínicas contava com um total de 60 pacientes em programa regular de Hemodiálise; e alguns não preenchiam os critérios de inclusão, sendo eles: 8 pacientes portadores de Hepatite C, 10 pacientes que realizavam Hemodiálise diária, 5 pacientes com menos de 6 meses de tratamento, 1 paciente com realização de cirurgia de paratireoidectomia recente e 4 pacientes que estavam em tratamento por catéter de curta duração e, desta forma, foram excluídos.

Dos 32 pacientes selecionados, 2 pacientes recusaram participar e, dos 30 pacientes que iniciaram o estudo, apenas um paciente não o completou devido à realização de transplante renal no início do período 2 da investigação. Desta forma, como tínhamos apenas as dosagens da avaliação inicial do trabalho, estes resultados não foram utilizados na análise estatística.

Todos tinham idade superior a 18 anos, receberam informações sobre o estudo, e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Os critérios de exclusão foram: uso de catéter de curta duração, infecção ativa, sorologia positiva para hepatite B, C ou HIV, tabagistas, ou pacientes com PCR ultrasensível > 20 mg/L.

3.3 Características dos pacientes selecionados

Os pacientes selecionados encontravam-se clinicamente estáveis, sem relatos de internações ou infecções recentes ou uso de antibióticos no mês anterior ao início do estudo. Inicialmente, tínhamos a intenção de realização da pesquisa apenas com pacientes em HD por fístula arteriovenosa (FAV) nativa, porém não foi possível devido às características do serviço e número reduzido de pacientes em acompanhamento. Dos 30 pacientes selecionados, 24 encontravam-se em tratamento dialítico por fístula arteriovenosa como acesso para o procedimento, sendo 20 pacientes com FAV nativa e 4 pacientes com enxerto de politetrafluoretileno expandido (PTFE); e, desta forma, incluímos também os pacientes em tratamento com catéter de longa permanência (6 pacientes).

Tínhamos 24 pacientes hipertensos, em uso regular de anti-hipertensivos. Em utilização de apenas 1 classe de anti-hipertensivo: 12 pacientes, em uso de 2 classes de anti-hipertensivos: 6 pacientes; 3 classes de anti-hipertensivos: 5 pacientes e com necessidade de mais de 4 classes de anti-hipertensivos para controle pressórico adequado apenas 1 paciente.

Com relação aos diabéticos, eram 5 pacientes em uso regular de insulina NPH, e controle satisfatório da glicemia – mantendo Hb glicada < 7,0, e sem relatos de episódios de hipoglicemias frequentes.

3.4 Características do tratamento dialítico

As sessões de HD foram realizadas com dialisador de Polissulfona de alto fluxo Diacap – B. Braun, que já eram utilizados no Serviço, e em máquinas Fresenius 4008S, com duração que variou de 3 a 4 horas por sessão, de acordo com prescrição individualizada que objetivava sp KT/V (*single pool Kt/V*) superior a 1.2, com fluxo de sangue de 300 a 400 ml/min e fluxo de solução de diálise de 500 a 800 ml/min; a anticoagulação foi feita com heparina na dose de 5000 a 7500 UI por sessão, a composição do dialisato foi: sódio 138 mEq/l; potássio 2,0 mEq/l; cálcio 3,0 mEq/l e bicarbonato 32 mEq/l.

Durante a presente pesquisa, os pacientes estavam em uso de medicações anti-hipertensivas, quelantes de fósforo, vitamina D3, hipolipemiantes, eritropoietina SC na dose de 4.000 a 12.000 UI/semana e sacarato de hidróxido de ferro 100-200 mg/semana. Todas as medicações foram mantidas em uso, exceção somente à infusão de sacarato de hidróxido de ferro, que foi suspensa 15 dias antes da coleta de exames de cada período.

Todos os pacientes seguiram a rotina do serviço quanto à reutilização do capilar, com técnica de reprocessamento manual, número máximo de 12 reúsos, e com utilização de Peróxido de Hidrogênio como germicida.

3.5 Avaliação clínica

A enfermagem era orientada para registrarem qualquer tipo de ocorrência clínica durante o período de estudo, com especial atenção para

febre, início de antibioticoterapia ou eventos que justificassem internações. No transcorrer do estudo, um paciente apresentou arritmia com hipotensão ao final de uma sessão de HD no Período 2. Porém, não necessitou internação. Houve resposta clínica à reposição volêmica com solução fisiológica 0.9%. Não ocorreram relatos de febre, uso de antibiótico, perda ou troca de acesso vascular, ou mesmo internação durante todo o período.

3.6 Monitoramento da qualidade do tratamento de água

O tratamento de água para hemodiálise do Hospital das Clínicas de São Paulo conta com pré-tratamento, equipado com colunas de areia, abrandador, filtro de carvão ativado, além do Sistema de Osmose Reversa. O controle de qualidade do tratamento de água atende à Legislação Brasileira, por meio da Resolução nº154 (RDC 154) de 15 de junho de 2004, com todos os resultados dentro dos parâmetros permitidos para análise bacteriológica, no período da investigação (zero coliformes fecais, menos que 200 unidades formadoras de colônia de bactérias heterotróficas e menos de 2 unidades de endotoxina por ml). Não ocorreram indícios de contaminação no Sistema de Tratamento de Água no período de realização da pesquisa nem descrição de realização de procedimentos extras de desinfecção, além daqueles já programados na rotina do Serviço.

3.7 Avaliação laboratorial

No final de cada período, os pacientes tiveram amostras de sangue coletadas da fístula arteriovenosa ou da via arterial do catéter de longa permanência, após desprezar 3 ml de sangue das vias que continham heparina, no início e final da sessão de hemodiálise, para análise laboratorial. Parte do material foi imediatamente centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos. O plasma retirado foi mantido a -80°C para dosagens posteriores.

A outra parte do material foi encaminhada ao Laboratório Central do Hospital para dosagens bioquímicas.

As amostras de sangue foram analisadas no Laboratório Central do HCFMUSP, para determinação plasmática de ureia, creatinina, sódio, potássio, cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, ácido úrico, glicemia, colesterol total e frações, triglicérides, hemograma completo, VHS, ferro sérico, ferritina, cloro, seguindo as rotinas do laboratório, somente com as amostras de sangue do início da sessão de HD em cada período. A concentração de ureia foi determinada pré e pós-diálise para o cálculo do $sp\text{ KT/V}$ (*single pool Kt/V*), utilizando-se a equação de Daugirdas segunda geração¹²⁸. Abaixo seguem métodos utilizados e valores de referência.

Tabela 3 - Exames bioquímicos, métodos e valores de referência utilizados no Laboratório Central do HC-FMUSP.

Dosagem sérica	Método	Valores de referência
Ureia	Cinético automatizado	10 a 50 mg/dL
Creatinine	Colorimétrico cinético	0,70 a 1,20 mg/dL
Sódio	Eletrodo íon seletivo	135 a 145 mEq/L
Potássio	Eletrodo íon seletivo	3,5 a 5,0 mEq/L
Cálcio total	Colorimétrico automatizado	8,6 a 10,2 mg/dL
Fósforo	Enzimático colorimétrico automatizado	2,7 a 4,5 mg/dL
Fosfatase alcalina	Cinético automatizado	40 a 129 U/L
Glicemia	Enzimático colorimétrico automatizado	70 a 99 mg/ dL
Ácido úrico	Enzimático colorimétrico automatizado	3,4 a 7,0 mg/dL
Magnésio	Colorimétrico automatizado	1,58 a 2,55 mg/dL
Albumina	Colorimétrico automatizado	3,4 a 4,8 g/dL
Colesterol total e frações	Enzimático colorimétrico automatizado	inferior 200 mg/dL
triglicérides	Enzimático colorimétrico automatizado	Inferior a 150 mg/dL
hemograma	Automatizado/microscopia/coloração	Eritrograma/leucograma
Ferro sérico	Colorimétrico automatizado	59 a 158 µg/dL
Ferritina	Imunoturbidimétrico	30 a 400 ng/mL
transferrina	Imunoturbidimétrico	215 a 365 mg/dL
VHS	Westergren automatizado	5,3 a 20,2 mm

3.8 Marcadores inflamatórios

3.8.1 Dosagem de Proteína C reativa ultrasensível (PCR ultrasensível)

O PCR ultrasensível foi dosado no início e final da sessão de HD, nos diversos períodos, no Laboratório Central do HCFMUSP. Foi utilizado método de nefelometria para dosagem, sendo o valor de referência utilizado na população em geral menor que 5,0 mg/L. Em pacientes com função renal normal, assim como em pacientes renais crônicos estágio V, e dialíticos, tem-se utilizado um cutt-off de 6,0 mg/L, com valores acima denotando um estado inflamatório crônico, além de associação com eventos cardiovasculares⁶³⁻⁶⁵.

3.8.2 Dosagem de interleucina 6 (IL6)

Realizamos dosagens de interleucina 6, no início da sessão de hemodiálise, nos períodos citados, por meio de Kit Roche (*Roche Diagnostics*, Indianapolis, EUA) de imunoensaio e electroquimioluminescência, para leitura em analisadores Cobas E 411, com limite de detecção de 1.5-5000 pg/mL.

Estudo comparando controles com paciente renal crônico dialítico encontrou valores de IL 6 de 2.94 ± 0.76 e 4.40 ± 0.41 , respectivamente⁶⁰, o que foi compatível com outro estudo com pacientes dialíticos (n= 29), em período livre de episódios inflamatórios ou infecciosos agudos que encontrou mediana IL-6 de 4.4 (2.2–7.7) pg /ml, com variação intraindividual maior, chegando a 86,7%⁵⁸. Em situações de infecção aguda, como endocardite, houve um aumento significativo neste biomarcador, com normalização após 3 semanas de tratamento.

3.9 Indicadores de peroxidação lipídica

3.9.1 Determinação de malondealdeído (MDA) por meio do teste das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O TBARS foi determinado no plasma, no início e final da sessão de hemodiálise, nos períodos citados, pelo método de Ohkawa *et al.*, no qual o malondialdeído (MDA) que é um produto da reação de ERO (espécies reativas do oxigênio) com lípidos de membrana, reage com o Ácido Tiobarbitúrico (TBA) para formar um complexo com leitura colorimétrica, por espectrofotômetro a uma absorvância de 532 nm, com resultado em nmol/ml¹²⁹. Pesquisas comparando valores encontrados no início da sessão de HD variam de 2,8 ±0,6 nmol/ml a 3,4 nmol/ml, e 2,3±0,4 nmol/ml a 2,8 ± 15.8 nmol/ml ao final da sessão^{60,70}.

3.9.2 Determinação da atividade de superóxido dismutase (SOD)

A superóxido dismutase (SOD) é uma importante enzima antioxidante, que catalisa a dismutação do ânion superóxido a peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular. Utilizamos *kit* comercial Bio Vision® K335-100 (*Mountain View*, EUA) para dosagem plasmática. Este *kit* utiliza a taxa de redução da SOD, que é linearmente relacionada à atividade da xantina oxidase, e é inibida pela SOD. Este método colorimétrico, com leitura a 450 nm absorvância, pode ter o resultado expresso em % de taxa de inibição ou atividade da enzima em U/ml. Uma unidade de atividade da enzima corresponde a 50% da taxa de inibição da enzima. Estudos relatam diminuição na atividade desta enzima na insuficiência renal e em pacientes dialíticos^{99,130-132}.

3.9.3 Determinação da concentração de glutathiona total (GSH)

A glutathiona total (glutathiona reduzida + glutathiona oxidada) foi determinada por meio do Kit Sigma Aldrich CS0260 (*Saint Louis*, Missouri, EUA). Esta determinação baseia-se na velocidade da reação enzimática, na qual quantidades de glutathiona total (2 nmoles) causam uma redução contínua de 1 nmol de ácido 5,5 ditiobis – 2 - nitrobenzoico (DNTB) para 2 nmoles de ácido 5-tio-2-nitrobenzoico (TNB) e a glutathiona oxidada (GSSH) é reciclada pela glutathiona redutase e pelo NADPH. A velocidade de reação é diretamente proporcional à concentração de glutathiona total, e o produto amarelo (TNB) é medido espectrofotometricamente a 412 nm. O resultado é expresso em μmol ; a concentração plasmática varia de 1 a 3 μmol , com relatos de menor concentração desta enzima em renais crônicos e pacientes dialíticos^{77,133-135}

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para obtenção dos gráficos e análise estatística, foi utilizado o *software Prism 5* e o *software Statistica*.

As variáveis foram, inicialmente, classificadas em paramétricas e não paramétricas, por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov (distância K-S) e Shapiro-Walks. Quando as variáveis eram paramétricas, estas foram descritas na forma de média e desvio-padrão da amostra, e realizado teste de análise de variância para medidas não repetidas (ANOVA) com pós-teste de student-Newman-Keuls para comparação entre os grupos. No entanto, quando as variáveis eram não paramétricas, estas foram descritas na forma de mediana e percentis 25 e 75, e utilizado teste de Friedman com pós-teste de student-Newman-Keuls para comparação entre os grupos.

O nível de significância adotado foi de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Características clínico-laboratoriais dos pacientes nos períodos 1, 2, 3 e 4

Vinte e nove pacientes completaram o estudo, sendo 13 pacientes do sexo feminino e 16 pacientes do sexo masculino, com mediana de idade de 40,00 anos (30,00 – 59,75), e 50,50 meses (67,00 – 120,25) em tratamento hemodialítico.

Vinte e quatro pacientes realizaram as sessões de hemodiálise por fístula arteriovenosa, sendo 20 pacientes com fístula arteriovenosa nativa, e 4 pacientes com enxerto de politetrafluoretileno expandido (PTFE). Cinco pacientes realizaram as sessões de hemodiálise por catéter duplo lúmen de longa permanência; e, durante o período da pesquisa, nenhum paciente apresentou perda ou troca do acesso vascular. Os pacientes com catéter duplo lúmen de longa duração não apresentaram infecção do orifício de saída do catéter ou do túnel, não apresentaram febre, descrição de bacteremia ou uso de antibiótico no transcorrer da investigação.

Quanto à distribuição da doença renal de base, eram 13 pacientes com glomerulonefrite crônica, 2 pacientes com doença renal policística, 1 paciente com nefrite túbulo-intersticial, 5 pacientes com nefropatia diabética e 8 pacientes com nefroesclerose hipertensiva.

Tabela 4 - Distribuição quanto à Doença Renal de base.

Glomerulonefrite Crônica	13
Doença Renal Policística	2
Nefrite túbulo-intersticial crônica	1
Nefropatia Diabética	5
Nefroesclerose hipertensiva	8
Nefrite Lúpica	0
Total (n)	29

Tabela 5 - Resultados laboratoriais nos períodos 1, 2, 3, e 4.

	Período 1	Período 2	Período 3	Período 4	<i>p</i>
spKT/V	1,4±0,3	1,3± 0,2	1,3±0,2	1,3±0,2	0,11
VHS mm	23,6±17,8	22,3±19,3	20,6±16,7	20,0±12,9	0,53
Hematócrito	33,4±6,7	33,7±7,3	34,8±5,3	33,4±4,8	0,83
Fe sérico µg/dL	65,0±22,6	63,4±23,7	62,7±29,7	60,2±19,0	0,77
Ferritina ng/mL	645,5±358,6	571,5±483,7	559,3±440,0	598,8±468,9	0,27
Albumina g/dL	4,2±0,2	4,2±0,3	4,2±0,3	4,1±0,2	0,06

NOTAS: Período 1: reúso de dialisadores, Período 2: uso único de dialisadores, Período 3: reúso de novo de dialisadores, Período 4: reúso de dialisadores + NAC, *p*= nível de significância 5%.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os períodos 1, 2, 3 e 4 do estudo, quanto ao *sp* KT/V (1,4±0,3 vs 1,3± 0,2 vs 1,3±0,2 vs 1,3±0,2 ; *p*=0,1088), quanto ao VHS (23,6±17,8 vs 22,3±19,3 vs 20,6±16,7 vs 20,0±12,9; *p*=0,5348), quanto ao hematócrito (33,4±6,7 vs 33,7±7,3 vs 34,8±5,3 vs 33,4±4,8; *p*=0,8323), quanto ao ferro sérico (65,0±22,6 vs 63,4±23,7 vs 62,7±29,7 vs 60,2±19,0; *p*=0,7752), quanto à ferritina (645,5±358,6 vs 571,5±483,7 vs 559,3±440,0 vs 598,8±468,9; *p*=0,2710) e quanto à albumina sérica (4,2±0,2 vs 4,2±0,3 vs 4,2±0,3 vs 4,1±0,2; *p*=0,0697).

Os 29 pacientes selecionados realizaram sessões com reúso de dialisadores, por técnica manual, e a média de utilização dos dialisadores foi de 8,82±3,79 (Período 1). Estes pacientes passaram, então, a realizar as sessões com dialisadores novos por 6 semanas (Período 2), retornando à prática de reutilização de dialisadores, e a média de utilização foi de 10±3,45 vezes neste período (3). No último período, com reúso de dialisadores + uso de NAC, a média de utilização foi de 9,04±3,45 vezes (Período 4).

5.2 Resultados do monitoramento do tratamento de água

O Quadro 1 mostra o resultado das análises mensais realizadas no monitoramento da qualidade do tratamento de água utilizada na hemodiálise, que se encontravam dentro dos parâmetros regulamentados nas normas da RDC 154-de 15 de junho de 2004 (Anexo A).

Quadro 1 - Resultados das análises do monitoramento mensal no Tratamento de água, com parâmetros de limite máximo regulamentados pela RDC 154-de 15 de junho de 2004.

Parâmetros	unidades	lim máx	julho	agosto	setembro	Outubro	novembro	dezembro	janeiro
bactérias heterotróficas pós-osmose	UFC/ml	200	1	5	1	n.d.	n.d.	9	5
endotoxinas pós-osmose	UE/ml	2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
coliformes totais pós-osmose	P/A em 100 ml	Ausente	A	A	A	A	A	A	A
bactérias heterotróficas na solução de diálise	UFC/ml	2000	3	5	1	3	1	3	4

NOTAS: P/A: presente/ausente; UFC/ml: unidades formadoras de colônias por mililitro; EU/ml: Unidades de Endotoxina por mililitro; n.d.: não detectado.

5.3 Avaliação do estresse oxidativo

Ao analisarmos as alterações ocorridas entre os períodos, verificamos que a concentração de TBARS apresentou aumento significativo no período de uso único de dialisadores, quando comparado aos demais períodos ($p=0,004$; Tabela 3, Gráfico 1).

A atividade das enzimas antioxidantes SOD e GSH total não apresentou diferença significativa quando comparada aos demais períodos do estudo (Tabela 3, Gráficos 2 e 3).

Tabela 6 - Avaliação do estresse oxidativo entre os períodos 1 (reúso), 2 (uso único), 3 (reúso de novo) e 4 (reúso + NAC).

	Período 1	Período 2	Período 3	Período 4	*p
TBARS-PRÉ-HD	7,04 (3,1 - 11,9)	10,14 *(8,2 - 13,2)	7,71 (5,3 - 14,3)	7,12 (2,8 - 11,3)	p = 0,004
SOD- PRÉ-HD	1,72 (1,6 - 1,8)	1,72 (1,6 - 1,8)	1,73 (1,6 - 1,8)	1,69 (1,6 - 1,8)	p = 0,147
GSH- PRÉ-HD	2,6 (1,4 - 4,1)	2,4 (1,6 - 3,7)	2,4 (1,4 - 4,4)	2,8 (1,4 - 4,6)	p= 0,512

NOTAS: Período 1: reúso de dialisadores, Período 2: uso único de dialisadores, Período 3: reúso de novo de dialisadores, Período 4: reúso de dialisadores + NAC; PRÉ HD: dosagens realizadas no início da sessão de hemodiálise, TBARS: em nmol/mL; SOD: Superóxido Dismutase, em U/mL; GSH: Glutathiona total, em µM/L, *p: nível de significância 5%.

Gráfico 1 - Representação gráfica da concentração de TBARS nos períodos 1 (com reúso de dialisadores), 2 (uso único de dialisadores), 3 (com reúso de novo de dialisadores), 4 (com reúso de dialisadores + uso de N-acetilcisteína), no início da sessão de Hemodiálise (PRÉ-HD).

NOTA: *diferença significativa quando comparamos o Período 2 PRÉ-HD aos demais Períodos: 1, 3 e 4, PRÉ-HD.

Gráfico 2 - Representação gráfica da concentração de SOD (Superóxido Dismutase) nos períodos 1 (com reúso de dialisadores), 2 (uso único de dialisadores), 3 (com reúso de novo de dialisadores), 4 (com reúso de dialisadores + uso de N-acetilcisteína), no início da sessão de Hemodiálise (PRÉ-HD).

NOTA: Não houve diferença significativa entre os Períodos ($p=0,147$).

Gráfico 3 - Representação gráfica da concentração de Glutathiona total nos períodos 1 (com reuso de dialisadores), 2 (uso único de dialisadores), 3 (com reuso de novo de dialisadores), 4 (com reuso de dialisadores + uso de N-acetilcisteína), no início da sessão de Hemodiálise (PRÉ-HD).

NOTA: Não houve diferença significativa entre os períodos ($p=0,512$).

Conforme descrito na Tabela 4, quando analisamos a concentração de TBARS com dosagens no início das sessões de HD e no final das sessões, notamos redução dos níveis deste marcador no final das sessões de hemodiálise, de forma significativa, nos períodos 1, 2, e 3 (Gráfico 4, $p<0,05$) e somente no período 4, de reuso + utilização do NAC, não foi observada diferença significativa.

Na análise entre todos os períodos, o TBARS- PRÉ-HD do período 2 revelou diferença estatisticamente significativa em relação aos períodos 1, 3 e 4 PRÉ-HD e aos períodos 1, 2, 3 e 4 PÓS-HD.

Quanto às enzimas antioxidantes, os níveis de SOD e GSH total não apresentaram diferença significativa entre as dosagens do início e final das sessões de HD; assim como não apresentaram diferença estatisticamente significativa nos diversos períodos da pesquisa (Tabela 4, Gráfico 4).

Tabela 7 - Avaliação dos marcadores de estresse oxidativo no início e no final das sessões de hemodiálise, nos períodos 1 (reúso), 2 (uso único), 3 (reúso de novo) e 4 (reúso + NAC).

Avaliação entre as coletas Pré e Pós Hemodiálise (HD)								
(N=29 Pacientes)	MEDIANA (PERCENTIS 25, 75)							
	PERÍODO 1		PERÍODO 2		PERÍODO 3		PERÍODO 4	
TBARS- PRE HD	7,0	(3,1 - 11,9)	10,1**	(8,2 - 13,2)	7,7	(5,3 - 14,3)	7,1	(2,8 - 11,3)
TBARS- POS HD	5,4	(3,2 - 11,3)	6,3	(4,4 - 10,7)	4,8	(3,2 - 9,6)	5,1	(2,1 - 9,7)
WILCOXON (p)	P<0,05		P<0,05		P<0,05		1,0	
SOD- PRE HD	1,7	(1,6 - 1,8)	1,8	(1,6 - 1,8)	1,7	(1,6 - 1,8)	1,7	(1,6 - 1,8)
SOD- POS HD	1,8	(1,6 - 1,8)	1,8	(1,7 - 1,9)	1,7	(1,6 - 1,8)	1,7	(1,6 - 1,8)
WILCOXON (p)	0,2		0,1		0,6		0,1	
GSH- PRE HD	2,6	(1,4 - 4,1)	2,4	(1,6 - 3,7)	2,4	(1,4 - 4,4)	2,8	(1,4 - 4,6)
GSH- POS HD	2,5	(1,1 - 3,9)	2,3	(1,6 - 3,8)	2,7	(1,4 - 4,5)	2,2	(1,6 - 3,9)
WILCOXON (p)	0,7		0,8		0,5		0,8	

NOTAS: Período 1: reúso de dialisadores, Período 2: uso único de dialisadores, Período 3: reúso de novo de dialisadores, Período 4: reúso de dialisadores + NAC; PRÉ-HD: dosagens realizadas no início da sessão de hemodiálise, PÓS-HD: dosagens realizadas ao final das sessões de hemodiálise, TBARS: em nmol/mL; SOD: Superóxido Dismutase, em U/mL; GSH: Glutathiona total, em µM/L, *Wilcoxon (p): nível de significância; **ANOVA: diferença significativa em relação aos períodos 1,3 e 4 PRE e 1,2,3 e 4 PÓS-HD.

Gráfico 4 - Representação gráfica da concentração de TBARS (A), SOD (B), GSH total (C), e PCR (D) PRÉ e PÓS-HD, nos períodos 1, 2, 3 e 4. ANOVA: A** diferença significativa do TBARS 2 PRÉ-HD em relação aos períodos 1, 3 e 4 PRÉ-HD, bem como em relação aos períodos 1, 2, 3 e 4 PÓS-HD ($p=0,004$); B: não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,147$); C: não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,512$); D: PCRu 1 PRÉ-HD vs PCRu 1 PÓS-HD * $p<0,05$; PCRu 2 PRÉ-HD vs PCRu 2 PÓS-HD ** $p<0,05$; PCRu 3 PRÉ-HD vs PCRu 3 PÓS-HD † $p<0,05$; PCRu 4 PRÉ-HD vs PCRu 4 PÓS-HD ‡ $p<0,05$.

NOTAS: Não houve diferença significativa entre os períodos 1, 2, 3 e 4, $p=0,136$.

5.4 Avaliação de marcadores inflamatórios

Realizamos a avaliação de marcadores inflamatórios por meio das dosagens de PCR ultrasensível no início e final da sessão de Hemodiálise (Tabela 5), e ao final de cada Período (1, 2, 3, e 4). Houve aumento dos valores de PCRu ao final das sessões de Hemodiálise, em todos os Períodos, de forma estatisticamente significativa. A análise longitudinal, entre os Períodos, não detectou diferença significativa ($p=0,136$).

Com relação à dosagem de Interleucina 6, realizada no início da sessão de Hemodiálise, a mediana encontrada no período 1 foi de 6,33 (2,21- 9,40), no período 2 foi de 6,58 (1,97-11,08), no período 3 foi de 4,95 (2,31-10,82) e no período 4 foi de 5,89 (2,63- 11,59), não havendo diferença estatisticamente significativa entre os períodos ($p=0,065$; Gráfico 6).

Tabela 8 - Avaliação do PRC ultrasensível no início e final das sessões de Hemodiálise.

Avaliação entre as coletas Pré e Pós Hemodiálise (HD)								
(N=29 Pacientes)	MEDIANA (PERCENTIS 25, 75)							
	PERÍODO 1		PERÍODO 2		PERÍODO 3		PERÍODO 4	
PCR u- PRE HD	1,8	(1,1 - 6,5)	3,4	(0,6 - 9,1)	3,5	(0,9 - 6,4)	3,6	(1,0 - 5,4)
PCR u- POS HD	2,2	(1,1 - 7,4)	4,1	(0,9 - 9,7)	3,7	(0,9 - 6,9)	4,1	(1,1 - 6,6)
WILCOXON (p)	P<0,05		P<0,05		P<0,05		P<0,05	

NOTAS: PRÉ-HD: início da sessão de hemodiálise, PÓS-HD: final da sessão de hemodiálise; PCR ultrasensível, em mg/L; Período 1: reúso de dialisadores, Período 2: uso único de dialisadores, Período 3: reúso de novo de dialisadores, Período 4: reúso de dialisadores + NAC.

Gráfico 5 - Representação gráfica de PCR ultrasensível nos períodos 1 (com reúso de dialisadores), 2 (uso único de dialisadores), 3 (com reúso de novo de dialisadores), 4 (com reúso de dialisadores + uso de N-acetilcisteína), no início da sessão de Hemodiálise (PRÉ-HD).

NOTAS: ANOVA: não houve diferença estatisticamente significativa entre os Períodos 1, 2, 3 e 4 ($p=0,136$).

Gráfico 6 - Representação gráfica de Interleucina 6 nos períodos 1 (com reúso de dialisadores), 2 (uso único de dialisadores), 3 (com reúso de novo de dialisadores), 4 (com reúso de dialisadores + uso de N-acetilcisteína), no início da sessão de Hemodiálise, PRÉ-HD.

NOTAS: ANOVA: não houve diferença significativa entre os Períodos 1, 2, 3 e 4 ($p=0,065$).

Posteriormente, realizamos a análise estatística de nossos resultados por categorização: sexo, idade > ou < 40 anos, acesso vascular, Diabetes Mellitus e Hipertensão.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores encontrados para albumina entre os sexos feminino e masculino, bem como para TBARS, SOD, GSH total, PCR e IL6 no PRÉ e PÓS-HD (Tabela 06).

Tabela 9 - Análise estatística dos marcadores de estresse oxidativo e inflamatórios, por sexo.

FEMININO X MASCULINO		MEDIANA (PERCENTIS 25, 75)							
	N	PERÍODO 1		PERÍODO 2		PERÍODO 3		PERÍODO 4	
TBARS- FEM- PRE HD	13	6,04	(1,62-11,95)	9,06	(7,19-13,26)	7,70	(5,29-19,02)	3,61	(2,24-13,32)
TBARS- MASC- PRE HD	16	9,77	(4,95-12,11)	10,73	(8,28-14,33)	9,46	(4,89-14,54)	7,66	(3,38-10,29)
WILCOXON (<i>p</i>)		0,45		0,59		0,98		0,62	
TBARS- FEM- POS HD	13	5,19	(1,94-8,69)	5,89	(3,20-8,97)	3,34	(1,47-7,18)	3,32	(1,68-7,41)
TBARS- MASC- POS HD	16	7,05	(2,97-12,88)	6,54	(4,61-11,76)	6,95	(4,42-10,15)	5,14	(2,51-12,02)
WILCOXON (<i>p</i>)		0,40		0,25		p<0.05		0,56	
SOD- FEM- PRE HD	13	1,72	(1,66-1,81)	1,71	(1,64-1,77)	1,72	(1,65-1,83)	1,73	(1,64-1,77)
SOD- MASC- PRE HD	16	1,71	(1,65-1,76)	1,75	(1,72-1,78)	1,72	(1,67-1,80)	1,69	(1,60-1,75)
WILCOXON (<i>p</i>)		0,45		0,25		0,91		0,40	
SOD- FEM- POS HD	13	1,76	(1,63-1,81)	1,77	(1,70-1,90)	1,74	(1,62-1,88)	1,72	(1,62-1,83)
SOD- MASC- POS HD	16	1,77	(1,65-1,84)	1,77	(1,71-1,92)	1,75	(1,64-1,84)	1,75	(1,70-1,80)
WILCOXON (<i>p</i>)		0,59		0,91		0,85		0,75	
GSH- FEM- PRE HD	13	2,01	(1,14-4,66)	2,20	(1,62-2,56)	2,24	(0,93-4,18)	2,29	(0,70-4,31)
GSH- MASC- PRE HD	16	2,59	(1,47-4,28)	2,74	(1,59-4,04)	2,74	(1,73-4,52)	3,02	(1,80-5,93)
WILCOXON (<i>p</i>)		0,78		0,45		0,53		0,40	
GSH- FEM- POS HD	13	2,26	(1,02-2,73)	2,21	(1,40-3,47)	2,66	(1,19-4,09)	2,06	(1,29-4,77)
GSH- MASC- POS HD	16	2,88	(1,14-4,24)	2,52	(1,67-4,20)	3,86	(1,49-5,00)	2,77	(1,81-3,36)
WILCOXON (<i>p</i>)		0,33		0,42		0,40		0,65	
PCR- FEM- PRE HD	13	3,40	(0,85-7,20)	4,10	(0,60-7,40)	4,20	(0,90-7,00)	3,70	(0,70-5,40)
PCR- MASC- PRE HD	16	1,75	(1,10-6,15)	3,25	(0,78-9,13)	2,30	(0,93-6,03)	3,15	(1,18-5,45)
WILCOXON (<i>p</i>)		0,91		0,81		0,35		0,95	
PCR- FEM- POS HD	13	4,20	(0,65-8,10)	5,00	(1,00-8,60)	4,90	(1,10-7,65)	4,30	(0,70-6,70)
PCR- MASC- POS HD	16	2,10	(1,23-6,78)	3,75	(0,85-9,98)	2,70	(0,93-6,60)	3,95	(1,33-6,48)
WILCOXON (<i>p</i>)		0,98		1,00		0,42		0,91	
IL 6- FEM- PRE HD	13	7,91	(3,19-11,10)	10,62	(2,80-13,89)	7,42	(4,12-12,79)	7,42	(3,68-13,79)
IL 6- MASC- PRE HD	16	3,11	(1,61-8,31)	3,50	(1,08-9,36)	2,84	(1,73-9,27)	4,88	(2,41-10,00)
WILCOXON (<i>p</i>)		0,09		0,06		0,06		0,23	
ALBUMINA- FEM- PRE HD	13	4,40	(4,05-4,55)	4,30	(4,05-4,40)	4,20	(3,95-4,60)	4,10	(3,95-4,40)
ALBUMINA- MASC- PRE HD	16	4,15	(4,00-4,28)	4,10	(3,90-4,38)	4,20	(4,00-4,35)	4,10	(3,90-4,20)
WILCOXON (<i>p</i>)		0,329		0,351		0,56		0,56	

NOTAS: TBARS: teste das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico, SOD: superóxido dismutase, GSH: glutathione total, PCR: proteína C reativa ultrasensível, IL6: Interleucina 6; FEM: feminino, MASC: masculino, PRÉ-HD: início de sessão de HD, PÓS-HD: final da sessão de HD.

Quando analisamos os resultados por categorização de idade, verificamos, no período 2 (uso único de dialisadores), um maior valor de TBARS ao final da sessão de HD ($p<0.05$); além menores valores da enzima antioxidante SOD ($p<0.05$), e maiores níveis de IL 6 nos pacientes acima de 40 anos de idade ($p<0.05$; Tabela 7). Não houve variação significativa para albumina sérica entre as categorias de idade.

Tabela 10 - Análise estatística dos marcadores de Estresse oxidativo e inflamatórios, por categorização de idade (< 40 anos e > 40 anos).

<40 ANOS x > 40 ANOS		MEDIANA (PERCENTIS 25, 75)							
	N	PERÍODO 1		PERÍODO 2		PERÍODO 3		PERÍODO 4	
TBARS- PRE HD (<40 anos)	14	5,56	(1,29-11,07)	8,86	(5,88-13,06)	7,58	(4,25-13,77)	4,31	(1,88-8,75)
TBARS- PRE HD (>40 anos)	15	10,07	(4,14-12,38)	10,47	(8,80-14,75)	11,22	(5,32-15,90)	8,06	(3,21-13,67)
WILCOXON (p)		0,18		0,18		0,36		0,11	
TBARS- POS HD (<40 anos)	14	5,42	(1,36-10,94)	4,49	(3,49-6,31)	4,33	(1,64-6,56)	4,67	(1,20-7,45)
TBARS- POS HD (>40 anos)	15	5,36	(3,88-12,53)	7,33	(6,16-12,26)	7,14	(3,34-11,02)	5,14	(2,55-12,08)
WILCOXON (p)		0,63		p<0.05		0,05		0,39	
SOD- PRE HD (<40 anos)	14	1,70	(1,64-1,80)	1,75	(1,69-1,77)	1,71	(1,66-1,81)	1,71	(1,66-1,81)
SOD- PRE HD (>40 anos)	15	1,72	(1,66-1,76)	1,74	(1,63-1,78)	1,74	(1,68-1,78)	1,70	(1,64-1,75)
WILCOXON (p)		0,78		0,39		0,65		0,93	
SOD- POS HD (<40 anos)	14	1,79	(1,71-1,87)	1,87	(1,75-1,95)	1,79	(1,68-1,85)	1,79	(1,64-1,85)
SOD- POS HD (>40 anos)	15	1,73	(1,60-1,80)	1,72	(1,63-1,79)	1,71	(1,58-1,82)	1,71	(1,66-1,78)
WILCOXON (p)		0,13		p<0.05		0,18		0,24	
GSH- PRE HD (<40 anos)	14	3,19	(1,81-6,25)	2,53	(1,92-3,64)	2,74	(1,66-4,70)	2,64	(1,71-4,25)
GSH- PRE HD (>40 anos)	15	1,74	(1,19-2,63)	2,06	(1,52-3,83)	2,24	(1,18-4,20)	2,77	(0,71-5,28)
WILCOXON (p)		0,06		0,62		0,69		0,83	
GSH- POS HD (<40 anos)	14	2,50	(1,19-3,64)	3,19	(1,39-4,30)	3,49	(1,62-4,80)	3,06	(1,79-5,10)
GSH- POS HD (>40 anos)	15	1,78	(0,94-4,16)	2,21	(1,60-2,90)	2,24	(1,10-4,35)	2,03	(1,23-3,35)
WILCOXON (p)		0,60		0,30		0,32		0,11	
PCR- PRE HD (<40 anos)	14	1,70	(1,00-5,43)	2,85	(0,60-6,05)	2,30	(0,90-6,18)	2,25	(0,73-4,13)
PCR- PRE HD (>40 anos)	15	3,40	(1,20-7,70)	5,20	(0,70-9,60)	4,20	(0,90-6,40)	4,00	(1,40-5,60)
WILCOXON (p)		0,44		0,35		0,68		0,20	
PCR- POS HD (<40 anos)	14	2,10	(0,93-6,55)	3,35	(0,95-7,50)	2,80	(0,93-7,28)	2,80	(0,80-5,48)
PCR- POS HD (>40 anos)	15	4,30	(1,20-7,60)	5,80	(0,80-10,60)	4,90	(0,90-7,00)	4,30	(1,70-6,70)
WILCOXON (p)		0,68		0,46		0,76		0,38	
IL6- PRE HD (<40 anos)	14	3,19	(1,80-6,78)	3,11	(1,58-6,75)	3,21	(2,34-6,87)	4,30	(2,63-8,10)
IL6- PRE HD (>40 anos)	15	8,34	(2,82-11,25)	10,60	(2,05-22,64)	8,13	(1,93-11,37)	9,55	(2,52-17,37)
WILCOXON (p)		p<0.05		p<0.05		0,38		0,13	
ALBUMINAPRE HD (<40 anos)	14	4,20	(4,08-4,50)	4,30	(3,98-4,43)	4,25	(4,18-4,55)	4,15	(4,05-4,40)
ALBUMINAPRE HD (>40 anos)	15	4,10	(4,00-4,50)	4,10	(4,00-4,30)	4,10	(3,90-4,20)	4,10	(3,90-4,10)
WILCOXON (p)		0,43		0,32		0,07		0,08	

NOTAS: TBARS: teste das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico, SOD: superóxido dismutase, GSH: glutatona total, PCR: proteína C reativa ultrasensível, IL6: Interleucina 6; PRÉ-HD: início de sessão de HD, PÓS-HD: final da sessão de HD.

De acordo com os resultados por categorização de acesso vascular para HD, os pacientes utilizando catéter de longa permanência como acesso para HD (N=5) apresentaram maiores valores de TBARS PRE e PÓS-HD, no período de uso único de capilares ($p<0.05$, Período 2), em relação aos pacientes em HD por fístula arteriovenosa (N=24). Não houve diferença estatisticamente significativa nos demais períodos (Tabela 8).

Com relação às enzimas antioxidantes SOD e GSH, não houve diferença estatisticamente significativa nas dosagens PRE e PÓS-HD, e entre os períodos, quando agrupamos os pacientes de acordo com o acesso vascular utilizado para HD.

Os pacientes com catéter de longa permanência apresentaram maiores valores de PCR u e IL6 no período 2, porém não atingiram níveis estatisticamente significativos ($p=0,06$). Nos demais períodos, não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao PCR u, assim como para IL6.

Com relação à albumina sérica, os pacientes com FAV apresentaram maiores valores em relação aos pacientes com catéter, e, no período de uso único de dialisadores, a diferença entre os pacientes com FAV e catéter tornou-se significativa. Também no período de reúso com uso de N-acetilcisteína esta diferença foi estatisticamente significativa.

Tabela 11 - Análise estatística dos marcadores de Estresse oxidativo e inflamatórios, por acesso vascular para hemodiálise (Fístula arteriovenosa e catéter de longa permanência do tipo Permcath).

FÍSTULA X PERMCATH		MEDIANA (PERCENTIS 25, 75)							
	N	PERÍODO 1		PERÍODO 2		PERÍODO 3		PERÍODO 4	
TBARS- FISTULA- PRE HD	24	6,92	(2,29-12,11)	9,13	(6,91-11,38)	7,70	(5,27-13,37)	5,00	(2,62-10,29)
TBARS- CATETER-PRE HD	5	9,55	(3,93-14,34)	16,02	(14,20-18,22)	13,96	(4,97-19,76)	7,85	(4,11-14,84)
WILCOXON (p)		0,64		$p<0,05$		0,53		0,49	
TBARS- FISTULA- POS HD	24	5,59	(3,97-9,78)	6,02	(4,37-7,05)	4,50	(3,19-9,68)	4,93	(2,22-7,57)
TBARS- CATETER-POS HD	5	3,72	(2,26-13,04)	13,24	(8,08-14,80)	7,34	(4,30-9,56)	5,14	(0,03-17,99)
WILCOXON (p)		,69		$p<0,05$		,45		,89	
SOD- FISTULA- PRE HD	24	1,72	(1,65-1,77)	1,75	(1,65-1,78)	1,72	(1,66-1,80)	1,71	(1,64-1,75)
SOD- CATETER-PRE HD	5	1,70	(1,65-1,79)	1,75	(1,69-1,80)	1,75	(1,69-1,81)	1,74	(1,63-1,78)
WILCOXON (p)		0,91		0,91		0,40		0,52	
SOD- FISTULA- POS HD	24	1,77	(1,64-1,82)	1,77	(1,71-1,86)	1,74	(1,65-1,85)	1,75	(1,65-1,83)
SOD- CATETER-POS HD	5	1,73	(1,58-1,84)	1,81	(1,68-1,97)	1,74	(1,12-1,84)	1,71	(1,66-1,80)
WILCOXON (p)		0,69		0,42		0,60		0,73	
GSH- FISTULA- PRE HD	24	2,59	(1,57-4,55)	2,35	(1,79-3,39)	3,03	(1,37-4,57)	2,89	(1,71-4,65)
GSH- CATETER-PRE HD	5	1,19	(0,68-3,38)	1,78	(0,78-4,28)	1,81	(1,09-3,51)	2,08	(0,28-4,21)
WILCOXON (p)		0,21		0,56		0,27		0,25	
GSH- FISTULA- POS HD	24	2,36	(1,28-3,98)	2,34	(1,64-3,57)	2,67	(1,32-4,53)	2,14	(1,73-3,35)
GSH- CATETER-POS HD	5	3,31	(0,72-4,83)	1,89	(0,65-5,34)	3,81	(0,95-4,58)	3,35	(1,16-4,95)
WILCOXON (p)		0,91		0,91		0,89		0,79	
PCR- FISTULA- PRE HD	24	1,50	(0,80-6,55)	3,25	(0,60-5,73)	2,95	(0,68-6,38)	3,20	(0,83-5,55)
PCR- CATETER-PRE HD	5	4,40	(3,05-6,80)	9,20	(5,40-19,45)	3,70	(1,65-5,35)	3,70	(3,15-4,50)
WILCOXON (p)		0,17		0,06		0,84		0,58	
PCR- FISTULA- POS HD	24	1,70	(0,78-7,50)	3,75	(0,80-6,58)	3,60	(0,83-7,20)	3,95	(0,90-6,78)
PCR- CATETER-POS HD	5	5,40	(3,40-6,85)	10,20	(5,80-20,75)	3,70	(2,10-5,45)	4,60	(4,00-5,40)
WILCOXON (p)		0,18		0,06		0,93		0,45	
IL 6- FISTULA- PRE HD	24	4,61	(1,95-9,40)	3,85	(1,43-10,92)	4,79	(1,94-11,21)	4,88	(2,51-11,93)
IL 6- CATETER-PRE HD	5	6,35	(5,38-11,50)	8,34	(4,78-31,65)	4,95	(2,96-8,27)	6,62	(5,88-19,31)
WILCOXON (p)		0,18		0,06		0,95		0,25	
ALBUMINA- FAV- PRE HD	24	4,20	(4,03-4,50)	4,30	(4,00-4,40)	4,20	(4,03-4,50)	4,10	(4,00-4,38)
ALBUMINA-CATETER-PRE HD	5	4,10	(3,45-4,35)	4,00	(3,50-4,10)	4,00	(3,80-4,25)	3,90	(3,40-4,10)
WILCOXON (p)		0,22		0,06		0,10		0,04	

NOTAS: TBARS: teste das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico, SOD: superóxido dismutase, GSH: glutatona total, PCR: proteína C reativa ultrassensível, IL6: Interleucina 6; CATÉTER: catéter de longa permanência, FÍSTULA: fístula arteriovenosa, PRÉ-HD: início de sessão de HD, PÓS-HD: final da sessão de HD.

Os resultados analisados de acordo com o grupamento dos pacientes diabéticos (N=5) demonstraram maiores valores de TBARS em relação aos pacientes não diabéticos (N=24; Tabela 9). No período 1, houve queda dos valores de TBARS ao final da sessão de hemodiálise (9,55 vs 5,19; $p<0,05$). Estes pacientes quando submetidos ao uso único de dialisadores (período 2) apresentaram aumento de TBARS, sem queda ao final da sessão de HD (11,50 vs 11,23, $p=0,08$). Nos períodos 3 e 4, quando retornaram a reutilizar os dialisadores, os menores valores de TBARS ao final da sessão de HD não atingiram níveis significativos (15,54 vs 7,34; $p=0,35$ e 10,11 vs 6,36; $p=0,50$).

Com relação às enzimas antioxidantes SOD e GSH total nos pacientes diabéticos, estes não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre o início e final da sessão de HD, e entre os períodos analisados.

Os pacientes não diabéticos (não DM) apresentaram menores valores de TBARS nos diversos períodos quando comparados aos pacientes diabéticos; com aumento destes valores no período 2 e redução ao final da sessão de hemodiálise, de forma estatisticamente significativa (6,54 vs 6,79, $p=0,15$ e 9,53 vs 5,79, $p<0,05$). Nos períodos 3 e 4, quando voltaram a reutilizar o dialisador, houve queda dos valores de TBARS (7,70 vs 4,93, $p<0,05$ e 5,0 vs 4,93, $p=0,73$).

Os pacientes não diabéticos apresentaram aumento de enzima antioxidante SOD ao final da sessão de HD, nos períodos 1, 2 e 4. (Tabela 9). O GSH não apresentou alteração estatisticamente significativa nos diversos períodos.

O PCR u apresentou aumento estatisticamente significativo ao final da sessão de HD nos períodos 1, 2, 3 e 4 nos pacientes não diabéticos; e a IL6 não apresentou diferença estatisticamente significante entre os pacientes diabéticos e não diabéticos.

Tabela 12 - Análise estatística dos marcadores de Estresse Oxidativo e inflamatórios nos pacientes diabéticos e não diabéticos.

DIABÉTICOS X NÃO DIABÉTICOS		MEDIANA (PERCENTIS 25, 75)							
	N	PERÍODO 1		PERÍODO 2		PERÍODO 3		PERÍODO 4	
TBARS- PRE HD-Diabético	5	9,55	(5,47-11,19)	11,50	(9,47-14,40)	15,54	(3,05-26,05)	10,11	(5,46-14,21)
TBARS- POS HD-Diabético	5	5,19	(3,80-5,91)	11,23	(6,51-12,54)	7,34	(2,72-16,91)	6,36	(3,38-24,85)
WILCOXON (p)		p<0.05		,08		,35		,50	
TBARS- PRE HD-não DM	24	6,54	(2,12- 12,14)	9,53	(6,91- 13,06)	7,70	(5,44- 13,37)	5,00	(2,25- 10,05)
TBARS- POS HD-não DM	24	6,79	(2,57- 12,88)	5,79	(4,18- 7,29)	4,74	(3,31- 9,17)	4,93	(1,85- 7,57)
WILCOXON (p)		,15		p<0.05		p<0.05		,73	
SOD- PRE HD-Diabético	5	1,68	(1,63-1,76)	1,69	(1,55-1,76)	1,66	(1,64-1,79)	1,67	(1,55-1,71)
SOD-POS HD-Diabético	5	1,58	(1,51-1,87)	1,77	(1,59-1,96)	1,60	(1,56-1,72)	1,62	(1,52-1,73)
WILCOXON (p)		,72		,07		,35		,89	
SOD- PRE HD-não DM	24	1,72	(1,66- 1,79)	1,75	(1,69- 1,78)	1,73	(1,69- 1,80)	1,73	(1,64- 1,76)
SOD-POS HD-não DM	24	1,77	(1,69- 1,82)	1,78	(1,71- 1,86)	1,76	(1,68- 1,85)	1,77	(1,70- 1,82)
WILCOXON (p)		p<0.05		p<0.05		,253		p<0.05	
GSH- PRE HD-Diabético	5	1,74	(0,41-3,29)	1,72	(0,96-2,44)	1,98	(1,48-2,50)	0,71	(0,50-3,78)
GSH-POS HD-Diabético	5	1,29	(0,44-3,10)	2,21	(0,11-3,85)	1,62	(1,12- 3,08)	1,81	(0,63-2,58)
WILCOXON (p)		,69		,69		,50		,69	
GSH- PRE HD-não DM	24	2,63	(1,47- 4,28)	2,44	(1,83- 4,04)	3,14	(1,33- 4,68)	3,14	(1,80- 4,63)
GSH- POS HD-não DM	24	2,47	(1,39- 4,24)	2,34	(1,64- 3,94)	3,43	(1,49- 4,67)	2,83	(1,73- 4,72)
WILCOXON (p)		,74		,68		,34		,88	
PCR- PRE HD-Diabético	5	1,20	(0,80-2,85)	3,40	(0,75-12,30)	1,20	(0,80-3,95)	3,30	(0,85-3,85)
PCR- POS HD-Diabético	5	1,20	(0,90-3,00)	4,10	(0,90-13,00)	1,40	(0,90-4,40)	3,80	(0,90-4,20)
WILCOXON (p)		,13		,11		,06		,07	
PCR- PRE HD-não DM	24	3,55	(1,10- 7,05)	4,10	(0,63- 9,13)	3,75	(0,95- 6,63)	3,65	(1,18- 5,55)
PCR- POS HD-não DM	24	4,25	(1,08- 7,83)	4,95	(0,90- 9,98)	3,95	(1,03- 7,23)	4,40	(1,33- 6,78)
WILCOXON (p)		p<0.05		p<0.05		p<0.05		p<0.05	
IL 6- PRE HD-Diabético	5	4,18	(1,02-8,43)	6,35	(0,45-12,36)	4,95	(0,66-9,75)	6,05	(1,02-13,08)
IL 6- PRE HD-não DM	24	6,76	(2,27- 10,53)	5,26	(2,05-11,11)	4,43	(2,44-11,05)	5,80	(2,90-11,93)
WILCOXON (p)		,73		,69		,68		,88	

NOTAS: TBARS: teste das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico, SOD: superóxido dismutase, GSH: glutatona total, PCR: proteína C reativa ultrasensível, IL6: Interleucina 6, PRÉ-HD: início de sessão de HD, PÓS-HD: final da sessão de HD.

Com relação à análise estatística entre os grupos de pacientes a seguir, denominamos Hipertensos aqueles que possuíam este diagnóstico (N=24), e estavam em uso de anti-hipertensivos, independentemente de apresentarem controle adequado ou não da pressão arterial. O grupo não Hipertensos (N=5) refere-se aos pacientes que não possuíam este diagnóstico, e, portanto, não faziam uso de anti-hipertensivos.

Os maiores valores de TBARS foram encontrados nos pacientes não hipertensos, e eles não apresentaram queda significativa ao final da sessão de HD. As enzimas antioxidantes SOD e GSH total, neste grupo de pacientes, não variaram entre os períodos estudados, e em relação ao início

e final das sessões de HD. O PCR u, porém, apresentou elevação em relação ao final das sessões de HD em todos os períodos (Tabela 10).

Os pacientes hipertensos apresentaram aumento dos valores de TBARS no período 2, e queda progressiva nos demais períodos, com redução estatisticamente significativa ao final das sessões nos períodos 2 e 3 (6,42 vs 5,27, $p=0,09$ no período 1; 9,53 vs 6,31, $p<0,05$ no período 2; 7,59 vs 4,74, $p<0,05$ no período 3 e 6,20 vs 4,93, $p=0,89$ no período 4). As enzimas antioxidantes SOD e GSH não apresentaram alterações estatisticamente significativas nos diversos períodos entre os pacientes hipertensos e não hipertensos.

Tabela 13 - Análise estatística dos marcadores de estresse oxidativo e inflamatórios nos pacientes hipertensos e não hipertensos.

HIPERTENSOS X NÃO HIPERTENSOS		MEDIANA (PERCENTIS 25, 75)							
	N	PERÍODO 1		PERÍODO 2		PERÍODO 3		PERÍODO 4	
TBARS- PRE HD-Hipertenso	24	6,42	(2,97- 11,21)	9,53	(8,15-13,06)	7,59	(4,75-14,54)	6,20	(2,62- 12,32)
TBARS- POS HD-Hipertenso	24	5,27	(2,97-8,96)	6,31	(4,43-10,26)	4,74	(3,20-9,17)	4,93	(2,12-7,57)
WILCOXON (p)		,09		$p<0,05$		$p<0,05$		,89	
TBARS- PRE HD-não HAS	5	16,02	(6,25-24,85)	11,00	(8,49-18,62)	11,22	(7,56-14,13)	8,06	(3,45-10,76)
TBARS- POS HD-não HAS	5	12,53	(3,74-16,18)	5,69	(3,06-11,61)	7,14	(1,67-15,90)	7,40	(2,63-11,96)
WILCOXON (p)		,22		,14		,22		,89	
SOD- PRE HD-Hipertenso	24	1,73	(1,66-1,79)	1,75	(1,64-1,77)	1,72	(1,66-1,80)	1,71	(1,60-1,76)
SOD- POS HD-Hipertenso	24	1,76	(1,68-1,84)	1,77	(1,71-1,93)	1,76	(1,61-1,85)	1,72	(1,64-1,80)
WILCOXON (p)		,31		,06		,23		,17	
SOD- PRE HD-não HAS	5	1,69	(1,59-1,74)	1,75	(1,73-1,87)	1,72	(1,71-1,87)	1,71	(1,66-1,75)
SOD- POS HD-não HAS	5	1,77	(1,59-1,79)	1,79	(1,69-1,88)	1,71	(1,65-1,77)	1,76	(1,70-1,86)
WILCOXON (p)		,35		1,00		,08		,14	
GSH- PRE HD-Hipertenso	24	2,59	(1,23-4,28)	2,35	(1,57-3,39)	2,68	(1,33-4,52)	2,73	(0,96-4,36)
GSH- POS HD-Hipertenso	24	2,47	(1,02-4,08)	2,27	(1,33-3,94)	2,87	(1,36-4,32)	2,14	(1,52-3,34)
WILCOXON (p)		,85		,99		,52		,90	
GSH- PRE HD-não HAS	5	2,05	(1,63-2,05)	2,18	(1,73-4,27)	1,98	(1,52-4,16)	2,77	(1,73-6,60)
GSH- POS HD-não HAS	5	1,78	(1,34-3,48)	2,34	(1,90-3,38)	2,66	(1,23-5,25)	3,37	(1,64-6,09)
WILCOXON (p)		,89		,69		,69		,50	
PCR- PRE HD-Hipertenso	24	1,75	(1,10-6,15)	3,75	(0,70-9,13)	3,60	(1,03-6,23)	3,50	(1,18-5,30)
PCR- POS HD-Hipertenso	24	2,10	(1,05-7,23)	4,55	(1,05-9,98)	3,80	(1,10-6,75)	4,10	(1,33-6,33)
WILCOXON (p)		,10		,11		,11		,14	
PCR- PRE HD-não HAS	5	3,70	(0,80-8,05)	2,60	(0,45-18,05)	2,20	(0,55-8,15)	3,60	(0,45-11,15)
PCR- POS HD-não HAS	5	4,20	(0,85-8,30)	3,30	(0,45-18,90)	3,00	(0,55-8,90)	4,60	(0,40-14,35)
WILCOXON (p)		$p<0,05$		$p<0,05$		$p<0,05$		$p<0,05$	
IL 6- PRE HD-Hipertenso	24	8,21	(2,56-11,97)	6,34	(1,84-11,21)	5,16	(2,09-10,61)	5,97	(2,56- 11,93)
IL 6- PRE HD-não HAS	5	5,86	(1,95-9,26)	4,18	(1,70-23,51)	2,79	(1,95-13,66)	4,93	(2,98-15,11)
WILCOXON (p)		0,18		0,18		0,18		0,25	

NOTAS: TBARS: teste das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico, SOD: superóxido dismutase, GSH: glutatona total, PCR: proteína C reativa ultrassensível, IL6: Interleucina 6, PRÉ-HD: início de sessão de HD, PÓS-HD: final da sessão de HD.

6 DISCUSSÃO

6.1 Indicadores de peroxidação lipídica e marcadores inflamatórios

O estresse oxidativo, representado pelo desbalanço entre produção de espécies reativas de oxigênio e redução na defesa antioxidante com consequente dano celular, encontra-se presente na população com doença renal crônica não dialítica e é representada tanto pela peroxidação lipídica quanto proteica. O procedimento de hemodiálise exacerba este processo^{70,95,136,137}.

Em nosso estudo, encontramos valores aumentados de TBAR nos pacientes em hemodiálise, o que está de acordo com a literatura. Quando comparamos pacientes renais crônicos em HD àqueles em Diálise Peritoneal, os maiores valores de TBARS são encontrados no primeiro tratamento (HD>DP>saudáveis)^{69,138}.

O estresse oxidativo e inflamação induzidos em uma sessão de hemodiálise foi demonstrado em algumas pesquisas por meio aumento de peroxidação lipídica e proteica, bem como pelo aumento de marcadores inflamatórios, como PCR, IL 1, IL6, TNF alfa ao final da sessão de HD^{59,90,139,140}. Em nosso estudo, houve aumento de PCR ao final da sessão de HD (não dosamos IL6 pós-HD).

Apesar disto, houve queda pós-diálise dos valores de TBARS, com permanência acima dos valores normais, demonstrando clearance deste marcador, porém com manutenção de estresse oxidativo. Uma investigação realizada com sete pacientes em Hemodiálise avaliou os níveis de MDA no início, meio e ao final da sessão de HD, e verificou redução progressiva por perda na solução de diálise, sendo o clearance de MDA de 16.9 ± 3.1 mL/min ou cerca de 25% durante as sessões de HD⁶⁰.

Quando os pacientes passaram ao uso único de dialisadores, houve aumento do TBARS, e tal resultado nos alerta para maior estresse oxidativo com esta prática.

Os fatores envolvidos no estímulo inflamatório e de estresse oxidativo durante HD seriam a interação entre o sangue e a membrana do dialisador, que poderia levar à ativação de componentes do sistema complemento, como C3a e C5a, liberação de TNF alfa, os quais estimulam neutrófilos. A ativação do complemento parece ser o estímulo para produção de espécies reativas de oxigênio via sistema NADPH oxidase, durante a hemodiálise, além do estímulo da enzima Mieloperoxidase com geração de superóxido; e a prática de reúso parece contribuir com menor ativação deste sistema. Um estudo realizado com pacientes em Hemodiálise que estavam em uso único de dialisadores e nunca tinham realizado HD com reúso de dialisadores e passaram a fazê-lo por um período de quatro meses, demonstrou redução do MDA plasmático e eritrocitário, acompanhado por aumento da atividade de enzimas antioxidantes, como SOD e Glutathione peroxidase¹⁴¹. O reúso parece promover menor ativação de neutrófilos, bem como liberação de constituintes do sistema complemento devido à adsorção de proteínas plasmáticas, como o fibrinogênio, à superfície da membrana do dialisador, funcionando como uma barreira que reduz o contato entre o sangue e o dialisador, e melhora a biocompatibilidade nos próximos usos.

Nos pacientes diabéticos, verificamos maiores valores de TBARS pré-HD com menor clearance pós-HD; não houve aumento da enzima antioxidante SOD como ocorreu com os pacientes não diabéticos nos períodos 1, 2 e 3. Isto pode demonstrar maior estresse oxidativo nestes pacientes e menor capacidade de resposta antioxidante⁴⁹. Oberg e cols.⁷⁶ encontraram maior estresse oxidativo em pacientes diabéticos, porém outro estudo não conseguiu detectar diferença entre os marcadores de peroxidação lipídica e marcadores inflamatórios em pacientes diabéticos ou não⁶⁵.

Alguns estudos relacionam o estresse oxidativo à hipertensão na doença renal crônica, com maior atividade de NADPH oxidase produzindo

superóxido (ROS) e menor atividade de superóxido dismutase responsável pela quebra do superóxido, além de inativação do óxido nítrico por ROS com aumento compensatório da eNOS resultando em HAS. A administração de tempol, uma substância com ação SOD-mimética, resultou em queda da PA e aumento da excreção urinária de NO^{99,142}. Em nossa pesquisa, não encontramos correlação positiva entre HAS e TBARS, bem como não houve diferença entre os níveis de SOD e GSH. O PCR teve os menores valores em hipertensos, com maior aumento ao final da sessão de HD nos pacientes não hipertensos. Dos 24 pacientes com diagnóstico de HAS, 20 utilizavam enalapril ou losartan entre os anti-hipertensivos, e 5 pacientes fizeram uso de sinvastatina durante a investigação. No grupo de não hipertensos, dois pacientes utilizaram sinvastatina. Oberg e cols.⁷⁶ analisaram marcadores inflamatórios e OS em DRC com ou sem doença cardiovascular manifesta, e encontrou menores valores de PCR naqueles que utilizavam IECA e menores níveis de IL6 com uso de estatinas.

Apesar de muitas vezes não atingirmos resultados estatisticamente significativos, os pacientes em uso de catéteres de longa permanência claramente apresentaram maiores valores de TBARS, PCR e IL6. Durante o uso único de dialisadores, as alterações tornaram-se mais evidentes. Não encontramos muitos estudos comparando os tipos de acesso vascular para hemodiálise, e sua contribuição no estresse oxidativo e inflamação. Uma pesquisa descreveu maior estresse oxidativo relacionado ao catéter de hemodiálise, e avaliou a redução de OS com membrana ligada à vitamina E nestes pacientes¹⁴³, e outro não encontrou diferença significativa no PCR, IL6 ou albumina entre os pacientes com FAV ou em uso de catéter tunelizado para hemodiálise⁶⁶.

O envelhecimento está relacionado ao processo oxidativo, com menores defesas antioxidantes descritas neste processo, resultando em estresse oxidativo⁴⁹. Em nossos resultados, notamos que o grupo de pacientes acima de 40 anos apresentaram maiores níveis de TBARS pós-HD, e maiores níveis de IL6 quando comparados aos pacientes com < 40 anos.

Além do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, que parece ser o principal mecanismo envolvido no estresse oxidativo dos pacientes em hemodiálise, podemos ter uma associação com piora das defesas antioxidantes. Superóxido dismutase, o sistema glutathiona ou catalase são os principais mecanismos de defesa contra danos provocados por espécies reativas. Em nosso estudo, não encontramos níveis reduzidos de SOD e Glutathiona. Nos pacientes em hemodiálise, encontramos relatos variáveis, com níveis normais ou reduzidos destas enzimas, muitas vezes, relacionados a deficiências de Cobre, Zinco, Manganês e Selenio nestes pacientes⁹⁵⁻⁹⁹.

6.2 Albumina

A hipoalbuminemia é um forte preditor de mortalidade nos pacientes em hemodiálise¹⁴⁴, e relaciona-se à desnutrição e inflamação¹⁴⁵, com uma pesquisa relatando maior peroxidação lipídica em membrana eritrocitária de pacientes com hipoalbuminemia quando comparados a pacientes com albumina normal^{146,147}.

A albumina parece ter um importante papel no processo oxidativo presente em pacientes em hemodiálise, com investigação de Himmelfarb⁵³ mostrando que a albumina pode ser o maior alvo quando temos formação de carbonilas, e outro demonstrando uma correlação negativa entre marcador de peroxidação lipídica (MDA) e albumina⁶⁹.

Em nossos resultados, a variação nos valores de albumina sérica entre os períodos do estudo não atingiu diferença estatisticamente significativa, e o tamanho amostral talvez tenha interferido neste achado ($p=0,06$). Quando analisamos os resultados de acordo com sexo ou de acordo com categorização de idade (<40 anos x >40 anos), notamos que não houve diferença significativa entre os períodos de reuso e uso único de dialisadores. Encontramos maiores valores de albumina entre os pacientes com FAV em relação aos pacientes em uso de catéter de longa

permanência. No período de uso único de dialisadores, os pacientes em uso de catéter tiveram menores valores de albumina sérica quando comparados aos pacientes com fístula ($4,30 \times 4,00$; $p=0,05$). Talvez a concordância entre os efeitos de uso único de dialisadores e utilização de catéter levando a maior estresse oxidativo neste período sejam responsáveis pelos menores valores de albumina encontrados.

Nos períodos com reuso de dialisadores, não houve diferença significativa entre os pacientes com FAV e catéter, a não ser quando esses utilizaram N-acetilcisteína. Não conseguimos avaliar o efeito deste antioxidante na redução do estresse oxidativo, uma vez que não consideramos a relação albumina/albumina oxidada. Porém, nossos resultados estão de acordo com o da literatura no que diz respeito aos menores valores de albumina que foram encontrados nos pacientes em uso de catéter, como acesso para hemodiálise; e outra possível explicação seria a relação com maiores níveis de IL6 e a inibição da síntese de albumina pelo fígado.

Leavey e cols.¹⁴⁸ estudaram os fatores que interferiram com os níveis de albumina sérica de pacientes em HD durante seguimento de 1 ano. Encontrou uma redução de 0,02g/dL na albumina de base para cada acréscimo 10 anos de idade ($P=0,0001$); entre diabéticos e não diabéticos havia uma redução de 0,09 g/dL na albumina de base ($P=0,0001$), mas sem diferença no seguimento posterior ($P=0,51$). Fumantes tinham redução de 0,05 g/dL na albumina de base ($P=0,01$). A albumina sérica foi significativamente maior para os pacientes com fístula arteriovenosa, em comparação com outros tipos de acesso vascular (catéter permanente ou temporário), foi menor 0,04 g/dL com menor dose de diálise (avaliado pelo KT/V). A albumina foi 0,06 g/dL maior nos pacientes que reusavam os dialisadores, e a diálise com membrana de celulose não modificada (menos biocompatível) foi associada a menores valores de albumina quando comparado às demais membranas. A acidose metabólica crônica aumenta o catabolismo proteico e a oxidação de aminoácidos, reduzindo a síntese de

albumina em modelos experimentais e em pacientes com doença renal crônica, porém, neste estudo, não atingiu significância estatística.

Kaysen e cols.¹⁴⁵ procuraram avaliar os mecanismos que regulam a concentração de albumina e a relação com os marcadores nutricionais e de inflamação em 64 pacientes em hemodiálise por meio de medidas de distribuição e da taxa de *turnover* de albumina. A albumina foi marcada com iodo radioativo e calculados a massa total e o volume de distribuição, além da taxa catabólica fracional (percentual do *pool* de albumina removido por dia). Os pacientes eram anúricos e a perda de albumina pelo dialisador foi maior com CT190 quando comparado ao F80B; aumentou com número maior de reuso que utilizava hipoclorito; porém não teve papel significativo na concentração final de albumina destes pacientes. Esta perda de albumina com maior número de reuso provavelmente relaciona-se ao dano à membrana provocado pela utilização de hipoclorito por meio de aumento do tamanho dos poros. Em nossa rotina, não utilizamos hipoclorito como agente de limpeza dos dialisadores.

Outra pesquisa que avaliou a perda de albumina com polissulfona de alto fluxo demonstrou que o fenômeno ocorreu a partir do sexto reuso, e a quantidade foi de $0,98 \pm 0,91$ gramas/sessão de HD (com reuso abaixo de 10) aumentando para $1,94 \pm 1,54$ gramas/sessão de HD (com reuso entre 10 e 14), porém não justificando a menor concentração sérica de albumina¹⁴⁹.

A albumina possui pequena variação em estudos longitudinais e uma pesquisa sugere a utilização de proteínas de fase aguda, como o PCR para detecção de eventos agudos de curta duração¹³⁶. Em nossos resultados, notamos maiores valores de PCR no período de uso único de dialisadores em pacientes em uso de catéteres, com nível de significância marginal ($p=0.06$), porém acompanhando os menores valores de albumina sérica, apesar de não chegarmos à hipoalbuminemia. Nesta avaliação, talvez, o período de apenas 6 semanas em uso único de dialisadores tenha sido um fator limitante.

6.3 Antioxidante NAC

Em nossa investigação, utilizamos NAC associado ao reúso, com queda estatisticamente significativa do TBARS, sem alteração de SOD ou GSH estatisticamente significativa, além de uma tendência a maiores valores de IL6 neste período, o que contraria dados da literatura^{123,124}. Desta forma, não podemos concluir que esta redução no TBARS seja consequência do uso do antioxidante, podendo refletir tão somente maior tempo dos pacientes em reúso de dialisadores. Nossa pesquisa possui críticas em relação à avaliação do antioxidante e estas serão descritas no próximo item.

De fato, objetivamos sempre uma prescrição de hemodiálise que ofereça dose adequada do tratamento ao paciente, e controle da anemia, da hipertensão ou de diabetes, de alterações minerais e ósseas, enfim todas as medidas buscando sempre a redução na mortalidade desta população. Talvez a busca por um conjunto de práticas que reduzam o maior estresse oxidativo e inflamação associados ao tratamento, assim como a avaliação de marcadores deste processo, possa contribuir com resultados positivos na redução de eventos cardiovasculares ou mortalidade geral. Estudos maiores com este fim são ainda necessários.

7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Não foi possível a realização de estudo autocontrolado, duplamente cruzado, que contaria com dois períodos de uso único de capilares, devido à elevação de custos, o que tornaria um fator limitante à realização desse. Certamente, seria ideal aumentar o poder da pesquisa, uma vez que trabalha com os grupos sofrendo as mesmas variações durante o transcorrer do trabalho, e minimizando, desta forma, a influência de fatores externos nos resultados obtidos. Porém, uma vez optado pela realização de estudo autocontrolado, cruzado, julgamos necessário o monitoramento de fatores externos com potencial interferência em nossos resultados, no transcorrer da investigação, como: parâmetros de qualidade do tratamento de água, além de alterações clínicas nos pacientes, como infecções, internações e mudanças de acesso vascular.

Na última fase da pesquisa, na qual os pacientes fizeram uso de N-acetilcisteína, o controle de utilização da medicação mostrou-se ineficaz, uma vez que não conseguimos realizar a contagem dos envelopes por todo o período. Semanalmente, distribuimos a medicação com inquérito sobre a utilização desse, sem recusa por nenhum paciente ou informação de interrupção no transcorrer deste trabalho de investigação.

Além disto, o desenho do estudo não contou com período de uso único de dialisadores com N-acetilcisteína, uma vez que esperávamos resultados inferiores relacionados à prática de reúso e à exposição crônica de germicidas.

8 CONCLUSÕES

8 CONCLUSÕES

Pela análise dos resultados apresentados, podemos concluir que:

A prática de reúso de dialisadores apresentou melhores resultados, quando comparado ao uso único, sob o ponto de vista de estresse oxidativo e inflamação. O uso único de dialisadores associado ao uso de catéteres de longa permanência associou-se à maior inflamação (PCR e IL6) e estresse oxidativo (TBARS).

Não obtivemos benefício adicional com a utilização de N-acetilcisteína durante o período de reúso de dialisadores.

9 ANEXO

ANEXO A - RESOLUÇÃO-RDC Nº 154, DE 15 DE JUNHO DE 2004

Anexo 1: Legislação Brasileira: A RESOLUÇÃO-RDC Nº 154, De 15 De junho de 2004, estabelece o regulamento técnico para o funcionamento dos serviços de diálise, e regulamenta que a água tratada para diálise, utilizada na preparação da solução para diálise, deve ser processada de modo que não apresente contagem de Coliformes totais em 100 mL; para contagem de bactérias heterotróficas o valor máximo permitido é 200 UFC/mL e concentração de Endotoxinas bacterianas o limite é de 2 EU/mL. Para a solução de diálise, o valor máximo permitido para contagem de bactérias é 2000 UFC/mL. Não são exigidos pela legislação a contagem de coliformes totais e detecção de endotoxina bacteriana. O nível de ação relacionado à contagem de bactérias heterotróficas é de 50 UFC/ml. Deve-se verificar a qualidade bacteriológica da água tratada para diálise mensalmente, ou toda vez que ocorrer manifestações pirogênicas ou suspeitas de septicemia nos pacientes. (Quadro 2)

Para a água potável, os limites foram os estabelecidos pela Portaria nº 518, de 25 de março de 2004, que estabelece os controles e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. A contagem de bactérias heterotróficas deve ser inferior a 500 UFC/mL e haver ausência de *Escherichia coli* ou Coliformes termotolerantes. Reúso em

diálise é a utilização, para o mesmo paciente, do dialisador e linhas arteriais e venosas, por mais de uma vez, após os respectivos reprocessamentos, sendo que o reprocessamento em diálise é conjunto de procedimentos de limpeza, desinfecção, verificação da integridade e medição do volume interno das fibras, e do armazenamento dos dialisadores, e das linhas arteriais e venosas. Para a utilização do dialisador, é necessário, após cada sessão de hemodiálise, realizar o “*Priming*”, que é a determinação do volume interno das fibras do dialisador. Os dialisadores e as linhas arteriais e venosas podem ser utilizados para o mesmo paciente até 12 (doze) vezes, quando utilizado o reprocessamento manual, ou até 20 (vinte) vezes quando utilizado reprocessamento automático. Para fins de controle do reúso e descarte, dialisadores, e linhas arteriais e venosas devem ser tratados como um único conjunto. É obrigatória a medida do volume interno das fibras (*priming*) em todos os dialisadores antes do primeiro uso e após cada reúso subsequente, mantendo arquivados os registros dos dados referentes a todos os testes. Após a medida do volume interno das fibras, qualquer resultado indicando uma redução superior a 20% do volume inicial torna obrigatório o descarte do dialisador, independentemente do método empregado para o seu reprocessamento. No caso do reúso automatizado, a medida é fornecida pelo *display* da máquina. O conjunto do paciente (linhas e dialisador) reutilizável deve ser acondicionado separadamente em recipiente limpo, desinfetado, com identificação clara e precisa do nome do paciente, data da primeira utilização e grupo de reprocessamento.

Quadro 2 - Padrão de qualidade da água tratada utilizada na preparação de solução de diálise.

Componentes	Valor máximo permitido	Frequência de análise
Coliforme total	Ausência em 100 ml	Mensal
Contagem de bactérias Heterotróficas	200 UFC /ml*	Mensal
Endotoxinas	2 EU/ml**	Mensal
Nitrato (NO ₃)	2 mg/l	Semestral
Alumínio	0,01 mg/l	Semestral
Cloramina	0,1 mg/l	Semestral
Cloro	0,5 mg/l	Semestral
Cobre	0,1 mg/l	Semestral
Fluoreto	0,2 mg/l	Semestral
Sódio	70 mg/l	Semestral
Cálcio	2 mg/l	Semestral
Magnésio	4 mg/l	Semestral
Potássio	8 mg/l	Semestral
Bário	0,1mg/l	Semestral
Zinco	0,1mg/l	Semestral
Sulfato	100 mg/l	Semestral
Arsênico	0,005 mg/l	Semestral
Chumbo	0,005mg/l	Semestral
Prata	0,005mg/l	Semestral
Cádmio	0,001 mg/l	Semestral
Cromo	0,014 mg/l	Semestral
Selênio	0,09 mg/l	Semestral
Mercúrio	0,0002 mg/l	Semestral
Berílio	0,0004	Semestral
Tálio	0,002	Semestral
Antimônio	0,006 mg/l	Semestral

NOTAS: *UFC/ mL: Unidades Formadoras de Colônias por mL, **EU / mL: Unidades de Endotoxina por mL

10 REFERÊNCIAS

- 1 Twardiwsju ZJ. Dialyzer reuse - part I: historical perspective. *Semin Dial.* 2006;19(1):41-53.
- 2 Misra D, Leibowitz K, Gowda RM, Shapiro M, Khan IA. Role of N-acetylcysteine in prevention of contrast-induced nephropathy after cardiovascular procedures: a meta-analysis. *Clin Cardiol.* 2004;27(11):607-10.
- 3 Merrill JP, Thorn GJ, Walter CW, Callaham EJ III, Smith LH. The use of an artificial kidney. I. Technique. *J Clin Invest.* 1950;29(4):412-24.
- 4 Mion Jr D, Romão Jr JE, Eds. *História da nefrologia brasileira.* v. 1, primeira edição ed. 1996, p.196.
- 5 Kulatilake AE, Vickers J, Shackman R. Clinical evaluation of a disposable artificial kidney. *Br Med J.* 1969;3(5668):447-9.
- 6 Ward RA, Ronco C. Dialyzer and machine technologies: application of recent advances to clinical practice. *Blood Purif.* 2006;24(1):6-10.
- 7 Henrich WL. *Princípios e prática de diálise.* 4. edição. 2011. p.756.
- 8 Sesso RC, Lopes AA, Thomé FS, Lugon JR, Santos DR. 2010 report of the Brazilian dialysis census. *J Bras Nefrol.* 2011;33(4):442-7.
- 9 Sesso REC, Lopes AA, Thomé FS, Lugon JR, Watanabe Y, Santos DR. Chronic dialysis in Brazil: report of the Brazilian dialysis census, 2011. *J Bras Nefrol.* 2012;34(3):272-7.
- 10 Bell RP, Figueroa JE. Haemodialysis cost reduction by artificial kidney storage: a simple, effective technique for re-use of coil kidneys. *Br Med J.* 1970;1(5699):788-9.
- 11 Jones DM, Tobin BM, Harlow GR, Ralston AJ. Bacteriological studies of the modified Kiil dialyser. *Br Med J.* 1970;3(5715):135-7.
- 12 Down PF, Farrand DE, Wood SE, Lee HA. Comparison of coil and kiil dialysers. *Br Med J.* 1970;4(5734):517-521.
- 13 Lacson E, Lazarus JM. Dialyzer best practice: single use or reuse? *Semin Dial.* 2006;19(2):120-8.

- 14 Klinkmann H, Grassmann A, Vienken J. Dilemma of membrane biocompatibility and reuse. *Artif Organs*. 1996;20(5):426-32.
- 15 Chenoweth DE, Cheung AK, Ward DM, Henderson LW. Anaphylatoxin formation during hemodialysis: comparison of new and re-used dialyzers. *Kidney Int*. 1983;24(6):770-4.
- 16 Weshuyzen J, Foreman K, Battistutta D, Saltissi D, Fleming SJ. Effect of dialyzer reprocessing with renalin on serum beta-2-microglobulin and complement activation in hemodialysis patients. *Am J Nephrol*. 1992;12(1-2):29-36.
- 17 Bommer J, Wilhelms OH, Barth HP, Schindele H, Ritz E. Anaphylactoid reactions in dialysis patients: role of ethylene-oxide. *Lancet*. 1985;2(8469-70):1382-5.
- 18 Bommer J, Ritz E. Ethylene oxide (ETO) as a major cause of anaphylactoid reactions in dialysis (a review). *Artif Organs*. 1987;11(2):111-7.
- 19 Pearson F, Bruszer G, Lee W, Sagona M, Sargent H, Woods E, Dolovich J, Caruana R. Ethylene oxide sensitivity in hemodialysis patients. *Artif Organs*. 1987;11(2):100-3.
- 20 Cavaillon JM, Poignet JL, Fitting C, Delons S, David B. Reduction of allergic reactions in patients undergoing long-term hemodialysis. *J Allergy Clin Immunol*. 1993;92(2):355-7.
- 21 Banche G, Allizond V, Giacchino F, Mandras N, Roana J, Bonello F, Belardi P, Tullio V, Merlino C, Carlone N, Cuffini AM. Effect of dialysis membrane biocompatibility on polymorphonuclear granulocyte activity in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21(12):3532-8.
- 22 Agodoa LY, Wolfe RA, Port FK. Reuse of dialyzers and clinical outcomes: fact or fiction. *Am J Kidney Dis*. 1998;32(6 Suppl 4):S88-92.
- 23 Twardowski ZJ. Dialyzer reuse--part II: advantages and disadvantages. *Semin Dial*. 2006;19(3):217-26.
- 24 Upadhyay A, Sosa MA, Jaber BL. Single-use versus reusable dialyzers: the known unknowns. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2007;2(5):1079-86.
- 25 Pegues D, Oettinger CW, Bland LA, Oliver JC, Arduino MJ, Aguero SM, McAllister SK, Gordon SM, Favero MS, Jarvis WR. A prospective study of pyrogenic reactions in hemodialysis patients using bicarbonate dialysis fluids filtered to remove bacteria and endotoxin. *J Am Soc Nephrol*. 1992;3(4):1002-7.

- 26 Maidment HJ, Petersen J. The dialysis prescription: reuse. *Am J Nephrol*. 1996;16(1):52-9.
- 27 Klein E. Effects of disinfectants in renal dialysis patients. environmental health perspectives. *Environ Health Perspect*. 1986;69:45-47.
- 28 Scott MK, Mueller BA, Sowinski KM. The effects of peracetic acid-hydrogen peroxide reprocessing on dialyzer solute and water permeability. *Pharmacotherapy*. 1999;19(9):1042-9.
- 29 Leyboldt JK, Cheung AK, Deeter RB. Effect of hemodialyzer reuse: dissociation between clearances of small and large solutes. *Am J Kidney Dis*. 1998;32(2):295-301.
- 30 Matos JP, André MB, Rembold SM, Caldeira FE, Lugon JR. Effects of dialyzer reuse on the permeability of low-flux membranes. *Am J Kidney Dis*. 2000;35(5):839-44.
- 31 Wolff SH, Zydney AL. Effect of peracetic acid reprocessing on the transport characteristics of polysulfone hemodialyzers. *Artif Organs*. 2005;29(2):166-73.
- 32 Scott MK, Mueller BA, Sowinski KM, Clark WR. Dialyzer-dependent changes in solute and water permeability with bleach reprocessing. *Am J Kidney Dis*. 1999;33(1):87-96.
- 33 Murthy BV, Sundaram S, Jaber BL, Perrella C, Meyer KB, Pereira BJ. Effect of formaldehyde/bleach reprocessing on in vivo performances of high-efficiency cellulose and high-flux polysulfone dialyzers. *J Am Soc Nephrol*. 1998;9(3):464-72.
- 34 National Kidney Foundation report on dialyzer reuse. Task force on reuse of dialyzers, council on dialysis, National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis*. 1997;30(6):859-71.
- 35 Araújo M, Ninomiya LH, Abensur, Noronha IL, Romão Jr JE. Impacto do reúso sobre a adequação da hemodiálise analisada pelo Kt/V. *J Bras Nefrol*. 1998;20:400-5.
- 36 Castro M, Silva CF, Xagoraris M, Centeno JR, Souza JAC. Evaluation of the performance of hollow-fiber hemodialyzers with a polyethersulfone membrane in multiple use conditions. *J Bras Nefrol*. 2008;30(2):144-50.
- 37 Bond TC, Nissenson AR, Krishnan M, Wilson SM, Mayne T. Dialyzer reuse with peracetic acid does not impact patient mortality. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(6):1368-74

- 38 Galvão TF, Silva MT, Araujo ME, Bulbol WS, Cardoso AL. Dialyzer reuse and mortality risk in patients with end-stage renal disease: a systematic review. *Am J Nephrol*. 2012;35(3):249-58. ISSN 1421-9670.
- 39 Feldman HI, Bilker WB, Hackett MH, Simmons CW, Holmes JH, Pauly MV, Escarce JJ. Association of dialyzer reuse with hospitalization and survival rates among U.S. hemodialysis patients: do comorbidities matter? *J Clin Epidemiol*. 1999;52(3):209-17.
- 40 Wing AJ, Brunner FP, Brynger HO, Chantler C, Donckerwolcke RA, Gurland HJ, Jacobs C, Selwood NH. Mortality and morbidity of reusing dialysers. A report by the registration committee of the European Dialysis and Transplant Association. *Br Med J*. 1978;2(6141):853-5.
- 41 Collins AJ, Ma JZ, Constantini EG, Everson SE. Dialysis unit and patient characteristics associated with reuse practices and mortality: 1989-1993. *J Am Soc Nephrol*. 1998;9(11):2108-17.
- 42 Held PJ, Wolfe RA, Gaylin DS, Port FK, Levin NW, Turenne MN. Analysis of the association of dialyzer reuse practices and patient outcomes. *Am J Kidney Dis*. 1994;23(5):692-708.
- 43 Port FK, Wolfe RA, Hulbert-Shearon TE, Daugirdas JT, Agodoa LY, Jones C, Orzol SM, Held PJ. Mortality risk by hemodialyzer reuse practice and dialyzer membrane characteristics: results from the usrds dialysis morbidity and mortality study. *Am J Kidney Dis*. 2001;37(2):276-86.
- 44 Goodkin DA, Bragg-Gresham JL, Koenig KG, Wolfe RA, Akiba T, Andreucci VE, Saito A, Rayner HC, Kurokawa K, Port FK, Held PJ, Young EW. Association of comorbid conditions and mortality in hemodialysis patients in Europe, Japan, and the United States: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *J Am Soc Nephrol*. 2003;14(12):3270-7.
- 45 Hull AR. Predictors of the excessive mortality rates of dialysis patients in the United States. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 1994;3(3):286-91.
- 46 Brown JH, Hunt LP, Vites NP, Short CD, Gokal R, Mallick NP. Comparative mortality from cardiovascular disease in patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 1994;9(8):1136-42.
- 47 Annuk M, Zilmer M, Lind L, Linde T, Fellström B. Oxidative stress and endothelial function in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(12):2747-52.
- 48 Schleicher E, Friess U. Oxidative stress, AGE, and atherosclerosis. *Kidney Int*. 2007;72:S17-26.

- 49 Halliwell B, Gutteridge J. *Free radicals in biology and medicine*. Fourth Edition. Oxford University Press. 2007. p.888.
- 50 Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol*. 2002;30(6):620-50.
- 51 Go YM, Jones DP. Redox control systems in the nucleus: mechanisms and functions. *Antioxid Redox Signal*. 2010;13(4):489-509.
- 52 Terawaki H, Yoshimura K, Hasegawa T, Matsuyama Y, Negawa T, Yamada K, Matsushima M, Nakayama M, Hosoya T, Era S. Oxidative stress is enhanced in correlation with renal dysfunction: examination with the redox state of albumin. *Kidney Int*. 2004;66(5):1988-93.
- 53 Himmelfarb J, Mcmonagle E. Albumin is the major plasma protein target of oxidant stress in uremia. *Kidney Int*. 2001;60(1):358-63.
- 54 Lowrie EG, Lew NL. Death risk in hemodialysis patients: the predictive value of commonly measured variables and an evaluation of death rate differences between facilities. *Am J Kidney Dis*. 1990;15(5):458-82.
- 55 Kaysen GA, Rathore V, Shearer GC, Depner TA. Mechanisms of hypoalbuminemia in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 1995;48(2):510-6.
- 56 Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, Lindholm B, Pecoits-Filho R, Riella M, Heimbürger O, Cederholm T, Girndt M. IL-10, IL-6, and TNF- α : central factors in the altered cytokine network of uremia--the good, the bad, and the ugly. *Kidney Int*. 2005;67(4):1216-33.
- 57 Gabay C. Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Res Ther*. 2006;8(2):S3.
- 58 Tsirpanlis G, Bagos P, Ioannou D, Bleta A, Marinou I, Lagouranis A, Chatzipanagiotou S, Nicolaou C. The variability and accurate assessment of microinflammation in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(1):150-7.
- 59 Caglar K, Peng Y, Pupim LB, Flakoll PJ, Levenhagen D, Hakim RM, Ikizler TA. Inflammatory signals associated with hemodialysis. *Kidney Int*. 2002;62(4):1408-16.
- 60 Raj DS, Dominic EA, Pai A, Osman F, Morgan M, Pickett G, Shah VO, Ferrando A, Moseley P. Skeletal muscle, cytokines, and oxidative stress in end-stage renal disease. *Kidney Int*. 2005;68(5):2338-44.

- 61 Won HS, Kim HG, Yun YS, Jeon EK, Ko YH, Kim YS, Kim YO, Yoon SA. IL-6 is an independent risk factor for resistance to erythropoiesis-stimulating agents in hemodialysis patients without iron deficiency. *Hemodial Int.* 2012;16(1):31-7.
- 62 Stenvinkel P, Barany P, Heimbürger O, Pecoits-Filho R, Lindholm B. Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: what is the role of interleukin-6? *Kidney Int Suppl.* 2002;80:103-8.
- 63 Owen WF, Lowrie EG. C-reactive protein as an outcome predictor for maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1998;54(2):627-36.
- 64 Ortega O, Rodriguez I, Gallar P, Carreño A, Ortiz M, Espejo B, Jimenez J, Gutierrez M, Oliet A, Vigil A. Significance of high C-reactive protein levels in pre-dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2002;17(6):1105-9.
- 65 Wanner C, Zimmermann J, Schwedler S, Metzger T. Inflammation and cardiovascular risk in dialysis patients. *Kidney Int Suppl.* 2002;80:99-102..
- 66 Laclair R, O'Neal K, Ofner S, Sosa MJ, Labarrere CA, Moe SM. Precision of biomarkers to define chronic inflammation in CKD. *Am J Nephrol.* 2008;28(5):808-12.
- 67 Van Tellingen A, Grooteman MP, Schoorl M, Bartels PC, Schoorl M, van der Ploeg T, ter Wee PM, Nubé MJ. Intercurrent clinical events are predictive of plasma C-reactive protein levels in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2002;62(2):632-8.
- 68 Halliwell B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr Rev.* 1994;52(8):t 1:253-65.
- 69 De Vecchi AF, Bamonti F, Novembrino C, Ippolito S, Guerra L, Lonati S, Salini S, Aman CS, Scurati-Manzoni E, Cighetti G. Free and total plasma malondialdehyde in chronic renal insufficiency and in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24(8):2524-9.
- 70 Boaz M, Matas Z, Biro A, Katzir Z, Green M, Fainaru M, Smetana S. Serum malondialdehyde and prevalent cardiovascular disease in hemodialysis. *Kidney Int.* 1999;56(3):1078-83.
- 71 Paul JL, Sall ND, Soni T, Poignet JL, Lindenbaum A, Man NK, Moatti N, Raichvarg D. Lipid peroxidation abnormalities in hemodialyzed patients. *Nephron.* 1993;64(1):106-9.

- 72 Vicca S, Massy ZA, Hennequin C, Rihane D, Nguyen-Khoa T, Drüeke TB, Lacour B. New insights into the effects of the protein moiety of oxidized LDL (oxLDL). *Kidney Int Suppl.* 2003;84:S125-7.
- 73 Gosmanova EO, Le NA. Cardiovascular complications in CKD patients: role of oxidative stress. *Cardiol Res Pract.* 2011;2011:156326.
- 74 Ferraro B, Galli F, Frei B, Kingdon E, Canestrari F, Rice-Evans C, Buoncristiani U, Davenport A, Moore KP. Peroxynitrite-induced oxidation of plasma lipids is enhanced in stable hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2003;63(6):2207-13.
- 75 Miyata T, Fu MX, Kurokawa K, van Ypersele de Strihou C, Thorpe SR, Baynes JW. Autoxidation products of both carbohydrates and lipids are increased in uremic plasma: is there oxidative stress in uremia? *Kidney Int.* 1998;54(4):1290-5.
- 76 Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, McMonagle E, Morrow J, Ikizler TA, Himmelfarb J. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2004;65(3):1009-16.
- 77 Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18(7):1272-80.
- 78 Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int.* 2002;62(5):1524-38.
- 79 Mezzano D, Pais EO, Aranda E, Panes O, Downey P, Ortiz M, Tagle R, González F, Quiroga T, Caceres MS, Leighton F, Pereira J. Inflammation, not hyperhomocysteinemia, is related to oxidative stress and hemostatic and endothelial dysfunction in uremia. *Kidney Int.* 2001;60(5):1844-50.
- 80 Annuk M, Zilmer M, Fellström B. Endothelium-dependent vasodilation and oxidative stress in chronic renal failure: impact on cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl.* 2003;84:S50-3.
- 81 Thuraisingham RC, Yaqoob MM. Oxidative consumption of nitric oxide: a potential mediator of uremic vascular disease. *Kidney Int Suppl.* 2003;84:S29-32.
- 82 Miyata T, Kurokawa K, Van Ypersele de Strihou C. Relevance of oxidative and carbonyl stress to long-term uremic complications. *Kidney Int Suppl.* 2000;76:S120-5.

- 83 Toborek M, Wasik T, Drózd M, Klin M, Magner-Wróbel K, Kopieczna-Grzebieniak E. Effect of hemodialysis on lipid peroxidation and antioxidant system in patients with chronic renal failure. *Metabolism*. 1992;41(11):1229-32.
- 84 Paul JL, Sall ND, Soni T, Poignet JL, Lindenbaum A, Man NK, Moatti N, Raichvarg D. Lipid peroxidation abnormalities in hemodialyzed patients. *Nephron*. 1993;64(1):106-9.
- 85 Coaccioli S, Standoli ML, Biondi R, Panaccione A, Landucci P, Del Giorno R, Paladini A, Standoli M, Puxeddu A. Assessment of the oxidative stress markers in patients with chronic renal insufficiency undergoing dialysis treatment. *Clin Ter*. 2010;161(5):441-4.
- 86 Coaccioli S, Standoli ML, Biondi R, Panaccione A, Landucci P, Del Giorno R, Paladini A, Standoli M, Puxeddu A. Open comparison study of oxidative stress markers between patients with chronic renal failure in conservative therapy and patients in haemodialysis. *Clin Ter*. 2010;161(5):435-9.
- 87 Spittle MA, Hoenich NA, Handelman GJ, Adhikarla R, Homel P, Levin NW. Oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 2001;38(6):1408-13.
- 88 Himmelfarb J, Mcmenamin E, Mcmonagle E. Plasma aminothiols oxidation in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2002;61(2):705-16.
- 89 Himmelfarb J, Mcmonagle E, Mcmenamin E. Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. *Kidney Int*. 2000;58(6):2571-8.
- 90 Ward RA, Mcleish KR. Oxidant stress in hemodialysis patients: what are the determining factors? *Artif Organs*. 2003;27(3):230-6.
- 91 Morena M, Cristol JP, Senécal L, Leray-Moragues H, Krieter D, Canaud B. Oxidative stress in hemodialysis patients: is NADPH oxidase complex the culprit? *Kidney Int Suppl*. 2002;80:109-14.
- 92 Frank RD, Weber J, Dresbach H, Thelen H, Weiss C, Floege J. Role of contact system activation in hemodialyzer-induced thrombogenicity. *Kidney Int*. 2001;60(5):1972-81.
- 93 Ward RA, Ouseph R, Mcleish KR. Effects of high-flux hemodialysis on oxidant stress. *Kidney Int*. 2003;63(1):353-9.

- 94 Varan HI, Dursun B, Dursun E, Ozben T, Suleymanlar G. Acute effects of hemodialysis on oxidative stress parameters in chronic uremic patients: comparison of two dialysis membranes. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2010;3:39-45.
- 95 Fiorillo C, Oliviero C, Rizzuti G, Nediani C, Pacini A, Nassi P. Oxidative stress and antioxidant defenses in renal patients receiving regular haemodialysis. *Clin Chem Lab Med.* 1998;36(3):149-53.
- 96 Hernández de Rojas A, Mateo MC. Superoxide dismutase and catalase activities in patients undergoing hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Ren Fail.* 1996;18(6):937-46.
- 97 Richard MJ, Arnaud J, Jurkovitz C, Hachache T, Meftahi H, Laporte F, Foret M, Favier A, Cordonnier D. Trace elements and lipid peroxidation abnormalities in patients with chronic renal failure. *Nephron.* 1991;57(1):10-5
- 98 Ceballos-Picot I, Witko-Sarsat V, Merad-Boudia M, Nguyen AT, Thévenin M, Jaudon MC, Zingraff J, Verger C, Jungers P, Descamps-Latscha B. Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radic Biol Med.* 1996;21(6):845-53.
- 99 Vaziri ND, Dicus M, Ho ND, Boroujerdi-Rad L, Sindhu RK. Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency. *Kidney Int.* 2003;63(1):179-85.
- 100 Biasioli S, Schiavon R, Petrosino L, Cavallini L, Zambello A, De Fanti E, Giavarina D. Free radicals and oxidative stress challenge dialysis patients: effects of two different membranes. *ASAIO J.* 1997;43(5):M766-72.
- 101 Kosch M, Levers A, Fobker M, Barenbrock M, Schaefer RM, Rahn KH, Hausberg M. Dialysis filter type determines the acute effect of haemodialysis on endothelial function and oxidative stress. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18(7):1370-5.
- 102 Chu PL, Chiu YL, Lin JW, Chen SI, Wu KD. Effects of low- and high-flux dialyzers on oxidative stress and insulin resistance. *Blood Purif.* 2008;26(2):213-20.
- 103 Bober J, Kwiatkowska E, Kedzierska K, Olszewska M, Dolegowska B, Domanski L, Herdzik E, Ciechanowski K, Chlubek D. Does glucose present in the dialysate limit oxidative stress in patients undergoing regular hemodialysis? *Blood Purif.* 2005;23(3):219-25.

- 104 Bober J, Kwiatkowska E, Kedzierska K, Olszewska M, Gołębiewska E, Stachowska E, Kucharska E, Ciechanowski K, Chlubek D. Influence of glucose in the dialysate on the activity of erythrocyte-glutathione-peroxidase and blood selenium concentration in hemodialyzed patients. *Arch Med Res.* 2007;38(3):330-6.
- 105 Calò LA, Naso A, Pagnin E, Davis PA, Castoro M, Corradin R, Riegler P, Cascone C, Huber W, Piccoli A. Vitamin E-coated dialyzers reduce oxidative stress related proteins and markers in hemodialysis--a molecular biological approach. *Clin Nephrol.* 2004;62(5):355-61.
- 106 Calò LA, Naso A, Carraro G, Wratten ML, Pagnin E, Bertipaglia L, Rebeschini M, Davis PA, Piccoli A, Cascone C. Effect of haemodiafiltration with online regeneration of ultrafiltrate on oxidative stress in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;22(5):1413-9.
- 107 Calò LA, Naso A, D'Angelo A, Pagnin E, Zanardo M, Puato M, Rebeschini M, Landini S, Feriani M, Perego A, Malagoli A, Zagatti R, Calzavara P, Cascone C, Davis PA. Molecular biology-based assessment of vitamin E-coated dialyzer effects on oxidative stress, inflammation, and vascular remodeling. *Artif Organs.* 2011;35(2):E33-9.
- 108 Calò LA. Treatment with Vitamin E-coated membrane dialysers and cardiovascular protection in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26(5):1754; author reply 1754-5.
- 109 Honda H, Suzuki H, Hosaka N, Hirai Y, Sanada D, Nakamura M, Nagai H, Ashikaga E, Matsumoto K, Mukai M, Watanabe M, Akizawa T. Ultrapure dialysate influences serum myeloperoxidase levels and lipid metabolism. *Blood Purif.* 2009;28(1):29-39.
- 110 Susantitaphong P, Riella C, Jaber BL. Effect of ultrapure dialysate on markers of inflammation, oxidative stress, nutrition and anemia parameters: a meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2013;28(2):438-46.
- 111 Abdollahzad H, Eghtesadi S, Nourmohammadi I, Khadem-Ansari M, Nejad-Gashti H, Esmailzadeh A. Effect of vitamin C supplementation on oxidative stress and lipid profiles in hemodialysis patients. *Int J Vitam Nutr Res.* 2009;79(5-6):281-7.
- 112 Aantoniadi G, Eleftheriadis T, Liakopoulos V, Kakasi E, Kartsios C, Passadakakis P, Vargemezis V. Effect of one-year oral alpha-tocopherol administration on the antioxidant defense system in hemodialysis patients. *Ther Apher Dial.* 2008;12(3):237-42.

- 113 Hodkova M, Dusilova-Sulkova S, Kalousova M, Soukupova J, Zima T, Mikova D, Malbohan IM, Bartunkova J. Influence of oral vitamin E therapy on micro-inflammation and cardiovascular disease markers in chronic hemodialysis patients. *Ren Fail.* 2006;28(5):395-9.
- 114 Kamgar M, Zaldivar F, Vaziri ND, Pahl MV. Antioxidant therapy does not ameliorate oxidative stress and inflammation in patients with end-stage renal disease. *J Natl Med Assoc.* 2009;101(4):336-44.
- 115 Coombes JS, Fassett RG. Antioxidant therapy in hemodialysis patients: a systematic review. *Kidney Int.* 2012;81(3):233-46.
- 116 HSU SP, Chiang CK, Yang SY, Chien CT. N-acetylcysteine for the management of anemia and oxidative stress in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract.* 2010;116(3):c207-16.
- 117 Trimarchi H, Mongitore MR, Baglioni P, Forrester M, Freixas EA, Schropp M, Pereyra H, Alonso M. N-acetylcysteine reduces malondialdehyde levels in chronic hemodialysis patients - a pilot study. *Clin Nephrol.* 2003;59(6):441-6.
- 118 Bozkurt D, Hur E, Ulkuden B, Sezak M, Nar H, Purclutepe O, Sen S, Duman S. Can N-acetylcysteine preserve peritoneal function and morphology in encapsulating peritoneal sclerosis? *Perit Dial Int.* 2009;29(2):S202-5.
- 119 Alonso A, Lau J, Jaber BL, Weintraub A, Sarnak MJ. Prevention of radiocontrast nephropathy with N-acetylcysteine in patients with chronic kidney disease: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Am J Kidney Dis.* 2004;43(1):1-9.
- 120 Pereira LV, Shimizu MHM, Rodrigues LPMR, Leite CC, Andrade L, Seguro AC. N-acetylcysteine protects rats with chronic renal failure from gadolinium-chelate nephrotoxicity. *PLoS One.* 2012;7(7):e39528.
- 121 Kelly GS. Clinical applications of N-acetylcysteine. *Altern Med Rev.* 1998;3(2):114-27.
- 122 Scholze A, Rinder C, Beige J, Riezler R, Zidek W, Tepel M. Acetylcysteine reduces plasma homocysteine concentration and improves pulse pressure and endothelial function in patients with end-stage renal failure. *Circulation.* 2004;109(3):369-74.
- 123 Nascimento MM, Suliman ME, Silva M, Chinaglia T, Marchioro J, Hayashi SY, Riella MC, Lindholm B, Anderstam B. Effect of oral N-acetylcysteine treatment on plasma inflammatory and oxidative stress markers in peritoneal dialysis patients: a placebo-controlled study. *Perit Dial Int.* 2010;30(3):336-42.

- 124 Purwanto B, Prasetyo DH. Effect of oral N-acetylcysteine treatment on immune system in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Acta Med Indones.* 2012;44(2):140-4.
- 125 Swarnalatha G, Ram R, Neela P, Naidu MU, Dakshina Murty KV. Oxidative stress in hemodialysis patients receiving intravenous iron therapy and the role of N-acetylcysteine in preventing oxidative stress. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2010;21(5):852-8.
- 126 Agarwal R, Vasavada N, Sachs NG, Chase S. Oxidative stress and renal injury with intravenous iron in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2004;65(6):2279-89.
- 127 Marenzi G, Assanelli E, Marana I, Lauri G, Campodonico J, Grazi M, De Metrio M, Galli S, Fabbicocchi F, Montorsi P, Veglia F, Bartorelli AL. N-Acetylcysteine and contrast-induced nephropathy in primary angioplasty. *N Engl J Med.* 2006;354(26):2773-82.
- 128 Daugirdas JT. Second generation logarithmic estimates of single-pool variable volume Kt/V: an analysis of error. *J Am Soc Nephrol.* 1993;4(5):1205-13.
- 129 Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979;95(2):351-8.
- 130 Noleto Magalhães RC, Guedes Borges de Araujo C, Batista de Sousa Lima V, Machado Moita Neto J, do Nascimento Nogueira N, do Nascimento Marreiro D. Nutritional status of zinc and activity superoxide dismutase in chronic renal patients undergoing hemodialysis. *Nutr Hosp.* 2011;26(6):1456-61.
- 131 Nakayama H, Akiyama S, Shiotani S, Gotoh H, Inagaki M, Oguchi K. Evaluation of superoxide dismutase activity in dialyzed patients by electron spin resonance spectroscopy. *Am J Nephrol.* 2002;22(1):6-10.
- 132 Montazerifar F, Hashemi M, Karajibani M, Sanadgol H, Dikshit M. Evaluation of lipid peroxidation and erythrocyte glutathione peroxidase and superoxide dismutase in hemodialysis patients. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2012;23(2):274-9.
- 133 Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem.* 2006;52(4):601-23.
- 134 Ahmadpoor P, Eftekhari E, Nourooz-Zadeh J, Servat H, Makhdooni K, Ghafari A. Glutathione, glutathione-related enzymes, and total antioxidant capacity in patients on maintenance dialysis. *Iran J Kidney Dis.* 2009;3(1):22-7.

- 135 Annuk M, Fellström B, Akerblom O, Zilmer K, Vihalemm T, Zilmer M. Oxidative stress markers in pre-uremic patients. *Clin Nephrol.* 2001;56(4):308-14.
- 136 Kaysen GA, Dubin JA, Müller HG, Rosales LM, Levin NW. The acute-phase response varies with time and predicts serum albumin levels in hemodialysis patients. The HEMO Study Group. *Kidney Int.* 2000;58(1):346-52.
- 137 Wratten ML, Tetta C, Ursini F, Sevanian A. Oxidant stress in hemodialysis: prevention and treatment strategies. *Kidney Int Suppl.* 2000;76:S126-32.
- 138 Mekki K, Taleb W, Bouzidi N, Kaddous A, Bouchenak M. Effect of hemodialysis and peritoneal dialysis on redox status in chronic renal failure patients: a comparative study. *Lipids Health Dis.* 2010;9:93.
- 139 Jofré R, Rodriguez-Benitez P, López-Gómez JM, Pérez-Garcia R. Inflammatory syndrome in patients on hemodialysis. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(12 Suppl 3):S274-80.
- 140 Handelman GJ. Evaluation of oxidant stress in dialysis patients. *Blood Purif.* 2000;18(4):343-9.
- 141 Köse K, Doğan P, Gündüz Z, Düşünsel R, Utaş C. Oxidative stress in hemodialyzed patients and the long-term effects of dialyzer reuse practice. *Clin Biochem.* 1997;30(8):601-6.
- 142 Hasdan G, Benchetrit S, Rashid G, Green J, Bernheim J, Rathaus M. Endothelial dysfunction and hypertension in 5/6 nephrectomized rats are mediated by vascular superoxide. *Kidney Int.* 2002;61(2):586-90.
- 143 Mandolfo S, Corradi B, Bucci R, Farina M, Pilolli F, Galli F. Evaluation of the impact of a new synthetic vitamin E-bonded membrane on anemia and rHuEPO requirement in ESRD patients with central venous catheters: a pilot study. *Int Urol Nephrol.* 2012;44(5):1493-500.
- 144 Shah NR, Dumler F. Hypoalbuminaemia--a marker of cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease stages II-IV. *Int J Med Sci.* 2008;5(6):366-70.
- 145 Kaysen GA, Dubin JA, Müller HG, Mitch WE, Rosales LM, Levin NW. Relationships among inflammation nutrition and physiologic mechanisms establishing albumin levels in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2002;61(6):2240-9.

- 146 Soejima A, Kaneda F, Manno S, Matsuzawa N, Kouji H, Nagasawa T, Era S, Takakuwa Y. Useful markers for detecting decreased serum antioxidant activity in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2002;39(5):1040-6.
- 147 Mimic-Oka J, Simić T, Djukanović L, Reljić Z, Davicević Z. Alteration in plasma antioxidant capacity in various degrees of chronic renal failure. *Clin Nephrol.* 1999;51(4):233-41.
- 148 Leavey SF, Strawderman RL, Young EW, Saran R, Roys E, Agodoa LY, Wolfe RA, Port FK. Cross-sectional and longitudinal predictors of serum albumin in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2000;58(5):2119-28
- 149 Ikizler TA, Flakoll PJ, Parker RA, Hakim RM. Amino acid and albumin losses during hemodialysis. *Kidney Int.* 1994;46(3):830-7.