

10^o

FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO
RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

Autor(es): ANDRESSA DE OLIVEIRA AMARAL, ALFREDO MAURICIO BATISTA DE PAULA, VINICIUS DIAS RODRIGUES, ANDRÉIA BRITO DE SOUZA, BRUNA NATHÁLIA SANTOS, MAGDA MENDES VIEIRA, RAQUEL JÚNIA DA CRUZ OLIVEIRA

Indivíduos com Doença renal crônica com caquexia urêmica apresentam elevados níveis plasmáticos de proteína C reativa

Introdução

A doença renal crônica (DRC) é uma doença de etiologia multifatorial decorrente do comprometimento progressivo morfológico, com conseqüente perda das funções glomerular, tubular e endócrina dos rins (DUMMER, 2007). A caquexia é uma síndrome paraneoplásica caracterizada como uma progressiva consumação física decorrente principalmente de alterações do metabolismo proteico em fibras musculares esqueléticas. Tem sido demonstrado em alguns estudos que a caquexia como uma complicação decorrente do avanço da DRC associada à consumação física do paciente, com conseqüente piora na qualidade de vida e aumento das taxas de morbi-mortalidade (OBERG BP *et al.*, 2004). A força muscular é entendida como a capacidade de ação de um músculo ou grupo muscular de superar esforços provocados por uma resistência externa (MCSWEGIN *et al.*, 1989). A força muscular é resultado da evolução do sistema neuromuscular que é estimulada por experiências vitais (NAKAURA, *et al.*, 2004). Este movimento é desenvolvido por causa da ação de diversos músculos e articulações que são promovidos pela capacidade do indivíduo gerar força e/ou precisão para o desfecho da preensão (MAGGE, *et al.*, 2010).

Nesse presente estudo, foram comparados os níveis plasmáticos de marcadores bioquímicos (hemograma completo, leucograma, glicemia e coagulograma) entre indivíduos adultos assintomáticos, indivíduos com DRC pré-caquexia urêmica e indivíduos com DCR com caquexia urêmica.

Materiais e Métodos

A. Aspectos éticos

Esse estudo foi analisado por um comitê de ética em pesquisa com seres humana local (CEP/Unimotes. Parecer: 226.701/2013). Os indivíduos participantes foram devidamente informados sobre o estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para participação no estudo e doação de amostra de sangue periférico para análise bioquímica previstos nessa pesquisa

B. Delineamento, amostragem e critérios de inclusão e de exclusão do estudo

Este estudo caracteriza-se como transversal e analítico. Foram analisados um total de 300 indivíduos adultos, divididos em assintomáticos/clinicamente saudáveis (grupo controle, n = 199), com DRC e pré-caquéticos urêmicos (n = 68) e com DRC e caquéticos urêmicos (n = 33). Os indivíduos controles foram selecionados através de busca ativa em grupos de pessoas da população adulta de Montes Claros/MG vinculados a programas públicos municipais que envolvem atividades esportivas e de lazer. Os indivíduos com DRC (casos) foram selecionados em duas instituições hospitalares públicas que oferecem o tratamento hemodialítico para esses indivíduos na cidade de Montes Claros/MG. Os critérios de inclusão de indivíduos no grupo caso foram idade superior a 40 anos; estar em tratamento; não estar em tratamento relacionado com algum distúrbio nutricional; não ter problemas neuromusculares incapacitantes. Os indivíduos do grupo controle deviam ser adultos; não apresentar quaisquer doenças crônicas não-transmissíveis e/ou doença infectocontagiosa, distúrbios alimentares e deficiência neurológica ou musculoesquelética. Não participaram da pesquisa indivíduos do grupo caso ou controle que não cumpriram rigorosamente todos os critérios de inclusão supracitados ou indivíduos que não aceitaram participar de forma livre e consentida do presente estudo.

D. Coleta de sangue periférico e análises bioquímicas plasmáticas

Foram obtidas amostras de sangue periférico para a dosagem plasmática de todos os biomarcadores de interesse. Para a obtenção das amostras via flebotomia venosa periférica, foram utilizados os seguintes instrumentos: agulha múltipla 25 x 8 mm BD Vacutainer®, tubo de 4 ml EDTA K2 BD Vacutainer®, tubo de 8,5 ml BD SST® II Advance®, tubo de 4,5 ml Citrato de Sódio BD Vacutainer®, tubo de 2,5 ml PAXgeneBD Vacutainer®, adaptadores e torniquetes. Para as análises no soro foram utilizados dois tubos a vácuo sem anticoagulante BD SST® II Advance® de 8,5ml e um tubo de 2,5 ml PAXgeneBD Vacutainer®. Para a realização do hemograma completo foi utilizado um total de 4 ml de sangue venoso coletado em tubos K2-EDTA à vácuo (Vacutainer®). As amostras foram processadas no analisador automático Micros 60 (ABX Diagnostic, France) sendo analisados os seguintes parâmetros: hemácias (mm³), hemoglobina (g/dL), hematócrito (%), leucócitos (mm³) e plaquetas (mm³) e volume globular médio (pg). Também foram realizadas extensões sanguíneas para a análise da morfologia dos eritrócitos e contagem diferencial dos leucócitos. A identificação

10^o

FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO

RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

dos níveis plasmáticos de hemoglobina glicosilada também foi realizada com a amostra coletada em tubos K2-EDTA a vácuo (Vacutainer®). A amostra foi dosada com o reagente HbA1c da Labtest® em um aparelho automatizado LabMax 240 da Labtest Diagnóstica, Brasil. Nesse teste, um anticorpo anti-HbA1c forma um complexo com a hemoglobina e um segundo anticorpo produz a aglutinação desse complexo. A intensidade da aglutinação foi medida em absorbância de 630 nm. Para a contagem automatizada de plaquetas foi padronizado o volume mínimo de 500µL de sangue venoso, sem diluição prévia. A contagem plaquetária foi realizada pelo sistema de analisador hematológico Sysmex XS 1000i (Sysmex®, Kobe, Japão) que utiliza a quantidade de 20µL das amostras. Além da técnica de citometria de fluxo com fluorocromo para a análise diferencial de leucócitos, o analisador aplicou a técnica de corrente direta (impedância elétrica) para discriminar as plaquetas dos eritrócitos, de acordo com os respectivos volumes celulares. A determinação das concentrações no soro de glicose foram realizadas em equipamento automatizado de química clínica LabMax 240 da Labtest Diagnóstica, Brasil. A glicemia de jejum foi determinada por método enzimático colorimétrico com a enzima glicose oxidase Labtest®. O peróxido de hidrogênio formado reagiu com a 4-aminoantipirina e fenol, sob ação catalisadora da peroxidase, através de uma reação oxidativa de acoplamento formando uma antipirilquinonimina vermelha cuja intensidade de cor foi proporcional à concentração de glicose identificada no comprimento de 505 nm. A proteína C reativa (PCR) quantitativa foi dosada pelo método de nefelometria (ultrassensível), em amostras isoladas de sangue, e o valor de referência considerado normal foi de até 0,3mg/dl. (CHENG, et. al, 2004; FINFER, et. al, 2013).

E. Análises estatísticas

Foi realizado inicialmente estatística descritiva com obtenção de valores de média e desvio-padrão para as variáveis independentes do estudo. Para comparar as variáveis dependentes entre os grupos investigados foi utilizado o teste de ANOVA. Comparações foram consideradas significativas se p valor for menor que 0.05 ($p < 0.05$). Todos os procedimentos estatísticos foram feitos no programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 20.0 para Windows.

Resultados e discussão

A distribuição e a análise das variáveis bioquímicas plasmáticas entre os indivíduos controles, com DRC, pré-caquéticos e com DRC caquéticos urêmicos estão apresentadas na Tabela 1. Nossos resultados não mostram diferença significativa nas variáveis hematológicas, imunológicas, plaquetárias e glicêmicas. Importante ressaltar que indivíduos com DRC apresentam uma perda progressiva da capacidade funcional endócrinas dos rins. A função do hormônio renal eritropoietina (EPO), produzido por fibroblastos intersticiais do córtex renal, com estreita associação com o capilares peritubulares e túbulo epitelial tubular. Esse hormônio, que atua como uma citocina, é responsável por estimular uma maior produção de células vermelhas do sangue (BASTOS; BREGMAN; KIRSZTAJN, 2010). Mas nossos resultados não corroboraram com essa informação, lembramos que o processo de tratamento do DRC é utilizado medicamentos e hormônios exógenos que provocam nivelamento das variáveis hematológicas (SULIKOWSKA *et al*, 2005). Porém os valores da proteína C reativa (PCR) apresentaram diferença significativa, onde os maiores valores encontrados foram nos indivíduos com DRC e com caquexia urêmica. A PCR é um reconhecido marcador plasmático indicador da presença de um quadro inflamatório sistêmico. Esse quadro inflamatório também é um achado com a caquexia associadas às doenças sistêmicas crônicas, como o câncer, doença cardíaca crônica e a DRC. Essa inflamação sistêmica parece contribuir para a ocorrência de proteólise da estrutura muscular estriada esquelética, sendo essa situação responsável pela consumação física do indivíduo (BODINE *et al*, 2001; THOMAS *et al*, 2013; ZHANG *et al*, 2010).

Conclusões

De acordo com nossos achados, indivíduos com DRC que experimental a caquexia urêmica desde e seus estágio iniciais (pré-caquético) apresentam níveis elevados de PCR comparado a de indivíduos adultos controles. Esse aumento da expressão plasmática da PCR nos indivíduos caquéticos mostra que com o aumento do quadro inflamatório crônico sistêmicos ocorre concomitantemente um aumento da consumação física dos indivíduos com DRC. Futuros estudos serão realizados para investigar vias proteolíticas intracelulares que são ativadas na musculatura esquelética dos indivíduos com DRC e que são ativadas por um quadro inflamatório sistêmico verificado pelos níveis plasmáticos de PCR.

Agradecimentos

Apoio financeiro: CAPES, FAPEMIG e CNPq

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Unimontes nº 226.701/2013



Agradecemos a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo apoio. Agradecemos também a Diretoria Acadêmica do Hospital Universitário Clemente de Faria pelo suporte a esse projeto de pesquisa.

Referências

- AYODELE, Olugbenga E.; ALEBIOSU, C. Olutayo. Burden of chronic kidney disease: an international perspective. *Advances in chronic kidney disease*, v. 17, n. 3, p. 215-224, 2010.
- BASTOS, Marcus Gomes; BREGMAN, Rachel; KIRSZTAJN, Gianna Mastroianni. Doença renal crônica: frequente e grave, mas também prevenível e tratável. *Rev Assoc Med Bras*, v. 56, n. 2, p. 248-53, 2010.
- BODINE, Sue C. et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science*, v. 294, n. 5547, p. 1704-1708, 2001.
- CHENG, C. K. et al. Complete blood count reference interval diagrams derived from NHANES III: stratification by age, sex, and race. *Laboratory hematology: official publication of the International Society for Laboratory Hematology*, v. 10, n. 1, p. 42-53, 2003.
- FINFER, Simon et al. Clinical review: consensus recommendations on measurement of blood glucose and reporting glycemic control in critically ill adults. *Critical care*, v. 17, n. 3, p. 1, 2013.
- McSwegin P, Pemberton C, Petray C, Going S. Physical Best: **The AAHPERD Guide to Physical Fitness, Education, and Assessment: American Alliance for Health, Physical Education, Recreation, and Dance**; 1989.
- SULIKOWSKA, Beata; ODROWAZ-SYPNIEWSKA, Grazyna; MANITIUS, Jacek. Interpretation of erythropoietin levels in patients with various degrees of renal anemia. *Kidney international*, v. 67, n. 4, p. 1635-1635, 2005.
- THOMAS, Sandhya S.; MITCH, William E. Mechanisms stimulating muscle wasting in chronic kidney disease: the roles of the ubiquitin-proteasome system and myostatin. *Clinical and experimental nephrology*, v. 17, n. 2, p. 174-182, 2013.
- ZHANG, Liping et al. Satellite cell dysfunction and impaired IGF-1 signaling cause CKD-induced muscle atrophy. *Journal of the American Society of Nephrology*, v. 21, n. 3, p. 419-427, 2010.

Tabela 1. Distribuição e análise dos marcadores plasmáticos entre indivíduos adultos assintomáticos (controles), indivíduos com Doença renal crônica (DRC) pré-caquéticos e caquéticos urêmicos.

Variáveis	Grupos de Indivíduos					
	Assintomáticos (n = 199)		DRC, pré-caquéticos (n = 68)		DRC, caquéticos (n = 33)	
	Média	± DP	Média	± DP	Média	± DP
Hemácia (células/mm ³)	4,4771	0,77	4,61	0,73	4,49	0,85
Hemoglobina (g/dl)	13,1651	2,214	13,53	2,12	13,15	2,37
Hematocrito (fl)	39,5111	6,20	40,91	5,76	39,53	7,19
VGM (pg)	88,71	6,60	89,19	6,37	88,19	5,25
Leucócitos (células/mm ³)	6049,00	1612,65	6297,13	1888,26	6442,12	2378,92
Neutrófilos (células/mm ³)	3339,54	1383,09	3421,43	1562,77	3635,45	2142,71
Linfócitos (células/mm ³)	1887,57	607,62	1995,70	667,46	2020,42	889,16
Monócitos (células/mm ³)	553,36	185,348	587,84	173,36	544,18	238,40
Eosinófilos (células/mm ³)	242,80	238,59	243,64	245,35	226,06	217,44
Basófilos (células/mm ³)	42,7106	38,10	48,4800	40,47	44,5400	37,17
Plaquetas (células/mm ³)	210419	85642,36	207587	65843,7	205546,9	77772,4
Glicemia (mg/dL)	95,93	45,19	101,51	36,17	102,78	57,56
PCR (mg/dL)*	1,503	1,64	1,687	2,08	3,291	2,27

* Diferença estatisticamente significativa para a variável PCR entre os indivíduos controles e indivíduos com DRC, caquéticos (p = 0,001) e entre indivíduos com DRC, pré-caquéticos e caquéticos (p = 0,008).

DRC = Doença renal crônica VGM = volume globular médio. PCR = proteína C reativa.

10^o

FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO

RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

Realização:



Apoio:



Apoio financeiro: CAPES, FAPEMIG e CNPq

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Unimontes nº 226.701/2013