

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Instituto de Ciências Básicas da Saúde

Departamento de Fisiologia

Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Fisiologia

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PULMONAR E ESTRESSE OXIDATIVO EM
PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA EM HEMODIÁLISE**

Dissertação de Mestrado

PATRÍCIA DALL'AGNOL BIANCHI

Porto Alegre, 2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Instituto de Ciências Básicas da Saúde
Departamento de Fisiologia

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PULMONAR E ESTRESSE OXIDATIVO EM
PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA EM HEMODIÁLISE**

PATRÍCIA DALL'AGNOL BIANCHI

Orientadora: Dra. Adriane Belló Klein

Co-Orientador: Dr. Sérgio Saldanha Menna Barreto

Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação em Ciências Biológicas -
Fisiologia, do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, junho de 2003.

AGRADECIMENTOS

Aos professores: Dra. Adriane Belló Klein e Dr. Sérgio Saldanha Menna Barreto, pela confiança em mim depositada, pela atenção, carinho e disponibilidade demonstrada sempre que solicitados.

À Tânia, Jaque e Alex, pela paciência, disponibilidade e ajuda na realização dos experimentos. Obrigada!

Aos funcionários da Unidade de Fisiologia Pulmonar do HCPA: Maria Ângela, Luciana, Seu Júlio, Cleonice, Laura, Solange e Brigita, pela atenção e grata convivência.

Aos pacientes da Unidade de Nefrologia do HCPA, por aceitarem participar do estudo, obrigada pelo empenho.

Aos funcionários da nefrologia: as gurias da secretaria Jussara, Jaque e Carla, às enfermeiras Cássia, Adriana, Alessandra e Conceição e toda a equipe de auxiliares de enfermagem pela atenção e auxílio nos trabalhos de coleta.

Ao Dr. Fernando Thomé pela confiança, atenção e apoio durante a realização do trabalho. Obrigada!

Ao Grupo de Pesquisa e Pós Graduação do HCPA (GPPG), e ao CNPq, pelo apoio financeiro.

Aos amigos do laboratório: Helena, Roberta, Daniela, Maristela, Lucila, Martine, Gilberti, Mariane, Cristina, Maria Isabel, Cassiana, Francieli, Nicolle, Gabriela, Felipe, Jorge, Marcos, Fabiano, Klipel, Paulo e Dona Rita pela convivência e amizade.

Aos meus pais, Rubens e Clarice, e aos meus irmãos, Gabriel e Carla, pelo apoio incondicional, pela amizade e pelo amor.

Aos meus maiores incentivadores, Mário e João Pedro, pela paciência, carinho, atenção, cuidado e amor em todos os momentos dessa nossa caminhada. Amo vocês!

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Insuficiência Renal Crônica	1
1.2	Aspectos Pulmonares	3
1.2.1	Pressões Respiratórias Máximas.....	4
1.2.2	Pico de Fluxo Expiratório (PFE) ou <i>Peak Flow</i>	8
1.2.3	Prova de Função Pulmonar Respiratória: Espirometria	10
1.2.4	Avaliação dos Gases Sangüíneos – Gasometria e Oximetria.....	13
1.2.5	Aspectos Pulmonares dos Doentes Renais	15
1.3	Espécies Ativas de Oxigênio	19
1.3.1	Estresse Oxidativo	21
1.3.2	Antioxidantes.....	22
1.3.3	Estresse Oxidativo na Uremia.....	26
2	OBJETIVOS	30
2.1	Objetivo Geral	30
2.2	Objetivos Específicos	30
3	MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1	Indivíduos	31
3.2	Avaliação Respiratória	32
3.2.1	Oximetria.....	32
3.2.2	Mensuração das Pressões Respiratórias Máximas.....	33
3.2.3	Mensuração do Pico de Fluxo Expiratório (PFE) ou Peak Flow	34
3.2.4	Prova de Função Pulmonar Respiratória – Espirometria	34
3.3	Coleta Sangüínea	35
3.4	Avaliação do Estresse Oxidativo	36
2.4.1	Preparo do Sangue para Avaliação do Estresse Oxidativo	36
3.4.1	Dosagem de Hemoglobina.....	37
3.4.2	Lipoperoxidação - Quimiluminescência Iniciada por t-BOOH.....	37
3.4.3	Mensuração de Proteínas	38
3.4.4	Capacidade Antioxidante Total (TRAP).....	39
3.4.5	Superóxido Dismutase	40
3.4.6	Catalase	41
3.4.7	Determinação de Nitratos.....	42

3.4.8	Oxidação de Proteínas – Método das carbonilas	43
3.5	Análise Estatística.....	44
4	RESULTADOS	45
4.1	Avaliação Respiratória.....	45
4.1.1	Avaliação da Função Pulmonar – Espirometria	45
4.1.2	Avaliação da Força Muscular Respiratória.....	53
4.1.3	Avaliação do Pico de Fluxo Expiratório Por Medidor Portátil	55
4.2	Estresse Oxidativo	56
4.2.1	Avaliação Pré e Pós Hemodiálise	56
4.2.2	Avaliação dos Pacientes em HD e Grupo Controle.....	63
4.3	Avaliação Complementar.....	70
5	DISCUSSÃO.....	73
6	CONCLUSÕES.....	89
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
8	ANEXOS.....	101

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Formação das EAO a partir da redução do O ₂	20
Figura 2. Reação de Fenton	21
Figura 3. Reação de Haber-Weiss	21
Figura 4. Dismutação do radical superóxido pela SOD	24
Figura 5. Decomposição do peróxido de hidrogênio pela catalase.	25
Figura 6. Redução de hidroperóxidos pela glutathiona peroxidase e regeneração da glutathiona pela glutathiona redutase.	25
Figura 7. Avaliação da capacidade vital forçada (CVF), antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise.	46
Figura 8. Avaliação do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF ₁) da manobra expiratória, antes (Pré HD) e após (Pós HD), uma sessão de hemodiálise.	47
Figura 9. Avaliação do pico de fluxo expiratório – PEF, antes (Pré HD) e após (Pós HD) sessão de hemodiálise.	48
Figura 10. Avaliação do fluxo médio expiratório – FEF _{25-75%} , antes (Pré HD) e após (Pós HD) sessão de hemodiálise.	49
Figura 11. Classificação dos laudos espirométricos de doentes renais crônicos antes de uma sessão de hemodiálise (HD).	50
Figura 12. Classificação dos laudos espirométricos de doentes renais crônicos após uma única sessão de hemodiálise (HD).	52
Figura 13. Avaliação da pressão inspiratória estática máxima – PImáx, antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma sessão de hemodiálise.	54
Figura 14. Avaliação da pressão expiratória estática máxima – PEmáx, antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma sessão de hemodiálise.	55
Figura 15. Avaliação do pico de fluxo expiratório – PEF, antes (Pré HD) e após (Pós HD) sessão de hemodiálise.	56
Figura 16. Atividade da superóxido dismutase – SOD (em U/mg de proteína) em eritrócitos de doentes renais crônicos antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise.	57
Figura 17. Atividade da enzima antioxidante catalase (em pmoles/mg de proteína), em eritrócitos de doentes renais crônicos antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise.	58

Figura 18. Avaliação da Capacidade Antioxidante Total - TRAP (em U Trolox/ μ L de amostra) no plasma de doentes renais crônicos antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise.	59
Figura 19. Avaliação da lipoperoxidação por quimiluminescência - QL (em cps/mg de hemoglobina) nos eritrócitos de doentes renais crônicos antes (Pré HD) e após (Pós HD) sessão de hemodiálise.	60
Figura 20. Avaliação das carbonilas (em nmol/mg de proteína), no plasma de doentes renais crônicos antes (Pré HD) e após (Pós HD) sessão de hemodiálise.	61
Figura 21. Avaliação de nitratos (em μ M de NO_3^-), no plasma de doentes renais antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise.	62
Figura 22. Avaliação dos níveis de nitritos (em μ M), no plasma de pacientes renais crônicos em hemodiálise antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise.	63
Figura 23. Atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase – SOD (em U/mg de proteína) de pacientes em hemodiálise (Pré HD) (n=17), e indivíduos saudáveis (controle) (n=18).	64
Figura 24. Atividade da enzima antioxidante catalase (em pmoles/mg de proteína) do grupo de doentes renais crônicos em hemodiálise (Pré HD) (n=17), e de indivíduos saudáveis (controle) (n=18).	65
Figura 25. Avaliação da capacidade antioxidante total – TRAP (em U Trolox/ μ L de amostra), no plasma de indivíduos saudáveis (controle) (n=18), e pacientes renais crônicos antes de sessão de hemodiálise (Pré HD) (n=17).	66
Figura 26. Avaliação da lipoperoxidação por quimiluminescência – QL (em cps/mg de proteína) nos eritrócitos de doentes renais crônicos antes de sessão de hemodiálise (Pré HD) (n=17), e de indivíduos saudáveis (controle) (n=18).	67
Figura 27. Avaliação da oxidação de proteínas pelas carbonilas (em nmol/mg de proteína) em doentes renais crônicos antes da sessão de hemodiálise (Pré HD) (n=17), e em indivíduos saudáveis (controle) (n=18).	68

Figura 28. Avaliação de nitratos (em μM) no plasma de doentes renais crônicos antes de sessão de hemodiálise (Pré HD) (n=17), e em indivíduos saudáveis (controle) (n=18).	69
Figura 29. Avaliação de nitritos (em μM), em doentes renais crônicos antes de sessão de hemodiálise (Pré HD) (n=17), e de indivíduos saudáveis (controle) (n=18).	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Variáveis bioquímicas, hemograma e variação percentual de perda de peso corporal, de doentes renais crônicos antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma sessão de hemodiálise (HD).....	71
Tabela 2. Gasometria arterial de doentes renais crônicos antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma sessão de hemodiálise (HD).	71
Tabela 3. Principais correlações significativas observadas entre variáveis espirométricas, tempo de tratamento com HD e variação percentual de perda de peso corporal durante sessão de HD.	72

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Aprovação do projeto de pesquisa pela Comissão Científica e pela Comissão de Pesquisa Ética em Saúde do HCPA.	101
Anexo 2. Foto demonstrativa do manovacuômetro e bocal utilizados.	102
Anexo 3. Foto demonstrativa do método utilizado para avaliação da força muscular respiratória.	103
Anexo 4. Foto demonstrativa do medidor de pico de fluxo utilizado.	104
Anexo 5. Foto demonstrativa da manobra respiratória realizada para mensuração do PFE.....	105
Anexo 6. Foto demonstrativa do espirômetro utilizado.....	106
Anexo 7. Foto demonstrativa da manobra de capacidade vital forçada, utilizada na realização das espirometrias.	107
Anexo 8. Correlação entre variáveis espirométricas (pós HD – pré HD), tempo de tratamento com HD e variação percentual de perda de peso corporal durante sessão de HD.....	108
Anexo 9. Correlação entre variáveis espirométricas antes da HD (pré HD), tempo de tratamento com HD e variação percentual de perda de peso corporal durante sessão de HD.....	109
Anexo 10. Correlação das variáveis espirométricas com variáveis bioquímicas e gasometria.....	110
Anexo 11. Correlação entre variáveis bioquímicas e gasometria.	111
Anexo 12. Correlação entre medidas de estresse oxidativo com variáveis bioquímicas e gasometria.....	112

LISTA DE ABREVIATURAS

- CAPD – Diálise peritoneal ambulatorial contínua
- CAT – Catalase
- CPT – Capacidade pulmonar total
- CV – Capacidade vital
- CVF – Capacidade vital forçada
- DNA – Ácido desoxi-ribonucléico
- DVC – Distúrbio ventilatório combinado
- DVO – Distúrbio ventilatório obstrutivo
- DVR – Distúrbio ventilatório restritivo
- EAO – Espécies ativas de oxigênio
- FEF_{25-75%} - Fluxo expiratório forçado 25 a 75% da manobra de CVF
- GPx – Glutaciona peroxidase
- GR – Glutaciona redutase
- GSH – Glutaciona reduzida
- GSSG – Glutaciona oxidada
- HD – Hemodiálise
- IRC – Insuficiência renal crônica
- LPO – Lipoperoxidação
- MDA – Malondialdeído
- NO – Óxido nítrico
- PEF – Pico de fluxo expiratório
- PE_{máx} – Pressão expiratória máxima
- PI_{máx} – Pressão inspiratória máxima
- QL – Quimiluminescência
- SOD – Superóxido dismutase
- TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
- TRAP – Capacidade antioxidante total
- VEF₁ – Volume expiratório forçado no primeiro Segundo da manobra de CVF
- VR – Volume residual

RESUMO

A insuficiência renal crônica (IRC) é uma síndrome caracterizada pela perda geralmente progressiva e irreversível da função renal. O tratamento da IRC terminal envolve alguma forma de diálise ou transplante renal. O objetivo deste estudo foi avaliar a repercussão de uma sessão de hemodiálise (HD) na função pulmonar e estresse oxidativo de doentes renais crônicos. Foram estudados 33 pacientes, 17 mulheres e 16 homens com média de idade $42,76 \pm 14,25$ anos, que realizavam HD na Unidade de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Para participar do estudo, os pacientes não podiam apresentar doença pulmonar de base e nenhum episódio respiratório nos seis meses que o antecederam. A avaliação respiratória deu-se através de exames de espirometria, manovacuometria, oximetria e gasometria, realizados antes e após uma sessão de HD. As variáveis espirométricas foram analisadas em percentagens de valores de referência em substituição a valores absolutos com o objetivo de eliminar efeitos de idade, altura e sexo. A capacidade vital forçada (CVF), o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF_1) e o pico de fluxo expiratório (PFE) apresentaram um aumento significativo após sessão de HD. O fluxo expiratório forçado, 25 a 75% da manobra de capacidade vital forçada ($FEF_{25-75\%}$), também apresentou melhora após HD, porém, esta não foi estatisticamente significativa. O aumento observado nas variáveis espirométricas se refletiu numa variação nos laudos espirométricos em 27% dos pacientes, ocorrendo principalmente naqueles que apresentavam quadro de distúrbio ventilatório restritivo. Houve um aumento significativo no número de espirometrias normais, passando de 12 (37%) para 17 (52%). A manovacuometria foi utilizada para medir a força muscular respiratória e os dados foram analisados em percentagens de valores previstos. A força muscular inspiratória e expiratória, medida pela pressão inspiratória máxima ($PI_{máx}$) e pressão expiratória máxima ($PE_{máx}$) respectivamente, apresentaram aumento significativo. A oximetria não acompanhou as variáveis espirométricas e força muscular respiratória, permanecendo inalterada após HD. Isso pode ser explicado pelos resultados encontrados na gasometria, após HD houve um

aumento substancial no pH e nos níveis de bicarbonato, caracterizando um quadro de alcalose metabólica. Observou-se também queda na pressão parcial de oxigênio e aumento na pressão parcial de dióxido de carbono, provavelmente na tentativa de restabelecer o valor do pH. Assim, constatou-se que, mesmo sem apresentar sintomas respiratórios, pacientes renais crônicos, na maioria das vezes, apresentam alteração na função pulmonar que melhora após tratamento com HD. Dos 33 pacientes avaliados do ponto de vista respiratório, 17 foram selecionados para análise de estresse oxidativo. Utilizaram-se como critérios de exclusão, pacientes com doenças hepáticas, processos inflamatórios crônicos, doença cardíaca conhecida, tabagistas e alcoolistas. Como não existem valores de referência para estresse oxidativo, 18 indivíduos saudáveis e não fumantes formaram o grupo controle. A lipoperoxidação (LPO) em eritrócitos foi medida por quimiluminescência (QL). Os doentes renais crônicos apresentaram níveis expressivamente maiores que os controles, que permaneceram os mesmos após uma sessão de HD. O dano às proteínas no plasma observado através da técnica das carbonilas, não mostrou variação relevante após sessão de HD, e os níveis apresentados pelos pacientes foram significativamente superiores aos observados nos controles. Nos eritrócitos, o sistema antioxidante enzimático, foi verificado através da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). Ambas apresentaram o mesmo perfil: atividade consideravelmente diminuída quando comparada com controles, não modificando após uma sessão de HD. No plasma, a capacidade antioxidante total (TRAP), foi muito superior nos pacientes quando comparados aos controles, com importante redução após sessão de HD. Analisou-se também o metabolismo do óxido nítrico (NO) através de seus metabólitos: nitritos e nitratos. Os nitritos mostraram-se expressivamente aumentados nos doentes renais, e ainda mais após sessão de HD. Os nitratos quando comparados aos controles, apresentaram valor semelhante. Seus níveis aumentaram após tratamento, porém, de forma estatisticamente irrelevante. Portanto, após HD, houve incremento no estresse oxidativo caracterizado por elevação nos níveis de nitritos e redução do TRAP, apesar do dano a lipídios e proteínas não ter aumentado neste tempo de avaliação.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Insuficiência Renal Crônica

Insuficiência renal crônica (IRC) é uma síndrome onde ocorre perda progressiva e geralmente irreversível da função renal. Com ela, os néfrons remanescentes, saudáveis ou menos lesados, tendem a compensar a falta de massa renal destruída, hipertrofiando e aumentando sua função. Esta adaptação mantém o equilíbrio eletrolítico e ácido-básico, com manifestações clínicas e laboratoriais mínimas. Quando ocorre perda de uma quantidade de néfrons, geralmente maior que 50% da massa renal, mesmo que a causa inicial do dano tenha sido eliminada, há progressão da doença com aumento do declínio da função renal. Proteinúria e glomeruloesclerose focal desenvolvem-se nos néfrons remanescentes. A progressão da perda da função renal leva à insuficiência renal terminal, com conseqüências metabólicas, apresentando sinais e sintomas variáveis e progressivamente intensos. Os termos síndrome urêmica ou uremia referem-se ao conjunto de sinais e sintomas apresentados pelos pacientes renais crônicos, que são conseqüência ou estão associados às doenças que evoluem para a redução progressiva da massa renal (Barros et al., 1999).

Os fatores etiológicos da IRC envolvem doenças primárias do rim, doenças sistêmicas e doenças hereditárias. As suas causas mais comuns são: diabetes melito, glomerulonefrites, nefrosclerose hipertensiva, doença renovascular, rins policísticos, uropatias obstrutivas e mal formações congênitas (Nissenson, 2002). Porém, duas situações são etiopatogenicamente mais importantes: o diabetes melito e a hipertensão arterial sistêmica, ambas condições prevalentes na população em geral.

Entretanto, do ponto de vista de saúde pública, a IRC não costuma ser lembrada como problema freqüente ou causador de alta mortalidade, mas sim pelo seu alto custo social, que é desproporcional à sua incidência.

O tratamento da IRC terminal envolve alguma forma de diálise ou transplante renal, este disponível apenas a uma minoria dos pacientes afetados. O crescimento no número de pacientes em diálise, a possibilidade de tratamento para pacientes mais graves que no passado e a maior disponibilidade para transplante renal ocasionaram um aumento no número de pacientes em tratamento dialítico crônico em todo o mundo nos últimos anos.

Segundo o Censo Nefrológico, divulgado pela Sociedade Brasileira de Nefrologia, no ano de 2001 existiam no Brasil 518 centros de tratamento de doenças renais com um total de 48.806 pacientes atendidos. Destes, 89,53% realizavam hemodiálise (HD). Neste período, o Sistema Único de Saúde (SUS) gastou R\$ 727,7 milhões para pagamento de terapia renal substitutiva, o que corresponde a 14,6% do total de gastos ambulatoriais. Estes números tornaram-se maiores e, no censo 2002, já existiam no Brasil cerca de 560 centros de tratamento, com 54.523 pacientes, estando 89,63% em HD.

HD é definida como um processo de transferência de massa baseado na difusão entre sangue e líquido de diálise, modulado por uma membrana semipermeável (Thomé et al., 1999).

Através de acessos vasculares é obtido o sangue para HD, sendo impulsionado para um sistema de circulação sangüínea extracorpórea, passando por um sistema formado pelo fornecimento de líquido de diálise e um filtro com uma membrana semipermeável, no qual sangue e líquido de diálise se encontram, permitindo trocas de água e soluto por difusão. O líquido de diálise é composto por uma solução concentrada de eletrólitos e uma quantidade de água purificada que a dilui. Essa solução é então aquecida e deaerada, para que possa então entrar em contato com o sangue. O filtro dialisador compreende dois compartimentos: um por onde circula o sangue e o outro a solução de diálise. A comunicação ocorre por uma membrana semipermeável disposta de modo a ampliar ao máximo a área de contato entre os dois líquidos. Cada compartimento tem um ponto de entrada e outro de

saída e, a circulação ocorre num sentido de contracorrente. A membrana dialisadora pode estar disposta em paralelo formando placas ou constituindo finos tubos capilares dispostos em feixe. O sangue entra por uma ponta, distribuindo-se por dentro desses inúmeros capilares, até sair na outra extremidade. Externamente a essas fibras circula a solução de diálise.

O material que compõe a membrana de diálise pode ser de três tipos distintos: celulose e análogos (cuprofan); celulose substituída (acetato de celulose); e membranas sintéticas (poliacrilonitrila, polissulfona). A biocompatibilidade das membranas sintéticas é maior que a das outras, enquanto as de celulose modificada são mais biocompatíveis do que a das membranas de celulose.

A HD intermitente é uma modalidade de HD em que os fluxos de sangue e de líquido de diálise são relativamente altos, 300 ml/min e 500 ml/min, respectivamente, propiciando depurações elevadas. Realizam-se em média sessões de quatro horas de tratamento, duas a três vezes por semana, conforme as necessidades do paciente.

1.2 Aspectos Pulmonares

O estado urêmico representa não somente a falência da excreção renal, mas também das funções metabólicas e endócrinas dos rins, afetando todos os órgãos do corpo. A disfunção pulmonar pode ser resultado direto da circulação de toxinas urêmicas ou pode resultar da sobrecarga de volume, anemia, imunossupressão, desequilíbrio ácido-básico, e/ou má nutrição. Em contraste com outros órgãos os pulmões são afetados por ambos, doença (uremia) e tratamento, HD ou diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD).

A CAPD pode levar a uma elevação e alongamento diafragmático, redução na capacidade residual funcional, atelectasias basais, possível hipoxemia e alteração na função muscular respiratória (Prezant, 1990). O tratamento com HD leva geralmente, no início da diálise a hipoxemia. A bioincompatibilidade da membrana de diálise leva a ativação de complementos, seqüestração de leucócitos na vasculatura pulmonar,

com leucopenia, aumento do gradiente alvéolo-capilar e diminuição na capacidade de difusão.

1.2.1 Pressões Respiratórias Máximas

O desempenho ventilatório depende das propriedades mecânicas dos pulmões, da parede torácica, e da atividade dos músculos respiratórios. Pela sua importância, a avaliação dos mesmos torna-se indispensável.

A avaliação dos músculos dos membros pode ser realizada diretamente através da força que os mesmos podem desenvolver no levantamento de pesos. Porém, os músculos respiratórios só podem ser avaliados indiretamente, pela mensuração de pressões exercidas contra via aérea ocluída (Gibson, 1996).

O exame para avaliação da força muscular respiratória, também chamado de manovacuometria, é um procedimento largamente utilizado por médicos e fisioterapeutas em clínicas de reabilitação pulmonar, auxiliando no diagnóstico de doenças respiratórias e ajudando a estabelecer protocolos de tratamento ou treinamento físico geral e, em especial, da musculatura respiratória. Por sua vez, nas unidades de terapia intensiva, auxilia na avaliação da mecânica respiratória e na indicação de intubação e extubação (Azeredo, 1996). A manovacuometria, além de ser um procedimento eficiente no diagnóstico e tratamento de problemas respiratórios, tem grande vantagem por ser um procedimento não invasivo, relativamente barato e por poder ser realizado tanto à beira do leito como no ambulatório (Do Valle et al., 1997).

O método de avaliações pressóricas, com mensuração da pressão inspiratória máxima (PI_{máx}) e pressão expiratória máxima (PE_{máx}), utilizando o manovacuômetro, avalia em conjunto a força dos músculos inspiratórios ou expiratórios, e não de cada músculo isoladamente (Costa, 1999). A mensuração seqüencial das pressões respiratórias máximas permite quantificar a progressão da fraqueza muscular respiratória em pacientes com doenças neuromusculares (Camelo, 1985). Além disso, o manovacuômetro pode ser utilizado para treinamento da musculatura respiratória (Do Valle et al., 1997; Costa, 1999).

O manovacuômetro deve permitir uma leitura estável e estar graduado em cmH₂O positivo e negativo (Black & Hyatt, 1969; Black & Hyatt, 1971; Do Valle et al., 1997).

A força dos músculos inspiratórios é determinada pela mensuração da pressão inspiratória máxima – P_{Imáx} (pressão negativa), e a força dos músculos expiratórios é determinada pela mensuração da pressão expiratória máxima – P_{Emáx} (positiva) (Irwin & Tecklin, 1994).

Para que se possa avaliar de forma precisa a força dos músculos respiratórios é importante que se saiba quando os músculos estão em comprimento ótimo, ou seja, quando a máxima tensão possa ser gerada pelo mesmo, uma vez que em diferentes comprimentos exibe um comportamento força-tensão característico. Em outros comprimentos, que não seu comprimento ótimo, menor tensão será gerada. Os músculos expiratórios, músculos da parede torácica e, abdominais, estarão em seu comprimento ótimo próximo à capacidade pulmonar total e os músculos inspiratórios, principalmente diafragma, terão seu comprimento ótimo próximo ao volume residual (Silva et al., 2000).

Para uma avaliação adequada da força muscular inspiratória, a determinação da P_{Imáx} deve iniciar a partir do volume residual (VR) (Souza, 2002). VR é o volume de ar que permanece nos pulmões após esforço expiratório máximo, e corresponde a 20 a 30% da capacidade pulmonar total (Gibson, 1996).

A medida da P_{Imáx} a partir do VR deve ser realizada com a pessoa sentada, utilizando peça bucal e pinça nasal. Solicita-se uma expiração máxima até o nível de volume residual e, imediatamente após um esforço inspiratório máximo, que deve ser mantido por pelo menos um segundo, a leitura do valor da manobra é feita diretamente no visor do manovacuômetro (Neder et al., 1999; Blach & Hyatt, 1969; Smyth et al., 1984).

O aprendizado exerce um efeito nítido sobre os resultados alcançados com a técnica de mensuração das pressões máximas respiratórias. À medida que o indivíduo realiza sucessivos esforços inspiratórios máximos, o valor médio da P_{Imáx} vai aumentando. Nos pacientes com limitação crônica ao fluxo aéreo, o valor mais elevado costuma ser obtido na 9ª manobra.

Pela praticidade, a maioria dos autores têm limitado a cinco o número de manobras (Souza, 2002).

Atualmente recomenda-se que seja cinco o maior número de manobras realizadas, sendo que, três devem ser aceitáveis. Anota-se a pressão mais elevada da manobra após o primeiro segundo. Entre as manobras aceitáveis, deve haver pelo menos duas reprodutíveis, ou seja, que os valores aceitáveis não difiram entre si mais que 10% do valor mais elevado (Souza, 2002).

A avaliação da força muscular expiratória deve ser avaliada iniciando a mensuração da PEmáx a partir da capacidade pulmonar total (CPT).

CPT refere-se ao volume máximo que os pulmões podem alcançar, ou seja, é a quantidade de ar nos pulmões após uma inspiração máxima (Gibson, 1996).

Para realizar a mensuração da PEmáx a partir da CPT, utilizando a mesma técnica da PImáx, solicita-se uma inspiração máxima até o indivíduo alcançar a CPT. A leitura é realizada após um esforço expiratório máximo, empregando-se as mesmas regras utilizadas para a mensuração da PImáx (Souza, 2002).

Existe grande variação na referência dos valores normais, provavelmente devido ao efeito de aprendizagem da técnica, aos distintos procedimentos utilizados para seleção de amostras, ao pequeno tamanho de algumas amostras e às diferenças de equipamentos e técnicas.

Jardim (1982), cita como normais valores para a pressão inspiratória máxima de 125 cmH₂O e para pressão expiratória máxima de 230 cmH₂O, em adultos jovens do sexo masculino. Para o sexo feminino, cita que os valores costumam ser cerca de setenta por cento dos valores do sexo masculino. Para ambos os sexos, ocorre uma diminuição de 0,5 cmH₂O por ano após a idade de vinte anos. Para este autor, a diminuição das pressões respiratórias máximas com a idade, o menor valor no sexo feminino e a variação que existe entre os indivíduos, são semelhantes aos observados para a força máxima de outros músculos esqueléticos.

Em um estudo realizado por Camelo et al., (1985) os valores obtidos para PEmáx são 249 ± 33 nos homens, e 155 ± 35 nas mulheres ($p < 0,001$). Para PImáx os valores obtidos foram 131 ± 28 para homens e 95 ± 28 para as mulheres

($p < 0,001$). Neste grupo, foram estudados sessenta indivíduos adultos normais, trinta homens e trinta mulheres, com idades entre 20 e 49 anos, sendo dez homens e dez mulheres em cada década. Pôde-se observar que os valores para PEmáx foram bem superiores aos obtidos na Plmáx e que os valores obtidos pelos homens foram superiores aos obtidos pelas mulheres. Não foi observada regressão significativa da pressão respiratória máxima com a idade.

Azeredo (1996), refere como normais para Plmáx em adultos normais valores na faixa de -90 a -120 cmH₂O e para PEmáx valores entre 100 a 150 cmH₂O. Black & Hyatt (1969), obtiveram, para homens, valores para PEmáx de 233 ± 42 e para Plmáx valores de 124 ± 22 . Para as mulheres, valores para PEmáx de 157 ± 27 e para Plmáx de 87 ± 16 . Neste estudo foram analisados trinta homens e trinta mulheres com idade entre 20 e 54 anos. Schmidt et al., (1999), realizaram a mensuração da Plmáx e PEmáx em um grupo de crianças e adolescentes entre 6 e 14 anos. Foram estudados 672 indivíduos, sendo 343 do sexo masculino e 329 do sexo feminino. Os maiores valores observados, tanto para Plmáx quanto para PEmáx, foram os obtidos por ambos os sexos na faixa dos catorze anos. Os valores obtidos pelo sexo feminino corresponderam a 84% dos valores obtidos pelo sexo masculino, tanto para Plmáx quanto para PEmáx.

Observando as referências acima, verifica-se que os valores obtidos para PEmáx são maiores que os encontrados para Plmáx e que os valores obtidos pelos homens são maiores que os obtidos pelas mulheres.

Os valores previstos mais utilizados são os estabelecidos por Black & Hyatt (1969), separados por sexo e tendo a idade como determinante. Para homens, os valores previstos são: Plmáx VR(cmH₂O) = $143 - (0,55 \times \text{idade em anos})$, para PEmáx CPT(cmH₂O) = $268 - (1,03 \times \text{idade em anos})$. Para mulheres, os valores previstos são: Plmáx VR(cmH₂O) = $104 - (0,51 \times \text{idade em anos})$, para PEmáx CPT(cmH₂O) = $170 - (0,53 \times \text{idade em anos})$.

Quando o valor medido é inferior ao limite previsto, teremos a redução anormal. A Plmáx VR e a PEmáx CPT estarão diminuídas quando há redução na força muscular.

Em distintas situações patológicas podem ocorrer alterações na força contrátil dos músculos respiratórios que, dependendo da intensidade e da quantificação da perda, podem ser classificadas em fraqueza muscular, fadiga muscular e falência muscular respiratória. A simples mensuração das pressões respiratórias máximas com um manovacuômetro pode determinar com excelente precisão as alterações quantitativas da força muscular respiratória (Azeredo, 2002).

Segundo Azeredo (2002), em ambos os sexos, a partir dos 20 anos de idade ocorre, um decréscimo anual de 0,5 cmH₂O. Os conceitos de fraqueza, fadiga e falência muscular respiratória podem ser correlacionados e diagnosticados com a mensuração criteriosa e sistemática da P_{Imáx} e P_{Emáx}, desde que esses valores sejam continuamente observados na clínica do paciente.

1.2.2 Pico de Fluxo Expiratório (PFE) ou *Peak Flow*

Esta variável representa o fluxo máximo de ar durante a manobra de capacidade vital forçada. Esta grandeza é expressa em litros por segundo (BTPS) (Pereira, 2002).

O PFE corresponde ao extremo superior da curva expiratória, devendo ser obtido através de um esforço máximo e explosivo inicial. Este é um parâmetro espirométrico obtido da curva fluxo-volume (Pereira, 2002).

O *Peak Flow* é um parâmetro utilizado para a avaliação de curvas aceitáveis para a interpretação de espirometrias. Para que se aceite as curvas é necessário que o PFE das curvas varie menos que 0,5 L/s entre os três maiores picos de fluxo.

O PFE é um parâmetro expiratório esforço-dependente que reflete o calibre das vias aéreas proximais. A interpretação de redução do PFE se dá apenas quando valores reprodutíveis forem obtidos. A dependência do esforço torna a medida de PFE um índice interessante para avaliar a colaboração do paciente na fase precoce da expiração (Pereira et al., 1996). O PFE pode também, ser utilizado como um índice da capacidade de tossir, ou indiretamente da força expiratória.

A medida do *peak flow* tornou-se popular devido à introdução de aparelhos portáteis realizada por Wright na década de 60. Esses aparelhos portáteis são

bastante simples, acessíveis e muito úteis, pois podem ser utilizados em ambulatorios, emergência e domicílio (Dias et al., 2001; Silva et al., 2000).

O princípio para a realização da medida do *peak flow* por estes aparelhos portáteis é bastante simples: faz-se a manobra de CVF com esforço máximo concentrado no início da expiração, através de um resistor ou de um tubo de fluxo com um cursor conectado. A mobilização do cursor é proporcional ao fluxo aéreo através do dispositivo.

A técnica para avaliação do PFE em aparelhos portáteis deve ser realizada da seguinte forma: primeiramente o paciente deve realizar uma inspiração máxima até CPT, o paciente deve adaptar os lábios ao bocal e em seguida deve soprar o mais forte e rápido possível, sem colocar a língua na peça bocal. A pausa entre a inspiração total e a expiração forte não deve ser maior que dois segundos. Não há necessidade de realizar uma expiração prolongada como na espirometria, basta eliminar o ar até o terceiro segundo expiratório.

Após o treinamento supervisionado, três medidas devem ser realizadas com intervalo de 30 segundos entre elas, aceitando-se o limite de diferença de 10% (Dias et al., 2001; Silva et al., 2000).

A medida do PFE deve ser realizada preferencialmente na posição supina. Variações devido ao posicionamento do paciente não têm relevância prática. É importante observar a posição do pescoço, que deve estar em posição neutra para não gerar fluxos maiores no caso de uma hiperextensão ou menores no caso de uma flexão. Não há necessidade de grampo nasal para a realização desta manobra (Pereira, 2002).

A reprodutibilidade dos valores do PFE é ainda bastante discutida entre os autores. Burge et al., (1993), propuseram que, para serem aceitos, os dois melhores registros de três manobras deveriam apresentar entre si uma diferença menor que 20 L/min. O Consenso Brasileiro no Manejo da Asma (1998) recomenda que esta variação não seja superior a 40 L/min. Dahlquist et al., (1993), recomendam duas medidas com variação menor que 10% entre as mesmas.

O PFE apresenta grande correlação com o volume expiratório forçado no primeiro segundo da manobra de capacidade vital forçada. O técnico que realiza este

exame deve estar bastante atento para evitar resultados falsos e dissociados do VEF₁, pois pacientes que tosse no momento da manobra podem produzir resultados falsamente elevados (Pereira et al., 1996).

1.2.3 Prova de Função Pulmonar Respiratória: Espirometria

As provas de função pulmonar traduzem, de forma qualitativa e quantitativa, aspectos aplicados da função pulmonar. Um dos testes utilizados para avaliar a capacidade ventilatória é a espirometria.

A palavra espirometria (do latim spirare = respirar + metrum = medida), é a medida do ar que entra e sai dos pulmões.

A espirometria é a prova de função pulmonar mais simples e importante na clínica pneumológica. Determina volumes pulmonares estáticos e dinâmicos, bem como capacidades pulmonares, com exceção do volume residual (VR) e da capacidade pulmonar total (Pereira, 2002; Menna Barreto, 2002; Azeredo, 2002).

Este exame avalia a função ventilatória, isto é, a medida do movimento de ar para dentro e para fora dos pulmões durante manobras respiratórias que podem ser simples, combinadas, forçadas ou lentas (Pereira, 2002).

A espirometria é um teste que auxilia na prevenção e permite o diagnóstico e quantificação dos distúrbios ventilatórios (Pereira, 2002). A espirometria é um exame simples e de fácil compreensão, sendo seus resultados confiáveis e reproduzíveis. Pode ser realizada de maneira ideal em um laboratório de função pulmonar com equipamentos sofisticados, mas pode também ser realizada no consultório ou até mesmo à beira do leito com equipamentos relativamente simples (Pereira, 2002; Azeredo, 2002).

Esta prova de função pulmonar ventilatória permite conhecer com detalhes o grau e o tipo de distúrbio que envolve o sistema respiratório, mensurando com fidelidade a contribuição de todos os componentes do sistema (Azeredo, 2002).

Através dos gráficos espirométricos pode-se detectar os distúrbios funcionais da doença tóraco-pleuropulmonar e fazer análise dos padrões ventilatórios (obstrutivo, misto ou restritivo) (Costa, 1999). Segundo Pereira et al., (1996), os

testes de função pulmonar podem dar informações secundárias ou ter um papel central na avaliação de doentes pulmonares. Entre as aplicações deste exame pode-se citar: identificação de doença, diagnóstico e detecção de doença precocemente, investigação de dispnéia, acompanhamento e resposta a tratamentos, avaliação pré e pós-operatória de cirurgias cardíacas, pulmonares, abdominal alta e baixa quando o procedimento for extenso e prolongado e também em outras cirurgias, especialmente de cabeça e pescoço. Além disso, através da espirometria pode-se avaliar a eficácia de broncodilatadores e, a partir desses resultados, determinar se a obstrução é reversível ou irreversível (Costa, 1999).

O estudo espirométrico clássico de rotina consiste na análise da curva e dos valores expiratórios derivados da capacidade vital forçada. É a espirometria expiratória forçada, também chamada de espirograma expiratório forçado. A espirometria, como medida da capacidade ventilatória forçada, é o resultado de todos os atributos mecânicos do sistema tórax-pulmão, é o registro objetivo dos volumes pulmonares dinâmicos e do fluxo aéreo (Pereira, 2002).

Para se avaliar volumes e capacidades pulmonares de um indivíduo, é necessário que seus dados sejam comparados a valores-padrão médios esperados. Para isto, valores previstos de normalidade são provenientes de tabelas ou de equações obtidas de um número razoável de indivíduos, sem doença pulmonar e não fumantes, que levam em conta medidas antropométricas como peso e altura e também o sexo e a idade do indivíduo.

A manobra expiratória forçada, realizada para avaliação espirométrica, consiste em solicitar ao indivíduo uma inspiração máxima até CPT e imediatamente após uma expiração tão rápida e intensa quanto possível até que todo o ar possível de ser expirado possa ser exalado. A pausa pós-inspiratória é um detalhe a ser observado. A mesma não deve exceder três segundos, pois a inspiração máxima produz broncodilatação e mudanças de retração elástica (Pereira et al., 1996).

É indispensável que o indivíduo realize a manobra com esforço máximo para mensuração adequada da CVF (Pereira, 2002).

A espirometria mede o volume de ar mobilizado pela manobra expiratória forçada. Porém, sabe-se que após uma expiração máxima uma quantidade de ar

permanece nos pulmões, o VR. Este, portanto, não pode ser medido pela espirometria, bem como a CPT, já que o VR faz parte desta capacidade pulmonar.

A espirometria, através da manobra expiratória forçada, expressa-se através de duas relações: a curva fluxo-volume e a curva volume-tempo.

A curva fluxo-volume avalia o fluxo associado ao volume pulmonar correspondente. É a análise gráfica e numérica dos fluxos instantâneos gerados durante manobra de CVF contra mudanças de volume. A curva fluxo-volume, mostra que os fluxos são máximos no início da expiração, próximo a CPT, havendo redução do fluxo à medida que o volume se aproxima do VR. Os fluxos no início da expiração, próximos ao PFE, representam a porção esforço-dependente da curva, porque podem ser aumentados com maior esforço por parte dos indivíduos. Após expiração de 30 a 50% da CVF, os fluxos expiratórios fazem parte da porção esforço-independente da curva. Os fluxos terminais são indicadores das propriedades de fluxo aéreo a baixos volumes pulmonares, relacionados às condições elásticas e de permeabilidade (Pereira et al., 1996). Portanto, as principais variáveis observadas na curva fluxo-volume são: a área da curva; o PFE; fluxo instantâneo máximo a 50% da CVF (FEF_{50}); fluxos terminais, como a 75% da CVF (FEF_{75}); inclinação do braço da curva expiratória; e também a curva fluxo-volume inspiratória.

A principal variável observada na curva expiratória volume-tempo é o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF_1). Redução no VEF_1 caracteriza alteração na capacidade ventilatória. Já VEF_1 dentro de valores previstos indica normalidade da função ventilatória. O grau de obstrução também é determinado de acordo com a avaliação da alteração do VEF_1 (Knudson et al., 1979; Pereira et al., 1996; American Thoracic Society, 1991).

Alguns critérios devem ser observados para que se obtenha uma espirometria de boa qualidade. Os critérios preconizados por este são: pelo menos três testes aceitáveis; inspiração máxima antes do início da manobra; início satisfatório com evidência de esforço máximo; diferença do PFE entre as três curvas aceitáveis menor que 0,5 L/s ou 10%, o que for maior; e expiração sem hesitação. O teste deve ter duração de no mínimo seis segundos. Já em pacientes com obstrução espera-se um teste com duração de aproximadamente 10s, sendo o ideal em torno de 15s.

Entre os critérios para determinar o término do exame estão: platô no último segundo, desconforto acentuado ou risco de síncope. Não devem estar presentes durante a manobra: tosse no primeiro segundo, vazamento de ar, obstrução da peça oral, manobra de Valsalva e ruído glótico (Pereira, 2002).

Os resultados obtidos nas manobras para os dois maiores valores de CVF e VEF₁ não devem diferir mais que 0,15 L. Estes critérios devem ser preenchidos no máximo em oito manobras expiratórias, se isto não ocorrer o exame deve ser interrompido e a interpretação deve ser realizada usando os três melhores testes. A obtenção das curvas para interpretação deve ser realizada selecionando inicialmente os testes de qualidade aceitável. A seguir, escolhe-se a maior CVF e o maior VEF₁ das curvas com PFE aceitáveis. Já os fluxos instantâneos devem ser retirados da curva com maior soma da CVF e VEF₁, obedecendo critério anterior (Pereira, 2002).

1.2.4 Avaliação dos Gases Sangüíneos – Gasometria e Oximetria

Os gases sangüíneos são o resultado de todos os processos envolvidos na respiração. Por isso, o estudo destes é fundamental na avaliação da função respiratória (Cardoso,1997). Muitos estudos e progressos têm sido efetuados no desenvolvimento de técnicas não invasivas para o estudo dos gases sangüíneos. Das técnicas não invasivas, a mais difundida é a oximetria de orelha ou de pulso. Atualmente é uma técnica fundamental em muitas situações, como por exemplo: avaliação do comportamento do sono, no exercício, na regulação da prescrição de O₂, na monitoração de técnicas invasivas, como adjuvantes no bloco operatório ou, ainda, nas unidades de terapia intensiva (Cardoso,1997).

A oximetria permite a estimativa da saturação de O₂ através de uma técnica espectrofotométrica, ou seja, que mede a variação pulsátil de transmissão de luz (Winck & Ferreira, 1998; Silva et al., 2000).

As grandes vantagens da oximetria são o seu caráter não invasivo, a medição contínua e a resposta rápida, o que permite o conhecimento imediato da hipoxemia. A oximetria diminui na presença de hemoglobina anormal, hipotermia e anemia (Winck & Ferreira, 1998).

Os resultados da oximetria são acurados, a técnica é simples e de baixo custo. Valores acima de 90% costumam corresponder a uma pressão parcial de oxigênio (PO_2) acima de 60 mmHg indicando aporte satisfatório de O_2 ao organismo (Silva et al., 2000).

O estudo dos gases no sangue arterial é seguramente o teste de função respiratória mais utilizado nos dias de hoje. A gasometria arterial é uma prova de função respiratória importante e de fácil execução (Gibson, 1996). A análise dos gases sangüíneos permite uma informação global e em tempo real dos diversos processos envolvidos na respiração e no equilíbrio ácido-básico. A facilidade de obtenção das amostras, independente do estágio da doença, sem necessidade nem dependência da colaboração do paciente, e a possibilidade de obter rapidamente resultados com os modernos analisadores automatizados, são também fatores de sua generalização (Cardoso, 1997).

A gasometria avalia repercussões nos gases, o nível de ventilação alveolar e o equilíbrio ácido-básico. Se a gasometria arterial demonstrar hipoxemia grave em repouso ou hipoxemia com hipercapnia, não se justifica o aprofundamento da análise funcional respiratória. O paciente já é considerado inapto para qualquer atividade laborativa.

As indicações para realização de gasometria mais comumente encontradas são: confirmação do diagnóstico de insuficiência respiratória; acompanhamento do tratamento da insuficiência respiratória; estudos de alterações ocorridas durante exercício ou com enriquecimento do ar inspirado com O_2 ; avaliação dos distúrbios de trocas gasosas em pacientes com doença obstrutiva crônica; avaliação dos distúrbios de trocas gasosas durante o exercício; diagnóstico de *shunt* arteriovenoso; e diagnóstico de alterações metabólicas primárias como acidose diabética.

A amostra dos gases sangüíneos é normalmente obtida a partir do sangue arterial. O melhor local para a coleta da amostra é a artéria radial. Habitualmente é extraída por agulha e seringa, mas é cada vez mais freqüente a utilização de cateter intra-arterial sempre que são necessárias coletas repetidas. Outros locais para punção são a artéria femoral e umeral (Cardoso, 1997).

Entre as causas mais comuns de hipoxemia pode-se citar: hipoventilação alveolar, não uniformidade da ventilação/perfusão, curto-circuito *shunt* direita-esquerda e alteração difusional (West, 1996; Viegas, 2002).

O primeiro ponto a ser analisado é a pressão parcial de gás carbônico (PCO_2). Elevação da PCO_2 indica que a ventilação alveolar é inadequada. O segundo passo é a avaliação da PO_2 e dos parâmetros calculados, saturação de O_2 e conteúdo de O_2 . A avaliação da oxigenação deve ser preferencialmente realizada a partir da PO_2 e não da saturação.

Segundo Cardoso (1997), a existência de valores considerados normais é essencial para avaliação de qualquer teste. Para pH, os valores considerados normais ficam entre 7,35 e 7,45, para PCO_2 entre 35 e 45 mmHg e para PO_2 entre 80 e o máximo de 100 mmHg para um fração inspirada de O_2 (FiO_2) de 21%.

Pacientes que apresentam a PO_2 menor que 55 mmHg e a PCO_2 maior que 45 mmHg têm maior probabilidade de desenvolver insuficiência respiratória aguda em pós operatório. Esses níveis são contra-indicações relativas para cirurgias de ressecção de parênquima. A retenção de CO_2 , hipoventilação alveolar difusa, demonstra a gravidade da doença de base e é incomum quando o VEF_1 excede a um litro (Dias et al., 2001; Silva et al., 2000).

1.2.5 Aspectos Pulmonares dos Doentes Renais

Pacientes com doença renal aguda ou crônica, tratados ou não com diálise, desenvolvem freqüentemente complicações pulmonares como edema, derrame pleural e infecção.

Alterações mecânicas e hemodinâmicas podem ocorrer nos pulmões de pacientes com insuficiência renal crônica. Essas mudanças podem ocorrer sem sintomas pulmonares óbvios podendo levar à desordens pulmonares (Kalender et al., 2002).

Em pacientes com doença renal crônica as forças pressóricas na equação de Starling geralmente favorecem o edema pulmonar secundário. Pressões hidrostáticas na circulação central podem estar altas em função do aumento do

volume intravascular, doença cardíaca ou ambos. A pressão oncótica pode também estar baixa por causa da hipoproteinemia, predispondo para edema pulmonar.

Essas alterações presentes nas pressões vasculares, por si só, podem levar à formação de infiltrados e edema pulmonar. Porém, a função pulmonar parece estar alterada na insuficiência renal crônica por diferentes mecanismos: sobrecarga de fluidos (alterando pressões vasculares), infecções respiratórias, acidose, fibrose pulmonar, calcificações e alterações na ventilação/perfusão do pulmão de pacientes urêmicos (Davenport & Williams, 1988; Paul et al., 1991; Bush & Gabriel, 1991; Morris & Bernard, 1995).

As complicações pulmonares observadas com maior frequência em doentes renais crônicos são edema pulmonar clínico ou subclínico e derrame pleural. Porém, além destas, observa-se também a ocorrência de fibrose pulmonar, hipertensão pulmonar e fibrose pleural (Kalender et al., 2002).

Segundo Alves et al., (1989), as alterações pulmonares, geralmente designadas por pulmão urêmico, caracterizam-se por edema peri-hilar bilateral e parecem estar relacionadas com aumento da volemia e com valores séricos muito altos de substâncias osmoticamente ativas. Com o início do tratamento hemodialítico, entretanto, desaparecem rapidamente sem deixar seqüelas.

Uma das informações postuladas é que o efeito HD gera um aumento da ventilação nas áreas basilares do pulmão, gerando um aumento da capacidade vital em pacientes urêmicos com edema pulmonar. Essas mudanças são explicadas pela diminuição do conteúdo de água nos pulmões desde que o edema intersticial seja razoavelmente pequeno causando fechamento relativo das vias aéreas (Morris & Bernard, 1995).

A causa mais importante do edema pulmonar em pacientes em diálise é a não conformidade por parte dos pacientes com a restrição líquida imposta pela doença. Uma situação bastante freqüente especialmente em pacientes que não tem ou que tem diurese residual desprezível.

Complicações pulmonares são comuns em pacientes em estágio final da doença renal. Apesar dos avanços tecnológicos com relação às terapias de substituição, permitindo prolongar a vida dos pacientes urêmicos, anormalidades

como hiperemia, bronquite e fibrose intersticial são comumente encontradas em autópsias de pacientes em hemodiálise crônica (Chan et al., 1996).

Em estudo realizado por Davenport & Williams (1988), os autores observaram uma queda no pico de fluxo expiratório (PFE) na metade da primeira hora de diálise, aumentando nas horas seguintes e apresentando nova queda após quatro horas de diálise. Contudo, antes mesmo desses pacientes serem conectados às máquinas de hemodiálise, os valores medidos para PFE, que foram calculados de acordo com o sexo, idade e altura, eram bem mais baixos que os valores previstos de normalidade calculados para os mesmos. Os autores acreditam que essa queda no PFE, acompanhada de queda na pressão parcial de O₂, seja devido à incompatibilidade com a membrana de diálise, neste caso a Cuprophane Dialiser. A hipoxemia apresentada por estes pacientes parece não ter ocorrido devido à queda no *peak flow* mas, devido à broncoconstrição apresentada que pode ter piorado por desigualdades na ventilação/perfusão pulmonar.

As mudanças no *peak flow* durante a diálise são provavelmente, reflexo do balanço entre, a melhora esperada devido à remoção dos fluidos durante a diálise e broncoconstrição devido à incompatibilidade da membrana.

Alguns estudos mostraram grande aumento do PFE após a HD em pacientes com perdas de líquido maiores que 2 Kg durante sessão de tratamento. Isso sugere a presença de edema peribrônquico antes da diálise e isso poderia ser a razão para a diminuição do PFE antes da HD quando comparado com o PFE após a HD.

Em estudo realizado por Paul et al., (1991), os autores estudaram a função pulmonar em crianças com doença renal crônica. Neste trabalho eles estudaram 45 crianças comparando-as com crianças controle. As crianças com insuficiência renal crônica estavam em tratamento: conservador, com hemodiálise, através da diálise ambulatorial peritoneal contínua, e pós transplante. As crianças em hemodiálise usavam membranas de cuprofan e acetato de celulose. Destes pacientes, 38% apresentaram CV abaixo do previsto, sendo que, doze pacientes apresentavam CV abaixo do limite inferior da normalidade. Contudo, esses valores não foram estatisticamente significativos. Com relação ao VEF₁, os pacientes em tratamento conservador tinham valores estatisticamente significativos menores que os pacientes

controle. Foi observado, no grupo que realizava hemodiálise, um aumento de 11,7% após a sessão de hemodiálise. Através da espirometria, os autores observaram que os pacientes em HD permaneceram com sua CV praticamente inalterada após a sessão. Porém a variação do VEF₁ foi estatisticamente significativa. Acredita-se que esse aumento seja devido à remoção de fluidos, já que estes causam edema brônquico, e sua remoção reduz também a resistência da via aérea.

A função pulmonar de 80 pacientes foi estudada por Bush & Gabriel (1991). Os pacientes eram adultos, com insuficiência renal crônica e sem doença pulmonar. Destes, 20 eram tratados com tratamento conservador, 20 realizavam HD, 20 realizavam diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD) e 20 haviam realizado transplante renal com sucesso. Dos oitenta pacientes estudados apenas nove apresentaram função pulmonar normal. O controle bioquímico estava melhor apenas nos pacientes transplantados. Os pacientes não apresentavam alteração significativa dos valores espirométricos, porém todos os grupos apresentaram redução na capacidade de difusão do monóxido de carbono. Apenas os pacientes transplantados apresentaram uma redução no VR. A redução na difusão de CO não parece estar relacionada com sobrecarga de líquido. Essa diminuição não era diferente em pacientes com e sem creatinina sérica aumentada. Isso, segundo os autores, pode sugerir que a fibrose pulmonar pode piorar após o transplante.

Segundo Bush & Gabriel (1991), os pacientes em HD apresentaram apenas diminuição na capacidade de difusão. Não foi relatado o tipo de material usado para diálise. Sabe-se, entretanto, que eram de materiais diferentes.

A força muscular respiratória também vem sendo considerada um fator importante do mecanismo pulmonar (Paul et al, 1991). No estudo de Morris & Bernard (1995), valores para PImáx e PEmáx encontrados em pacientes que realizavam HD eram significativamente mais baixos que o esperado para os mesmos e que essa diminuição da força estava associada com elevação do fósforo inorgânico do sangue em nove de dez pacientes com insuficiência renal crônica.

Alves et al., (1989), avaliaram 61 pacientes, sendo 39 homens e 22 mulheres. Cada paciente realizou uma espirometria antes e após uma sessão de HD. Antes e depois da mesma sessão determinaram-se os valores séricos de uréia, creatinina,

potássio, cálcio, fósforo e os valores de hematócrito e hemoglobina, além da medição da pressão arterial e do peso corporal. Neste estudo observou-se um aumento na CV e VEF_1 após a HD. Para a relação VEF_1/CVF a diferença verificada não foi estatisticamente significativa. Os autores não observaram qualquer relação entre a variação do VEF_1 e da CV com a variação dos outros parâmetros avaliados.

1.3 Espécies Ativas de Oxigênio

Radical livre é qualquer molécula capaz de existência independente que possua um ou mais elétrons desemparelhados, geralmente no seu orbital mais externo. São altamente reativos e capazes de agredir qualquer biomolécula (Halliwell & Gutteridge, 1999).

A geração das espécies ativas de oxigênio (EAO) ocorre durante os processos de oxidação biológica, dentre os quais pode-se citar a respiração celular acoplada à fosforilação oxidativa para formação de ATP na mitocôndria. Porém, existe um sistema enzimático redutor que impede a formação de EAO: o sistema Citocromo C Oxidase. Este é o sistema redutor mais eficiente do organismo, pois promove a redução do oxigênio à água em apenas uma etapa, onde o O_2 recebe quatro elétrons de uma só vez sem a formação de EAO. Cerca de 98% do O_2 que o organismo necessita para a vida é reduzido à água pelo sistema citocromo oxidase. Porém, os 2% restantes de O_2 são reduzidos de forma monovalente por outros sistemas não enzimáticos. Neste caso, o O_2 tende a receber um elétron de cada vez gerando compostos intermediários altamente deletérios como visto na figura 1 (Castro et al., 1990). As principais EAO são: ânion radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxil (OH^\cdot) (Voegell, 1992). Ainda deve-se relatar o estado "singlet", que também pode causar danos à célula (Del Maestro, 1980; Meneguini, 1987; Yu, 1994).

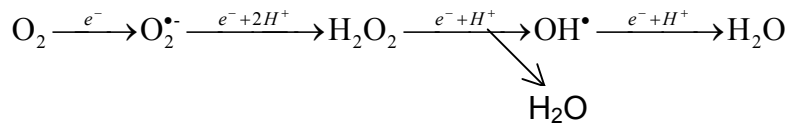


Figura 1. Formação das EAO a partir da redução do O_2 .

Cada EAO possui características e tempo de meia vida próprias, apresentando diferentes reatividades (Yu, 1994). As formas de O_2 mais reativas são os oxigênicos “singlets”, que não possuem restrição de spin e por isso são muito mais reativas que o O_2 molecular em seu estado fundamental (Halliwell & Gutteridge, 1999). O O_2 singlet (O_2) é uma forma reativa do oxigênio, na qual um dos elétrons desemparelhados foi movido do seu estado fundamental, e pode ser gerado pelo fornecimento de energia (Voegell et al., 1992).

O ânion radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet -}$) é o primeiro intermediário da redução monovalente do oxigênio à água. É o principal produto das EAO, a partir do qual serão formadas as demais EAO. Sua dismutação é catalizada pela enzima superóxido dismutase, que é encontrada em quantidades elevadas nas células de mamíferos e que acelera a reação 10^4 vezes a frequência da dismutação espontânea do superóxido num pH fisiológico (Yu, 1994). O peróxido de hidrogênio (H_2O_2), é o segundo intermediário do processo oxidativo, pode ser produzido indiretamente, pela redução univalente do oxigênio, seguida da dismutação do radical superóxido, ou pela redução bivalente do oxigênio molecular. É a forma menos reativa das EAO, porém, pode originar o radical hidroxil (OH^{\bullet}), que é altamente reativo (Del Maestro, 1980; Halliwell & Gutteridge, 1999).

O radical hidroxil é um dos mais potentes oxidantes. Ele é formado através de reações que necessitam da presença de íons metais de transição como ferro e o cobre. A reação do peróxido de hidrogênio com íons ferroso ou cúprico é chamada de reação de Fenton e leva à produção do radical hidroxil, altamente reativo. Esta reação é apresentada na figura 2.

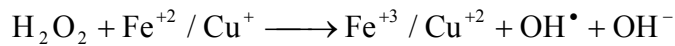


Figura 2. Reação de Fenton

Este radical pode também ser formado a partir da reação do ânion superóxido com o peróxido de hidrogênio em presença de íons divalentes de metais de transição. Esta reação foi descrita por Haber-Weiss em 1934, e é representada na figura 3.

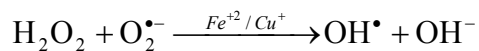


Figura 3. Reação de Haber-Weiss

1.3.1 Estresse Oxidativo

A vida em aerobiose é caracterizada pela produção contínua de EAO, que é contrabalançada pelo sistema de defesa antioxidante. Em condições fisiológicas, o balanço entre agentes pró-oxidantes e as defesas antioxidantes se mantém equilibrado. Quando ocorre aumento na produção de EAO, diminuição das defesas antioxidantes ou ambas as situações, o equilíbrio entre pró-oxidantes e antioxidantes é rompido em favor dos agentes pró-oxidantes. Nesta situação, diz-se que a célula ou organismo se encontra sob estresse oxidativo com potenciais danos (Belló-Klein, 2002; Llesuy, 2002).

Os radicais livres se formam em sistemas biológicos e são reativos pela sua natureza radicalar. A toxicidade do estresse oxidativo sobre as células pode se dar de diferentes maneiras: através da lipoperoxidação das membranas celulares ou intracelulares, degradação de proteínas, dano ao DNA e inativação enzimática.

O mecanismo exato pelo qual as células são injuriadas não é bem claro. As EAO modificam a maior parte das biomoléculas, como ácidos nucleicos, ácido hialurônico, colágeno e enzimas. Porém a maior atividade é sobre os lipídios

insaturados das membranas biológicas, podendo destruí-las levando à morte da célula (Voegell et al., 1992).

O processo pelo qual as EAO atacam as membranas biológicas é chamado de lipoperoxidação (LPO). A LPO é um processo fisiológico contínuo que ocorre nas membranas celulares. Porém, como as membranas celulares são formadas na maior parte por lipídios insaturados e proteínas, essas membranas ficam muito vulneráveis ao ataque oxidativo. Este processo pode alterar propriedades de membrana, principalmente a permeabilidade e a capacidade de transporte, podendo assim, levar à liberação de enzimas que degradam os lisossomas destruindo as células e levando à morte celular (Meneghini, 1987).

A LPO é um processo de reação em cadeia que pode ser dividido em três etapas: iniciação, propagação e terminação (Llesuy, 2002).

O radical hidroxil é freqüentemente reconhecido como a espécie iniciadora mais importante da LPO (Ferreira & Matsubara, 1997).

As proteínas também sofrem reações oxidativas iniciadas pelas EAO que levam a alterações nas suas estruturas e nos seus estados conformacionais. Também pode haver ataque ao DNA nuclear pelo radical hidroxil, identificado pela presença de bases oxidadas de DNA como a 8-hidroxideoxiguanosina, assim como o DNA mitocondrial, já que a mitocôndria é grande fonte de EAO (Yu, 1994).

1.3.2 Antioxidantes

Antioxidante é qualquer substância que quando presente em baixas concentrações, comparadas com aquelas do substrato passível de ser oxidado, retarda ou evita de forma significativa a oxidação desse substrato (Halliwell, 1997).

Os antioxidantes são encarregados de manter baixas as concentrações de EAO. Atuam prevenindo a formação dessas espécies ou combatendo-as uma vez que tenham sido formadas (Llesuy, 2002). Essas substâncias minimizam os distúrbios no meio interno e preservam a ótima atividade celular, além de estarem estrategicamente situados nas organelas celulares para que assim possam proteger a célula (Yu, 1994).

As defesas antioxidantes compreendem: agentes que cataliticamente removem radicais livres e outras espécies reativas, como as enzimas superóxido dismutase, catalase e peroxidases; proteínas que minimizam a disponibilidade de pró-oxidantes, como íons ferro e cobre ou como as transferrinas e hepatoglobinas; proteínas que protegem biomoléculas contra dano por outros mecanismos, como as proteínas de choque térmico; e substâncias de baixo peso molecular que combatem EAO e de nitrogênio, glutathione, α -tocoferol, ácido úrico, bilirrubina e outros. Alguns antioxidantes de baixo peso molecular provêm da dieta, especialmente o ácido ascórbico e o α -tocoferol. Existe aí uma relação íntima entre nutrição e defesa antioxidante.

A importância da atividade antioxidante contra o estresse oxidativo depende de qual espécie ativa foi gerada, como é gerada, onde é gerada e qual o alvo de dano que é medido (Halliwell & Gutteridge, 1999).

A atividade das defesas antioxidantes varia com o tipo celular e possivelmente em diferentes células do mesmo tecido. Fluidos extracelulares têm diferentes mecanismos protetores comparados aos intracelulares (Halliwell & Gutteridge, 1999).

Uma substância antioxidante que na fase de iniciação ou propagação da lipoperoxidação age formando um composto menos reativo é chamada de “scavenger”. Se a substância antioxidante absorver energia de excitação dos radicais neutralizando-os, é chamada de “quencher” (Sies, 1999; Halliwell, 1997).

1.3.2.1 Sistemas de Defesa Antioxidantes

Habitualmente, o sistema antioxidante é dividido em sistema enzimático e não enzimático.

Entre as defesas enzimáticas encontra-se a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (Llesuy, 2002; Yu, 1994; Sies, 1999). Estas enzimas evitam o acúmulo de radical superóxido e peróxido de hidrogênio para que não haja produção do radical hidroxil, que é altamente reativo e para o qual não existe um sistema enzimático de defesa (Yu, 1994; Castro et al., 1990).

Nos mamíferos já estão descritas três isoformas de SOD: a citosólica, que contém em sua estrutura cobre (Cu) e zinco (Zn); a mitocondrial que contém manganês (Mn) e por último uma forma extracelular que também contém Cu-Zn em sua estrutura (Llesuy, 2002).

A superóxido dismutase, nas suas diferentes isoformas, eficazmente dismuta dois íons superóxido formando peróxido de hidrogênio e oxigênio, figura 4. Esta reação é extremamente vantajosa para o organismo uma vez que o peróxido de hidrogênio é menos reativo e possui um sistema antioxidante eficaz contra ele. Esta reação pode ocorrer em pH fisiológico. Porém, na presença de SOD, a velocidade desta reação é 10^4 vezes maior (Yu, 1994; Halliwell & Gutteridge, 1999).

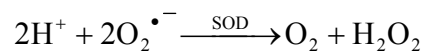


Figura 4. Dismutação do radical superóxido pela SOD

A SOD extracelular é uma glicoproteína com estrutura tetramérica. Esta isoforma é a responsável pela maior parte da atividade da SOD no plasma (Llesuy, 2002).

A produção do peróxido de hidrogênio é um evento fisiológico diretamente relacionado ao consumo de O_2 . Nos mamíferos, o H_2O_2 não só é detoxificado pela catalase, figura 5, como também pelas peroxidases formando água e oxigênio (Llesuy, 2002). A ação destas enzimas impede a formação do radical hidroxil e conseqüente dano celular.

A catalase é uma enzima presente em todos os tipos de células de mamíferos e altamente específica, pois possui atividade apenas contra peróxidos de hidrogênio de etila e metila (Chance et al., 1979).

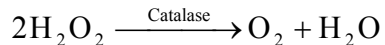


Figura 5. Decomposição do peróxido de hidrogênio pela catalase.

A terceira enzima deste sistema de defesa é a glutathione peroxidase (GPx), a mais importante das enzimas peroxidases. Esta enzima reage com uma grande variedade de peróxidos, principalmente peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos (Yu, 1994). Para redução dos peróxidos, esta enzima utiliza o grupamento sulfidril da glutathione reduzida, que pode ser regenerada pela interação da forma oxidada com NADPH através da glutathione reductase (GR). Os grupamentos sulfidril doam hidrogênios formando uma ligação dissulfeto que pode transformar a molécula do peróxido em álcool ou, no caso do peróxido de hidrogênio, em água, figura 6 (Del Maestro, 1980; Halliwell & Gutteridge, 1999).

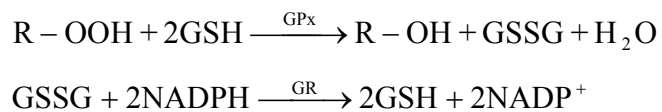


Figura 6. Redução de hidroperóxidos pela glutathione peroxidase e regeneração da glutathione pela glutathione reductase.

Existem tipos diferentes de glutathione peroxidase: as que utilizam selênio como cofator e a selênio independente. As isoformas dependentes de selênio encontram-se solúveis no meio intracelular (citoplasmática), solúveis no plasma, e presente em membranas celulares. Estas enzimas metabolizam preferencialmente peróxido de hidrogênio.

A glutathione selênio independente, encontrada apenas no citosol celular, metaboliza exclusivamente hidroperóxidos orgânicos (Halliwell & Gutteridge, 1999).

Dentro do sistema não enzimático de defesa estão os antioxidantes lipofílicos, como os tocoferóis, carotenóides, bioflavonóides, e os antioxidantes hidrofílicos, como a Vitamina A, o ácido ascórbico, o ácido úrico, a glutathione e outros.

A vitamina E - α -tocoferol, é o principal antioxidante lipossolúvel responsável pela proteção dos ácidos graxos polinsaturados das membranas celulares contra o ataque das EAO. Por ser lipossolúvel, a vitamina E aloja-se nas membranas celulares e nas lipoproteínas de baixa densidade. A perda de um elétron pela vitamina E transforma-a em radical livre – tocoferil, que reage com a vitamina C (ascorbato), regenerando-se à tocoferol. Por ser hidrossolúvel o ascorbato transformado em ascorbil pela reação com o tocoferil pode ser facilmente eliminado pelo organismo ou pode também ser regenerado a ascorbato utilizando GSH e NADPH. Por esse feito cooperativo com a vitamina E, protegendo as membranas celulares da toxicidade do oxigênio, aconselha-se que as duas vitaminas sejam ingeridas conjuntamente.

A glutathione, além de ser um importante antioxidante não enzimático, participa de reações de enzimas antioxidantes como a glutathione peroxidase e a glutathione transferase. Sua ação antioxidante se deve à presença de um grupamento sulfidril, que atua como doador de elétrons (Yu, 1994; Halliwell & Gutteridge, 1999).

1.3.3 Estresse Oxidativo na Uremia

A doença renal crônica é acompanhada por um complexo de patologias. Algumas manifestações como, envelhecimento acelerado, catarata, aterosclerose, diminuição das células vermelhas do sangue, aumento da hemólise e disfunção plaquetária estão presentes nestes indivíduos, e estas patologias podem estar associadas à hiperprodução de radicais livres (Paul et al., 1993).

As doenças ateroscleróticas cardiovasculares são preconizadas como a maior causa de morbidade e mortalidade em pacientes urêmicos. O desenvolvimento de aterosclerose acelerada envolve múltiplos fatores de risco. Alguns são similares aos reportados para a população em geral como, idade, tabagismo, diabete, hipertensão e dislipidemia. Outros, mais específicos, estão associados com as conseqüências da

perda de néfrons e levam a distúrbios metabólicos como hiperfibrinogenia, hiperhomocisteinemia e estresse oxidativo (Nguyen-Khoa et al., 2001).

A fisiopatologia de eventos cardiovasculares na uremia é multifatorial, mas a aterosclerose acelerada parece ter papel central na disfunção cardiovascular e é biologicamente plausível que o estresse oxidativo contribua para a alta prevalência dessas doenças. Por isso, o envolvimento do estresse oxidativo tem sido usado para formulação de hipóteses que visam explicar a alta incidência das doenças cardiovasculares em doentes renais crônicos (Clermont et al., 2000; Loughrey et al., 1994).

Alguns autores sugerem que a uremia é um estado pró-oxidante, com aumento nos níveis de lipoperoxidação e diminuição da atividade antioxidante (Paul et al., 1993; Schettler et al., 1994; Boaz et al., 1999; Hirayama et al., 2000). Porém, não está clara a natureza desse estresse oxidativo, e se o mesmo é exacerbado pela diálise (Hirayama et al., 2000; Schettler et al., 1994). A lipoperoxidação tem sido associada com a patogênese de doenças comumente encontradas em indivíduos que realizam hemodiálise. Níveis plasmáticos aumentados de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), um marcador da peroxidação lipídica, tem sido relatado nos doentes renais crônicos que realizam tratamento dialítico (Paul et al., 1993; Schettler et al., 1994; Cristol et al., 1997; Hirayama et al., 2000).

Além disso, outras complicações como hemorragia e hipotensão durante o curso da doença e tratamento hemodialítico estão possivelmente associadas a um radical livre em especial, o óxido nítrico. O óxido nítrico pode também ter efeitos deletérios devido sua interação com o radical superóxido, formando o peroxinitrito, altamente reativo.

Acredita-se que um caminho compartilhado por ambos, HD e uremia, é a amplificação das respostas inflamatórias. Um estímulo inicial poderia provocar a produção de citocinas inflamatórias, produção de espécies reativas de oxigênio como, o superóxido ou o peróxido de hidrogênio, e/ou mediadores da oxidação lipídica. A produção de radicais livres pode também facilitar a ativação de eventos de sinalização tais como, mediadores da expressão de genes inflamatórios, como

também, genes que regulam divisão celular, diferenciação e apoptose (Wratten et al., 2000).

Uma das teorias preconizadas é que a lipoperoxidação ocorre durante a diálise devido ativação de células inflamatórias causadas pela bioincompatibilidade das membranas de diálise. Isto levaria à ativação de lipopolissacarídeos ou citocinas inflamatórias (Maher et al., 1987; Wratten et al., 2000). Além disso, o estresse oxidativo pode também ocorrer como consequência do grande fluxo a que o sangue é submetido durante a sessão de diálise (Schettler et al., 1994).

Recentemente, produtos da oxidação de proteínas (Davies, 1987; Witko-Sarsat & Descamps-Latscha, 1997; Descamps-Latscha & Witko-Sarsat, 2001; Descamps-Latscha et al., 2001), e produtos da oxidação de bases de DNA (Tarnig et al., 2000) tem surgido como importantes índices de estresse oxidativo e estes têm sido usados para a determinação de dano oxidativo nos doentes renais.

Além dos marcadores de estresse oxidativo estarem aumentados nos doentes renais crônicos, os mecanismos de defesa podem estar suprimidos nestes pacientes. Uma redução do sistema enzimático de defesa bem como do sistema não enzimático, favoreceria o ataque das EAO às células com consequente dano celular.

Os dados são bastante controversos com relação à atividade das enzimas antioxidantes. Enquanto autores como Durak et al., (1994) e Paul et al., (1993), mostram e tentam explicar a redução na atividade das enzimas, outros como, Asoyama et al., (1990), não observaram alteração na atividade das enzimas antioxidantes em crianças urêmicas em hemodiálise ou diálise peritoneal ambulatorial contínua (CAPD).

Nos pacientes em diálise há uma importante redução nos eritrócitos, podendo chegar a uma redução de até 50%. Essa redução das células é comumente atribuída à hemólise crônica. Contudo, os fatores implicados na hemólise crônica não têm sido caracterizados, mas um dos mecanismos postulados é uma produção anormal de EAO (Peuchant et al., 1994; Lim et al., 1999).

O uso da eritropoetina como recurso para o tratamento da anemia em pacientes que realizam HD tem sido considerado um dos maiores avanços no

cuidado com estes pacientes. Contudo, esse tratamento é freqüentemente moderado por induzir à depleção de ferro.

Estudos clínicos mostraram que a terapia com ferro não apenas melhora eritropoiese como também resulta em uma diminuição na quantidade de eritropoetina administrada (Lim et al., 1999). Assim, na prática, a suplementação de ferro pode ser considerada quase obrigatória no objetivo de impedir a anemia resultante da produção inadequada de eritropoetina nos doentes renais crônicos tratados com eritropoetina (Cristol et al., 1997). Porém, sabe-se que o ferro está envolvido como um catalisador na geração de EAO, como o tóxico radical hidroxil, e que espécies férricas podem estar envolvidas em diferentes etapas da lipoperoxidação. Alguns estudos mostram um aumento do estresse oxidativo nos pacientes em hemodiálise que recebem eritropoetina e terapia com ferro quando comparado com os pacientes não submetidos a este tratamento. O dano oxidativo resultante pode contribuir para a alta incidência de aterosclerose nos pacientes em estágio final da doença renal que realizam hemodiálise (Lim et al., 1999).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar, em doentes renais crônicos, a repercussão de uma sessão de HD em sua função pulmonar, força muscular respiratória e estresse oxidativo sistêmico.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar através da espirometria, a função pulmonar de doentes renais crônicos em HD, e o efeito de uma sessão de HD sobre a CVF, VEF₁, PEF e FEF_{25-75%}.

Avaliar, através de manovacuometria, o efeito de uma sessão de HD sobre a força muscular respiratória (PImáx e PEmáx) de doentes renais crônicos.

Avaliar, em doentes renais crônicos, as alterações causadas por uma sessão de HD no estresse oxidativo desses pacientes, através de medidas de LPO, por QL, dano às proteínas pela técnica das carbonilas, capacidade antioxidante total (TRAP), atividade das enzimas antioxidantes (SOD e CAT) e metabólitos do NO.

Comparar os níveis de estresse oxidativo de doentes renais crônicos que realizam HD com o apresentado por indivíduos saudáveis.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Indivíduos

Foram estudados 33 pacientes com insuficiência renal crônica que fazem hemodiálise na Unidade de Nefrologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Dos 33 pacientes estudados, 17 eram mulheres e 16 homens, com média de idade de $42,76 \pm 14,25$ anos.

Os pacientes estudados realizavam três sessões semanais de HD com duração média de $4,18 \pm 0,32$ horas, utilizando para diálise membrana de acetato de celulose. O tempo em que estes pacientes estavam em tratamento hemodialítico variou bastante de paciente para paciente. A média de tratamento com HD nos pacientes estudados foi de $47,18 \pm 47,70$ meses.

A causa da IRC nos pacientes era: 45,45% hipertensão arterial sistêmica; 15,15% glomerulopatias; 9,09% Diabete Melitus; 9,09% rins policísticos; 15,15% outras (hiperparatireoidismo, lúpus eritematoso sistêmico, tratamento com ciclosporina, etc); e, 6,06% causa indeterminada.

Dos 33 pacientes avaliados do ponto de vista respiratório, apenas 17 foram utilizados para avaliação do estresse oxidativo. Utilizaram-se como critérios de exclusão, pacientes com doenças hepáticas, processos inflamatórios crônicos, doença cardíaca conhecida, tabagistas e alcoolistas.

Como não existem valores previstos de normalidade para as variáveis do estresse oxidativo, optou-se por analisar um grupo de pessoas sem nenhum tipo de patologia e não fumantes. Para isto, avaliou-se o sangue de 18 doadores, 14 homens e 4 mulheres com média de idade de $34,77 \pm 10,09$ anos, do Banco de Sangue do

Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Este grupo de indivíduos foi denominado grupo controle.

O projeto deste estudo foi avaliado e aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, pela Comissão Científica e pela Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde do HCPA (anexo 1) .

Para que os pacientes pudessem participar do estudo era necessário que os mesmos não possuíssem nenhuma doença pulmonar de base, e que não tivessem apresentado nenhum episódio respiratório nos últimos seis meses. Por este motivo, foram avaliadas radiografias de tórax e história clínica dos mesmos nos seis meses anteriores ao estudo. Além disso, no dia das avaliações o paciente deveria estar sem nenhum tipo de sintoma respiratório.

Para participar do estudo, todos foram informados dos objetivos, benefícios, riscos e a metodologia que seria aplicada para a realização do trabalho. Antes das avaliações todos os pacientes assinaram o termo de consentimento informado.

3.2 Avaliação Respiratória

3.2.1 Oximetria

Para avaliação da saturação de oxigênio utilizou-se um oxímetro da marca Nellcor Puritan Bennett – NPB 195.

A oximetria permite a estimativa da saturação de O_2 através de uma técnica espectrofotométrica, ou seja, mede a variação pulsátil de transmissão de luz (Winck & Ferreira, 1998).

Mensurou-se a saturação de O_2 antes e após a sessão de HD. As medidas de saturação foram realizadas antes das outras avaliações respiratórias, já que estas exigiam esforço dos pacientes e isto poderia interferir nos resultados.

Para realização do teste, eliminou-se esmalte de unhas ou outros tingimentos que pudessem interferir na leitura. Com o paciente em repouso, o oxímetro era acoplado preferencialmente ao dedo indicador do braço oposto ao da fístula

arteriovenosa utilizada para diálise. Esperava-se o tempo suficiente para estabilização dos valores e verificação do resultado. Os resultados eram apresentados em percentual no visor do aparelho.

3.2.2 Mensuração das Pressões Respiratórias Máximas

Para mensuração das pressões respiratórias máximas, utilizou-se um manovacuômetro da marca FAMABRAS calibrado em cmH_2O , com limite operacional de $-300 \text{ cmH}_2\text{O}$ a $+300 \text{ cmH}_2\text{O}$. No adaptador do bocal do manovacuômetro (modelo 0001 da marca ROWAN), utilizou-se um orifício de 1,5 mm de diâmetro, para gerar um discreto fluxo de ar evitando o fechamento da glote e aumento da pressão da cavidade oral impedindo com isto, alteração dos valores obtidos. O bocal foi confeccionado de tubo flexível (PVC CRISTAL PABOVI) com 8cm de comprimento e 1,7 cm de diâmetro interno (anexo 2).

A mensuração das pressões respiratórias máximas foi realizada antes do paciente ser conectado à máquina dialisadora e após o término da sessão de hemodiálise. Em cada tempo determinado, o paciente realizava cinco manobras de $\text{PI}_{\text{máx}}$ e cinco manobras de $\text{PE}_{\text{máx}}$, desde que a última não fosse a maior da série e que a variabilidade entre as medidas não excedesse 10% com relação ao maior valor obtido. Durante a realização do teste, os pacientes permaneceram sentados com as narinas ocluídas por um clipe nasal, o próprio paciente segurava firmemente o bocal contra os lábios evitando vazamento perioral de ar (Azeredo,2002; Do Valle et al., 1997; Black & Hyatt, 1969; Black & Hyatt, 1971; Camelo et al.,1985) (anexo 3).

A $\text{PI}_{\text{máx}}$ foi medida durante esforço iniciado a partir do volume residual, a $\text{PE}_{\text{máx}}$ foi medida durante esforço iniciado a partir da capacidade pulmonar total. Solicitou-se aos pacientes que as pressões fossem mantidas por três segundos (Irwin & Tecklin, 1994). O intervalo entre as manobras foi determinado pelos próprios pacientes, e o maior valor obtido para $\text{PI}_{\text{máx}}$ e para $\text{PE}_{\text{máx}}$, foi o valor considerado para análise dos resultados.

3.2.3 Mensuração do Pico de Fluxo Expiratório (PFE) ou Peak Flow

Esta variável foi mensurada através de dois métodos: espirometria e por um aparelho portátil.

A realização da mensuração do Peak Flow através da espirometria segue a metodologia aplicada para a realização desta.

A mensuração do Peak Flow foi realizada utilizando um medidor de pico de fluxo portátil marca Clement Clarke International Ltd. com limite operacional de 0 a 700 litros/min (anexo 4). Para realização dos exames foram utilizados bocais descartáveis de papel marca Xenon com 3,5 cm de diâmetro.

A mensuração do pico de fluxo expiratório foi realizada antes do início da sessão de hemodiálise e após o término da sessão.

A avaliação do PFE foi realizada com o indivíduo sentado mantendo a cabeça em posição neutra. Solicitou-se ao paciente uma inspiração máxima até CPT, e em seguida um sopro o mais rápido e forte possível. Enfatizou-se a importância em se adaptar os lábios ao bocal evitando, assim, vazamento de ar, chamou-se também a atenção para que evitassem o fechamento do bocal com a língua. Observou-se que os pacientes não realizassem pausa pós inspiratória maior que dois segundos. Para avaliação do PFE não foi utilizado clipe nasal (anexo 5).

Em cada avaliação do PFE, os pacientes realizaram três manobras, uma vez que a diferença entre as mesmas não fosse maior que 10% (Dahlquist et al., 1993).

Para análise dos resultados selecionou-se o maior valor obtido.

3.2.4 Prova de Função Pulmonar Respiratória – Espirometria

Os pacientes realizaram duas espirometrias, antes do início da sessão, e após a sessão de HD.

As espirometrias foram realizadas utilizando-se um espirômetro portátil modelo Pony da marca Cosmed que fornece curvas fluxo volume e volume tempo. Os bocais utilizados eram de papel, descartáveis da marca Xenon com 3,5 cm de diâmetro (anexo 6).

Realizou-se este exame através de manobras expiratórias forçadas (anexo 7). Solicitou-se ao paciente uma inspiração máxima até CPT e, imediatamente após, uma expiração tão rápida e intensa quanto possível. O paciente foi estimulado durante todo exame a realizar esforço máximo. Estimulou-se o paciente a expirar todo ar possível, já que isto é fundamental para a realização adequada do exame.

Quando necessário, naqueles casos onde existiu maior dificuldade no entendimento da manobra, a imitação simultânea da manobra era realizada para melhor visualização por parte do paciente.

Os exames foram realizados observando-se os critérios para espirometria de boa qualidade preconizados por Pereira et al., (1996). Para interpretação, utilizou-se a melhor curva obtida. A análise dos exames, também foi realizada de acordo com Pereira et al., (1996). Procurando eliminar os efeitos da idade, altura e sexo, utilizou-se percentagens de valores de referência previstos em substituição aos valores absolutos obtidos.

3.3 Coleta Sangüínea

A coleta de sangue nos pacientes em HD foi realizada em dois momentos distintos: no início da sessão de HD, quando os pacientes eram ligados às máquinas dialisadoras, e ao término da sessão, instantes antes de serem desligados das mesmas. As coletas foram realizadas na porção arterial da fístula arteriovenosa.

Na primeira coleta, no início da sessão de HD, o sangue foi armazenado em três tubos diferentes, um tubo de coleta a vácuo contendo anticoagulante EDTA (4 mL), para realização de hemograma; um tubo de coleta a vácuo sem aditivo (4 mL), para análises bioquímicas; e o terceiro tubo de coleta a vácuo contendo anticoagulante heparina (10 mL), para análise do estresse oxidativo. Coletou-se também, neste momento, uma amostra de sangue para análise dos gases respiratórios – gasometria; essa amostra foi armazenada em seringa lavada com anticoagulante heparina.

Na segunda coleta, ao final da HD, o sangue foi utilizado novamente para análises bioquímicas, estresse oxidativo e avaliação dos gases respiratórios. Não foi realizado hemograma neste momento.

As análises bioquímicas (uréia, creatinina, sódio, potássio e fósforo), hemograma e gasometria foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Para mensuração de ácido úrico nas amostras de plasma, utilizou-se um kit, Ácido Úrico – Liquiform do laboratório LABTEST Diagnóstica. A avaliação do estresse oxidativo foi realizada no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular do Departamento de Fisiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde – ICBS – da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS.

A coleta de sangue no grupo controle, realizada para análise do estresse oxidativo, foi efetuada ao final da doação. O sangue foi armazenado da mesma forma que o sangue dos pacientes em HD, como já mencionado.

Logo após a coleta, as amostras de sangue eram encaminhadas aos respectivos laboratórios para análise.

3.4 Avaliação do Estresse Oxidativo

2.4.1 Preparo do Sangue para Avaliação do Estresse Oxidativo

O preparo do sangue para avaliação do estresse oxidativo era impreterivelmente realizado no dia da coleta.

Após a coleta, o sangue armazenado em tubo com anticoagulante heparina, era centrifugado por 20 minutos a 3000 rpm em centrífuga refrigerada (Sorvall RC 5B – Rotor SM 24), o plasma foi retirado, aliquotado em tubos tipo Eppendorff de 2,0 mL e armazenado à temperatura de -80°C . O plasma foi utilizado para avaliação da capacidade antioxidante total (TRAP), para avaliação da oxidação de proteínas (método das carbonilas), e para determinação de nitratos e nitritos. Os eritrócitos foram lavados com soro fisiológico (NaCl 0,9%), por três vezes, colocando-se uma quantidade de glóbulos vermelhos em um tubo tipo Eppendorff e acrescentando-se a

mesma quantidade de soro fisiológico, em seguida, centrifugou-se a 3000 rpm por cinco minutos. Ao final da centrifugação, retirou-se o sobrenadante descartando-o. Repetiu-se o procedimento três vezes.

Após a lavagem dos eritrócitos, parte destes (75 μL), foram diluídos em 500 μL de soro fisiológico para medida de lipoperoxidação e concentração de hemoglobina. Estas medidas foram realizadas no dia da coleta. Os eritrócitos restantes foram aliquotados e armazenados em freezer a -80°C . Os eritrócitos foram aliquotados da seguinte forma: 100 μL de glóbulos vermelhos lavados acrescentados de 1mL de solução de ácido acético 1mM e sulfato de magnésio 4 mM, estas amostras foram utilizadas para análise de proteínas e atividade das enzimas antioxidantes, catalase e superóxido dismutase.

3.4.1 Dosagem de Hemoglobina

A hemoglobina foi dosada nas amostras de sangue preparadas com soro fisiológico, utilizadas para mensuração da lipoperoxidação. Para análise utilizou-se uma mistura de cianetos, obtendo-se assim o reagente de Drabkin, que interage com a hemoglobina formando cianometahemoglobina, medida em espectrofotômetro. O espectrofotômetro utilizado neste trabalho foi da marca Varian, modelo Cary.

Para as dosagens, colocou-se, em um tubo de ensaio, 5 mL da solução de Drabkin e 20 μL de amostra, deixou-se reagir por cinco minutos e a absorbância foi lida no espectrofotômetro a um comprimento de onda de 546 nm.

Os resultados foram expressos em miligramas por mililitros ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)

Solução de Drabkin:

0,85 mL de KCN 9 mM;

6,6 mL de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 0,9 mM;

q.s.p. 10 mL água destilada.

3.4.2 Lipoperoxidação - Quimiluminescência Iniciada por t-BOOH

Quimiluminescência é um dos métodos mais sensíveis para medir LPO. Este método consiste em adicionar um hidroperóxido orgânico de origem sintética, o

hidroperóxido de tert-butil (t-BOOH), à amostra sangüínea, avaliando a capacidade de resposta produzida pela amostra. A realização deste tipo de teste consiste no fato de que os hidroperóxidos são espécies químicas bastante instáveis, reagindo com lipídios por um mecanismo radicalar que gera produtos que emitem luz pela amostra em estudo.

A QL foi medida em um contador beta (LKB Rack Beta Liquid Scintillation Spectrometer-1215; LKB Produkter AB, Bromma, Sweden) com circuito de coincidência desconectado e utilizando o canal de trítio. As determinações foram realizadas em sala escura, em frascos de vidro mantidos na penumbra para evitar a fosforescência ativada pela luz fluorescente. O meio de reação no qual foi realizado o ensaio consistiu em 4 mL de uma solução reguladora de KCl 140mM, fosfatos 20 mM, pH 7,4, na qual foi adicionado 10 μ L de eritrócitos diluídos em soro fisiológico. Após, foi realizada uma leitura inicial, considerada a emissão de luz basal. O hidroperóxido de tert-butila, na concentração de 400 mM, adicionado ao meio de reação (30 μ L), para uma concentração final de 3 mM. Foi medida então, a emissão de luz e, desta, foi descontada a emissão basal para cálculos. Os resultados foram expressos em contagens por segundo (cps) por miligrama de hemoglobina (Llessuy et al.,1990; Gonzalez-Flecha et al.,1991).

3.4.3 Mensuração de Proteínas

Para mensuração de proteínas utilizou-se o protocolo descrito por Lowry et al., (1951), que utiliza como padrão uma solução de albumina bovina na concentração de 1mg/ml. Constrói-se uma curva de calibração a partir da albumina bovina, a partir da qual calcula-se um fator de correção médio, que é utilizado para posterior cálculo da concentração de proteínas.

Foram utilizados os reagentes: Reativo de Folin Ciocalteau; reativo C, reativo A, reativo B1 e B2.

Reativo de Folin Ciocalteau diluído em água destilada na proporção 1:3;

Reativo A: NaHCO₃ (bicarbonato de sódio) 2% em NaOH (hidróxido de sódio) 0,1 N;

Reativo B1: CuSO₄.5H₂O (sulfato de cobre) 1%;

Reativo B2: $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (tartarato de sódio e potássio) 2%.

Reativo C, composto por, 50 mL do reativo A, acrescentado de 0,5 mL do reativo B1 e 0,5 mL do reativo B2;

Para realização do experimento, procedeu-se da seguinte maneira: em tubos de ensaio, colocou-se 20 μL de amostra, glóbulos vermelhos, previamente lavados e preparados para análise de atividade enzimática, em 0,78 mL de água destilada e 2 mL de reativo C preparado no momento do experimento. Após dez minutos, adicionou-se ao tubo 0,2 mL do reativo Folin Ciocalteau, agitou-se e aguardou-se 30 minutos para realização da leitura em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 625 nm.

Foram realizadas duplicatas para todas as amostras, sendo utilizada, para fins de cálculo, a média das absorbâncias obtidas nas duas leituras.

3.4.4 Capacidade Antioxidante Total (TRAP)

A mensuração da capacidade antioxidante total – Total Reactive Antioxidant Potential (TRAP), foi realizada de acordo com protocolo descrito por Lissi et al., (1992) e Lissi et al., (1995). Esta técnica é baseada na formação de um radical que emite luz, e que é detectado por contador beta (LKB Rack Beta Liquid Scintillation Spectrometer – 1215; LKB Produkter AB, Bromma, Sweden) com o circuito de coincidência desconectado e utilizando o canal de trítio.

As medidas foram realizadas em sala escura e em frascos de vidro mantidos na penumbra para evitar a fosforescência ativada pela luz fluorescente.

O meio de reação consistiu em: 3,0 mL de uma solução de AZO, a qual foi adicionado 10 μL de luminol, realizando-se uma leitura basal. Após, adicionou-se amostra (em torno de 10 μL). Para estabelecer a curva padrão foram realizadas duas leituras contendo Trolox (vitamina E hidrossolúvel), nas quantidades 5 μL e 10 μL .

Esta técnica é baseada na decomposição do 2,2' Azo-bis (2-amidino-propano ABAP) diidrocloreto que gera radicais livres. Esta substância tem uma ligação dupla entre dois nitrogênios, bastante instável e que com o aumento da temperatura há termólise, gerando dois radicais livres. Em função disto em temperaturas altas a

reação é muito mais rápida. Os radicais formados pela decomposição do ABAP vão, por sua vez, reagir com o luminol acrescentado ao meio de reação, gerando outro radical livre mais energético e com maior emissão de luz, isto faz com que sua detecção pelo contador seja facilitada. Porém, se no meio de reação existir a presença de uma substância antioxidante, esta irá neutralizar os radicais livres e, assim, diminuir a emissão de luz. Quando toda a substância antioxidante tiver reagido, ou seja, quanto todo antioxidante tiver sido consumido, o luminol volta a reagir com o ABAP radical aumentando novamente a emissão de luz detectada pelo contador. Como antioxidante padrão utiliza-se o Trolox que forma um radical estável.

A primeira leitura é realizada com ABAP e luminol nesta, verificamos a formação de radicais livres, posteriormente realizamos uma curva padrão utilizando o Trolox como antioxidante e, medimos a capacidade antioxidante de nossas amostras observando-se o tempo que a amostra inibe a formação dos radicais do luminol.

Para realização desta medida utilizaram-se os seguintes reagentes: Tampão fosfato 50 mM, pH 7,4; Azo-bis (2-amidino-propano ABAP) diidrocloreto 0,5% em tampão fosfato; Luminol 1 mg/ml em NaOH 0,1 N e Trolox 8 mg% em tampão fosfato.

Os resultados foram expressos em mM de trolox (Lissi et al., 1992; Lissi et al., 1995; Evelson, 2001).

3.4.5 Superóxido Dismutase

A enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD), catalisa a dismutação do ânion radical superóxido em peróxido de hidrogênio, este menos reativo e pode ser degradado por outras enzimas como a catalase e a glutathione peroxidase. A velocidade da reação catalisada pela SOD é 10^4 vezes maior que a velocidade de dismutação espontânea em pH fisiológico.

A técnica utilizada para determinação da SOD baseia-se na inibição da reação do radical superóxido com o pirogalol. O radical superóxido é gerado pela autooxidação do pirogalol quando em meio básico. A SOD presente na amostra

compete pelo radical superóxido com o sistema de detecção. Portanto, quanto maior for a concentração de SOD na amostra, menor será a autooxidação do pirogalol.

Neste trabalho, não se pode determinar a concentração da enzima nem sua atividade em termos de substrato consumido por unidade de tempo, por isso, utiliza-se a quantidade em unidades relativas. Uma unidade de SOD é definida como a quantidade de enzima que inibe em 50% a velocidade de oxidação do detector. A oxidação do pirogalol leva à formação de um produto colorido, detectado espectrofotometricamente a um comprimento de onda de 420 nm. A atividade da SOD é determinada medindo-se a velocidade de formação do pirogalol oxidado (Marklund, 1985).

Utilizou-se uma solução tampão (Tris-base na concentração de 50 mM; EDTA na concentração de 1 mM em pH 8,2), pirogalol 24 mM (em ácido clorídrico a 10 mM), e catalase a 30 μ M. Para se obter o resultado em unidades de SOD, necessita-se um fator de calibração, por isso construiu-se uma curva padrão com uma solução de SOD comercialmente disponível, em concentrações conhecidas. Assim, calculou-se o fator de calibração necessário para converter a percentagem de inibição da autooxidação em unidades de enzima.

O ensaio foi realizado da seguinte maneira: colocou-se em uma cubeta 988 μ L de tampão Tris, 4 μ L de catalase. Zerou-se o espectrofotômetro, adicionou-se 8 μ L de pirogalol à cubeta, realizando a leitura da mesma. Desta forma, obteve-se o máximo de oxidação desta substância, esta medida é muito importante para posterior cálculo da percentagem de inibição causada pela SOD presente na amostra. Com a amostra procedeu-se da mesma forma, apenas com reajuste do volume de tampão de acordo com a quantidade de amostra adicionada, tendo sempre um volume final de 1mL. Os resultados foram expressos em U SOD/mg proteína.

3.4.6 Catalase

A atividade da catalase é diretamente proporcional à taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio. Sendo assim, a atividade da enzima pode ser medida através da avaliação do consumo do peróxido de hidrogênio.

Este teste consiste em avaliar a diminuição da absorbância no comprimento de onda de 240 nm, já que este é o comprimento de onda onde há a maior absorção pelo peróxido de hidrogênio. Utilizam-se cubetas de quartzo devido à alta energia do comprimento de onda no qual foram realizadas as medidas.

Foram utilizados os reagentes: solução de tampão fosfato a 50 mM (pH 7,4) e peróxido de hidrogênio 0,3 M.

Em cubeta de quartzo, colocou-se 975 μ L do tampão fosfato e 10 μ L de amostra de sangue previamente preparada, esta cubeta foi colocada no espectrofotômetro e descontada contra um branco de tampão fosfato. Após, adicionou-se 15 μ L de peróxido de hidrogênio, monitorizou-se a diminuição da absorbância no comprimento de onda selecionado, ou seja, a decomposição do peróxido de hidrogênio. Os resultados foram expressos em pmoles por mg de proteína (Boveris & Chance, 1973).

3.4.7 Determinação de Nitratos

Os níveis de nitratos no plasma foram medidos pela reação das amostras com o reagente de Griess, pelo método descrito por Granger et al., 1999. Alíquotas de 50 μ L foram incubadas com cofatores enzimáticos e nitrato redutase por trinta minutos em temperatura ambiente, para conversão de nitrato em nitrito. O nitrito formado foi então analisado pela reação deste com o reagente de Griess. Forma-se um composto corado medido em espectrofotômetro no comprimento de onda de 540nm.

A quantificação dos níveis de nitratos foi realizada utilizando-se os reagentes: reativo de Griess (1g de sulfanilamina, 0,1g de naftilendiamina, 2,3mL de ácido ortofosfórico 85%, 97,7mL de água); Tris 1M, pH 7,5; NADPH 0,02 mM; glicose 6-fosfato (G6P) 5mM; glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PDH)10U/mL e nitrato redutase (NR) 1,0 U/mL.

No meio de reação foram adicionados 50 μ L de amostra, 10 μ L de NADPH, 7 μ L de Tris, 23 μ L de uma mistura de G6P/G6PDH e 10 μ L de NR. A mistura foi incubada à temperatura ambiente sob agitação por 30 minutos. Após, foram

adicionados 100 μ L do reagente de Griess, foi incubado à temperatura ambiente sob agitação por mais 10 minutos e a absorbância foi lida a 540 nm. Os resultados foram avaliados comparando-se com uma curva padrão feita utilizando-se nitrato de sódio 1mM (Granger et al., 1999).

3.4.8 Oxidação de Proteínas – Método das carbonilas

A avaliação das carbonilas foi realizada de acordo com o método descrito por Reznick & Packer (1994). O método consiste na reação da dinitrofenilhidrazina (DNPH) com as carbonilas das proteínas formando hidrazonas que podem ser medidas espectrofotometricamente. É uma técnica com alta reprodutibilidade podendo detectar níveis de carbonilas em vários sistemas.

Para a realização do experimento foram utilizados os reagentes:

Guanidina (PM 95,53): 5,73 g em 10mL de ácido HCl (2,5M) pH2,5;

2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH): 19,8mg em 10mL de ácido HCl 2,5M;

TCA 20% P/V;

TCA 10% P/V;

Etanol – acetato de etila 1:1 (V/V).

Para realização da curva de albumina utilizou-se:

0,2mg albumina / 0,4 mL de guanidina corresponde a 0,5 mg/mL;

0,4mg albumina / 0,4 mL de guanidina corresponde a 1 mg/mL;

0,6mg albumina / 0,4 mL de guanidina corresponde a 1,5 mg/mL.

Primeiro coloca-se 0,8 mL de DNPH com 0,2 mL de plasma para que ocorra reação do DNPH com as carbonilas da amostra. Para cada amostra, utiliza-se outro tubo onde, mede-se a proteína total da amostra. Este tubo é utilizado como branco, e as concentrações utilizadas são as mesmas utilizadas para medida das carbonilas. Neste tubo coloca-se 0,2 mL de amostra e 0,8 mL de HCL 2,5M. Os tubos são incubados por uma hora, preferencialmente no escuro e agitados a cada quinze minutos.

A partir da primeira etapa, descrita acima, as demais são realizadas da mesma forma, tanto para os tubos onde utilizou-se DNPH quanto para os tubos onde serão avaliadas as proteínas.

Após é adicionado 1 mL de solução de TCA 20% em ambos os tubos. Coloca-se os tubos no gelo por 10 minutos e centrifuga-se por cinco minutos em centrífuga refrigerada a 3000 rpm. Usar o precipitado, o sobrenadante é descartado.

Em seguida, acrescenta-se ao precipitado 0,8 mL de TCA 10% e agita-se mecanicamente com bastão de vidro. Centrifugar por cinco minutos. Finalmente o precipitado é lavado por três vezes com 0,8 mL de etanol – acetato de etila para remover o DNPH livre e lipídios contaminantes.

O precipitado final é dissolvido em 0,4 mL de guanidina 6M e agitado por 10 minutos à 37°C. O material insolúvel é removido por centrifugação adicional. O sobrenadante é lido em espectrofotômetro a 360 nm.

No tubo onde mede-se a proteína total da amostra, lê-se em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 280 nm.

Para calcular proteína utiliza-se uma curva padrão de albumina bovina, dissolvida em guanidina 6M e medida em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 280 nm.

3.5 Análise Estatística

Após efetuados todos os testes, foram calculados as médias e os erros padrões da média para cada uma das medidas realizadas e para cada um dos grupos estudados. Para análise estatística dos dados pré e pós HD, pré HD e controle, utilizou-se o teste t de Student, sendo consideradas significativas diferenças com $p < 0,05$ (nível de significância de pelo menos, 5%). Para analisar correlações entre as variáveis utilizou-se o teste de Pearson ($p < 0,05$). Para efetuar a análise dos dados utilizou-se o programa computacional SAS (SAS, 1989).

4 RESULTADOS

Os resultados apresentados neste trabalho representam a média de cada grupo \pm o erro padrão da média. Para cada variável avaliada, existe uma figura, para melhor visualização dos resultados.

4.1 Avaliação Respiratória

4.1.1 Avaliação da Função Pulmonar – Espirometria

As variáveis foram avaliadas em percentagens de valores previstos, eliminando desta forma possíveis efeitos relacionados com altura, sexo e idade dos pacientes. Como valores de referência utilizaram-se equações preconizadas por Knudson et al., 1983. É importante salientar que, para realizar a espirometria, os pacientes não poderiam apresentar nenhum tipo de sintoma respiratório.

4.1.1.1 Capacidade Vital Forçada – CVF

A capacidade vital forçada, ou seja, o maior volume de ar que pode ser mobilizado em uma inspiração ou expiração, foi avaliada antes e após uma sessão de hemodiálise. Os dados (% do previsto) Pré HD ($78,06 \pm 2,57$) foram estatisticamente diferentes dos observados Pós HD ($81,34 \pm 1,8$) ($p=0,024$). A avaliação da capacidade vital forçada é apresentada na figura 7.

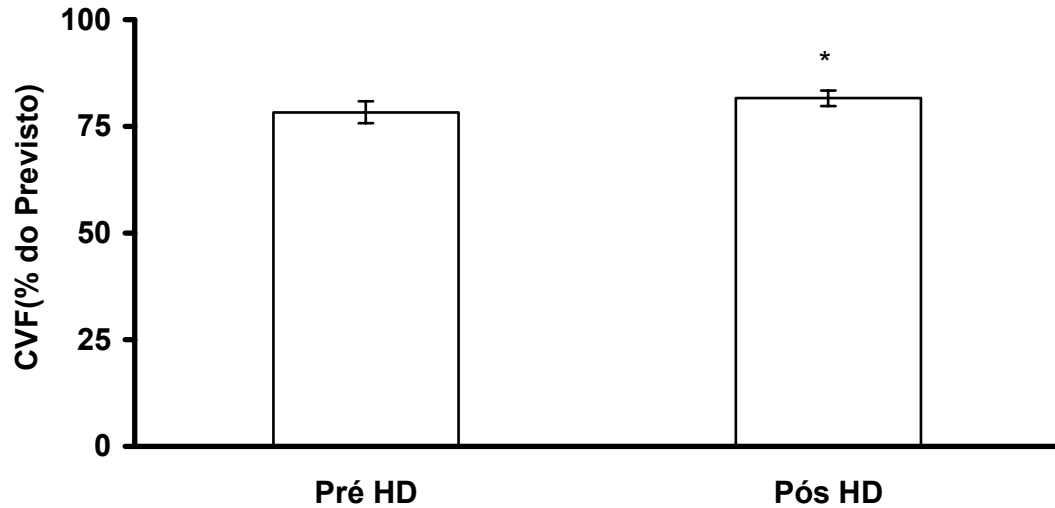


Figura 7. Avaliação da capacidade vital forçada (CVF), antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise.

Os valores da figura (% do previsto segundo Knudson et al., 1983), representam a média \pm erro padrão da média. * indica diferença significativa pelo teste t ($p < 0,05$) entre as avaliações ($n = 33$).

4.1.1.2 Volume Expiratório Forçado no Primeiro Segundo – VEF₁

O volume expiratório no primeiro segundo da manobra expiratória forçada foi avaliado antes e após sessão de hemodiálise. Os valores (% do previsto) observados Pré HD ($80,28 \pm 2,52$) e pós HD ($84,09 \pm 2,21$) foram significativamente diferentes ($p = 0,0093$). Os resultados são apresentados na figura 8.

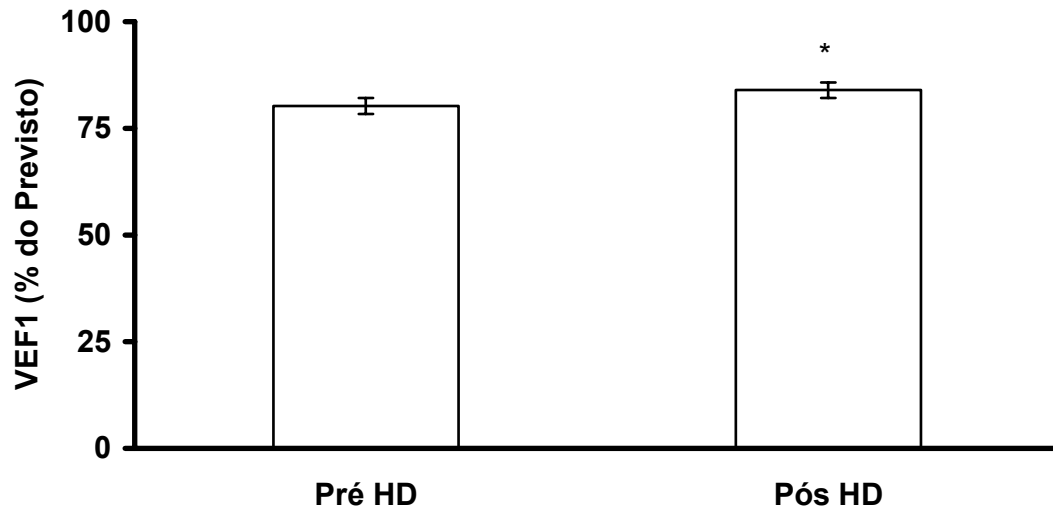


Figura 8. Avaliação do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF_1) da manobra expiratória, antes (Pré HD) e após (Pós HD), uma sessão de hemodiálise.

Os valores (% do previsto segundo Knudson et al., 1983), representam a média \pm erro padrão da média. * indica variação significativa pelo teste t ($p < 0,05$) entre as avaliações ($n=33$).

4.1.1.3 Pico de Fluxo Expiratório – PEF

O fluxo máximo respiratório também conhecido como pico de fluxo expiratório, representa o fluxo máximo de ar durante manobra de capacidade vital forçada. A avaliação do PEF foi realizada antes e após sessão de hemodiálise. Os valores obtidos (% do previsto), Pré HD ($86,53 \pm 3,41$) e Pós HD ($93,31 \pm 3,35$) foram significativamente diferentes ($p = 0,0181$), estes resultados são apresentados figura 9.

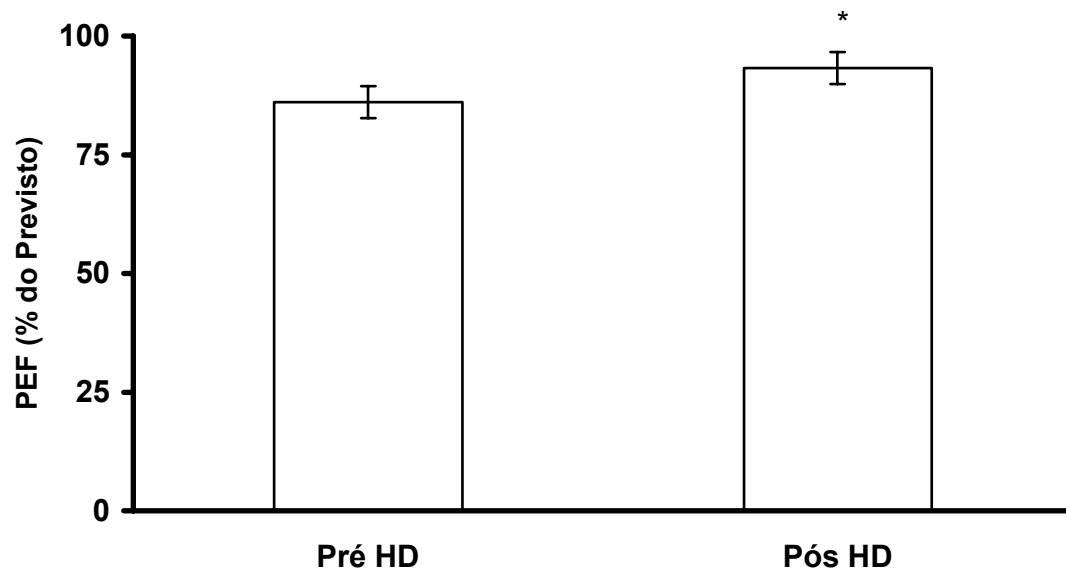


Figura 9. Avaliação do pico de fluxo expiratório – PEF, antes (Pré HD) e após (Pós HD) sessão de hemodiálise.

Os valores (% do previsto segundo Knudson et al., 1983), representam a média \pm erro padrão da média. * indica variação significativa pelo teste t ($p < 0,05$) entre as avaliações ($n=33$).

4.1.1.4 Avaliação do Fluxo Médio – FEF 25% - 75% da CVF

O cálculo do fluxo médio na porção média da curva é simplesmente o volume expirado dividido pelo tempo requerido entre os pontos 25 e 75% da CVF. O $FEF_{25-75\%}$ é dependente da CVF. A avaliação do $FEF_{25-75\%}$ foi realizada antes e após sessão de hemodiálise e os dados obtidos não foram diferentes entre as avaliações. Pré HD ($71,03 \pm 4,03$) e Pós HD ($74,15 \pm 4,38$) ($p = 0,2315$). Os resultados obtidos para $FEF_{25-75\%}$ são apresentados na figura 10.

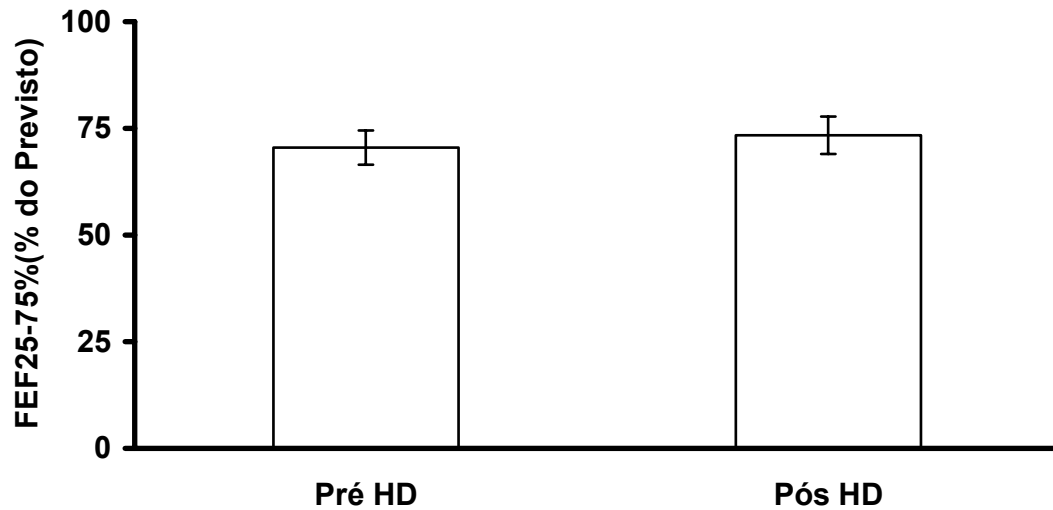


Figura 10. Avaliação do fluxo médio expiratório – FEF_{25-75%}, antes (Pré HD) e após (Pós HD) sessão de hemodiálise.

Os valores (% do previsto segundo Knudson et al., 1983), representam a média \pm erro padrão da média, não havendo diferença estatística entre as avaliações (n=33).

4.1.1.5 Laudos Espirométricos

As espirometrias realizadas pelos doentes renais crônicos antes e após sessão de HD, dados apresentados nas figuras 7 a 10, foram individualmente interpretadas possibilitando a realização de uma avaliação mais clínica da função pulmonar nestes indivíduos. As espirometrias, bem como sua interpretação, foram realizadas de acordo com as orientações de Pereira et al., 1996 e Pereira, 2002.

Nas espirometrias realizadas antes da HD, apenas 12 (37%) pacientes apresentaram espirometria normal e 21 (63%) pacientes apresentaram algum tipo de anormalidade respiratória. Destes, 8 (24%) pacientes apresentaram distúrbio ventilatório restritivo leve (DVRLeve), 1 (3%) apresentou distúrbio ventilatório restritivo moderado (DVRMod), 1 (3%) apresentou distúrbio ventilatório restritivo

grave (DVRGrave), 3 (9%) apresentaram distúrbio ventilatório combinado leve (DVCLeve), 2 (6%) distúrbio ventilatório obstrutivo incipiente (DVOInc), 4 (12%) distúrbio ventilatório obstrutivo leve (DVOLeve), 1 (3%) apresentou distúrbio ventilatório obstrutivo leve com capacidade vital forçada reduzida (DVOLeveCVFRed) e 1 (3%) apresentou distúrbio ventilatório obstrutivo moderado com capacidade vital forçada reduzida (DVOModCVFRed). Para melhor visualização estes dados estão representados na figura 11.

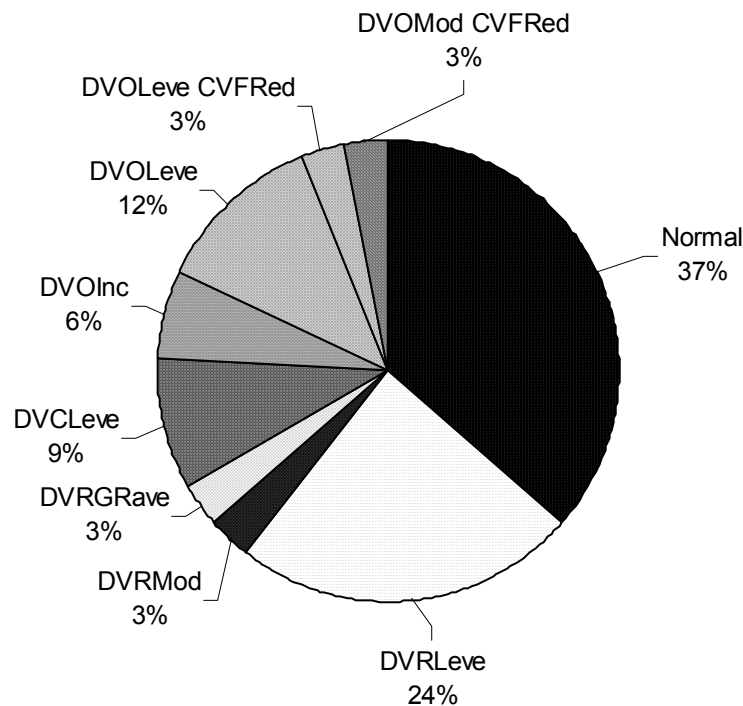


Figura 11. Classificação dos laudos espirométricos de doentes renais crônicos antes de uma sessão de hemodiálise (HD).

Normal, distúrbio ventilatório restritivo leve (DVRLeve), distúrbio ventilatório restritivo moderado (DVRMod), distúrbio ventilatório restritivo grave (DVRGrave), distúrbio ventilatório combinado leve (DVCLeve), distúrbio ventilatório obstrutivo incipiente (DVOInc), distúrbio ventilatório obstrutivo leve (DVOLeve), distúrbio ventilatório obstrutivo leve com capacidade vital

forçada reduzida (DVOLeveCVFRed), distúrbio ventilatório obstrutivo moderado com capacidade vital forçada reduzida (DVOModCVFRed).

Na figura 12, estão representados os percentuais da classificação dos laudos espirométricos após sessão de hemodiálise. 17 (52%) pacientes apresentaram espirometria normal e 16 (48%) pacientes apresentaram algum tipo de anormalidade respiratória. Dos pacientes com anormalidade respiratória 7 (21%) apresentaram distúrbio ventilatório restritivo leve (DVRLeve), 2 (6%) apresentaram distúrbio ventilatório combinado leve (DVCLeve), 2 (6%) distúrbio ventilatório obstrutivo incipiente (DVOInc), 4 (12%) distúrbio ventilatório obstrutivo leve (DVOLeve), e 1 (3%) apresentou distúrbio ventilatório obstrutivo moderado com capacidade vital forçada reduzida (DVOModCVFRed). Para melhor visualização estes dados estão representados na figura 12.

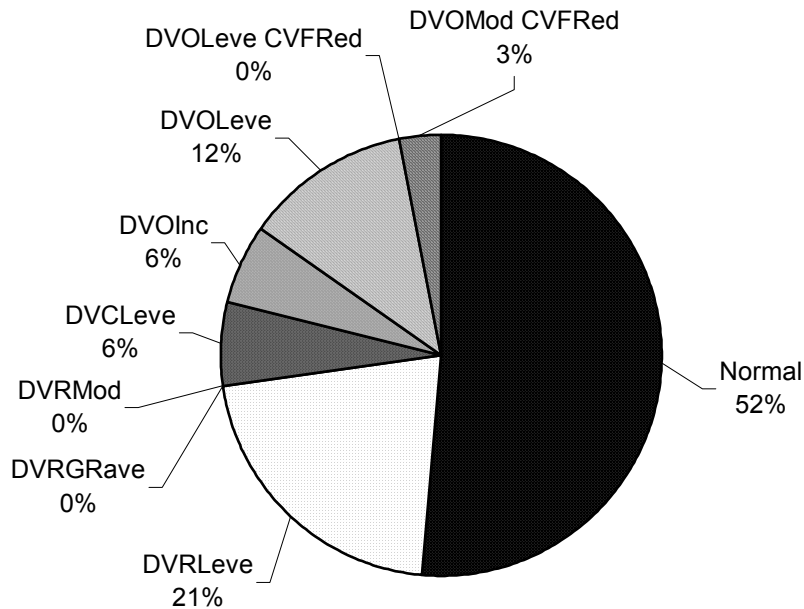


Figura 12. Classificação dos laudos espirométricos de doentes renais crônicos após uma única sessão de hemodiálise (HD).

Normal, distúrbio ventilatório restritivo leve (DVRLeve), distúrbio ventilatório restritivo moderado (DVRMod), distúrbio ventilatório restritivo grave (DVRGrave), distúrbio ventilatório combinado leve (DVCLeve), distúrbio ventilatório obstrutivo incipiente (DVOInc), distúrbio ventilatório obstrutivo leve (DVOLeve), distúrbio ventilatório obstrutivo leve com capacidade vital forçada reduzida (DVOLeveCVFRed), distúrbio ventilatório obstrutivo moderado com capacidade vital forçada reduzida (DVOModCVFRed).

Após visualizar as figuras 11 e 12 pode-se observar um importante aumento no número de espirometrias normais após HD. Dos pacientes avaliados, 9 (27%) apresentaram melhora suficiente para alterar o laudo espirométrico após HD.

Dos 8 pacientes que apresentavam DVR leve antes da HD, 4 normalizaram sua espirometria e dois pacientes, 1 com DVR moderado e 1 com DVR grave

melhoraram seu quadro restritivo passando a apresentar um laudo de DVR leve. O paciente que apresentava laudo de DVC leve antes da HD perdeu o componente restritivo, o paciente com DVO incipiente normalizou sua espirometria e o paciente com DVR leve com CVF reduzida normalizou sua CVF.

É importante ressaltar o aumento no número de espirometrias normais, passando de 12 (37%) antes da HD para 17 (52%) após HD.

4.1.2 Avaliação da Força Muscular Respiratória

A força dos músculos respiratórios é determinada pela mensuração das pressões respiratórias estáticas máximas. A pressão inspiratória estática máxima (P_{Imáx}) indica a força conjunta dos músculos inspiratórios e a pressão expiratória estática máxima (P_{Emáx}) a força dos músculos expiratórios. A mensuração das pressões respiratórias foi realizada pela manovacuometria. Para análise dos resultados utilizou-se percentual de valores previstos preconizados por Black & Hyatt, 1969. A utilização de valores em percentual do previsto foi realizada com o objetivo de eliminar possíveis efeitos causados pelo sexo e idade.

4.1.2.1 Pressão Inspiratória Estática Máxima – P_{Imáx}

A força dos músculos inspiratórios foi avaliada pela mensuração da P_{Imáx} realizada à partir do volume residual ou seja, após uma expiração completa. A avaliação da P_{Imáx} (% do previsto) foi avaliada antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise. Os valores Pré HD ($72,71 \pm 3,93$) foram significativamente inferiores aos obtidos Pós HD ($86,01 \pm 3,19$) ($p < 0,0001$), e são apresentados na figura 13.

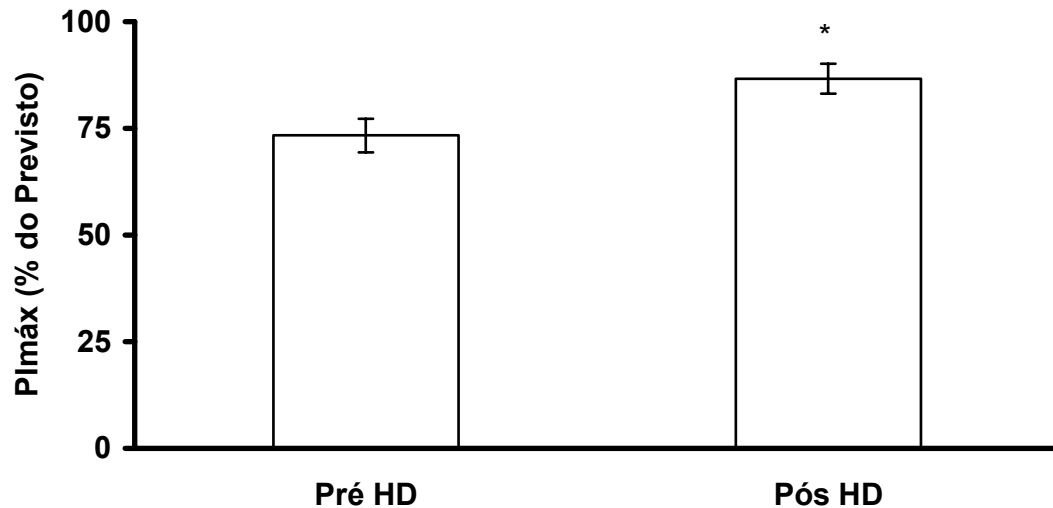


Figura 13. Avaliação da pressão inspiratória estática máxima – PImax, antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma sessão de hemodiálise.

Os valores (% do previsto por Black & Hyatt, 1969), representam a média \pm erro padrão da média. * indica diferença significativa pelo teste t ($p < 0,05$) entre as avaliações ($n=33$).

4.1.2.2 Pressão Expiratória Estática Máxima - PEmax

A força dos músculos expiratórios foi avaliada pela mensuração da PEmax realizada à partir da capacidade pulmonar total ou seja, após uma inspiração máxima. A PEmax foi avaliada antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise. Os valores Pré HD ($77,57 \pm 2,03$) foram significativamente diferentes dos observados Pós HD ($83,12 \pm 2,62$) ($p < 0,0001$). Os valores são apresentados na figura 14.

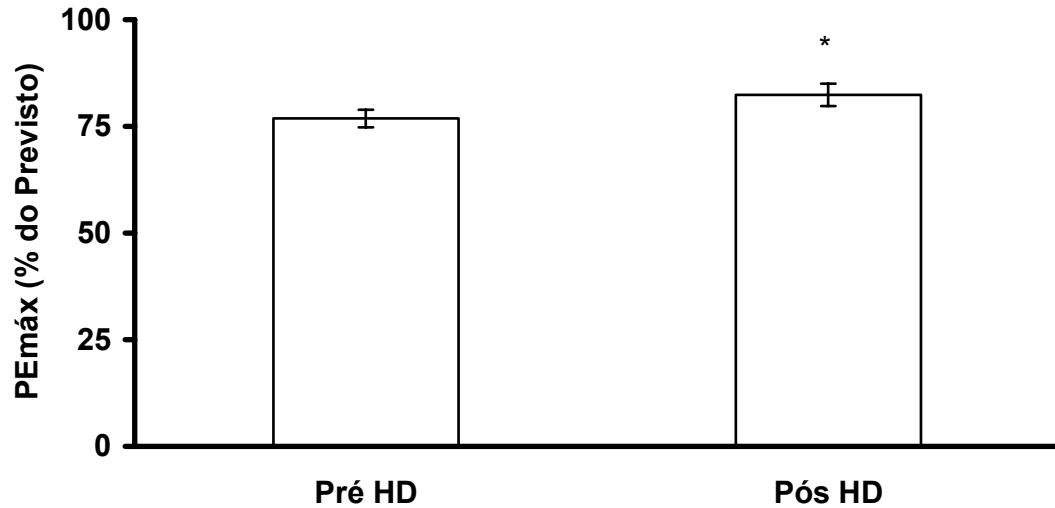


Figura 14. Avaliação da pressão expiratória estática máxima – PEmáx, antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma sessão de hemodiálise.

Os valores (% do previsto por Black & Hyatt, 1969), representam a média \pm erro padrão da média. * indica diferença significativa pelo teste t ($p < 0,05$) entre as avaliações ($n=33$).

4.1.3 Avaliação do Pico de Fluxo Expiratório Por Medidor Portátil

Além da avaliação realizada com espirometria, o pico de fluxo expiratório foi avaliado utilizando-se um medidor de fluxo portátil com limite operacional de 0 a 700L/min. Como valores de referência utilizou-se as equações previstas preconizadas por Leiner et al., 1963.

A avaliação do pico de fluxo foi realizada antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise. Os valores obtidos (% do previsto) Pré HD ($84,31 \pm 2,35$) foram significativamente diferentes dos obtidos Pós HD ($93,26 \pm 2,09$) ($p < 0,0001$). Os resultados desta avaliação estão em concordância com a espirometria e são apresentados na figura 15.

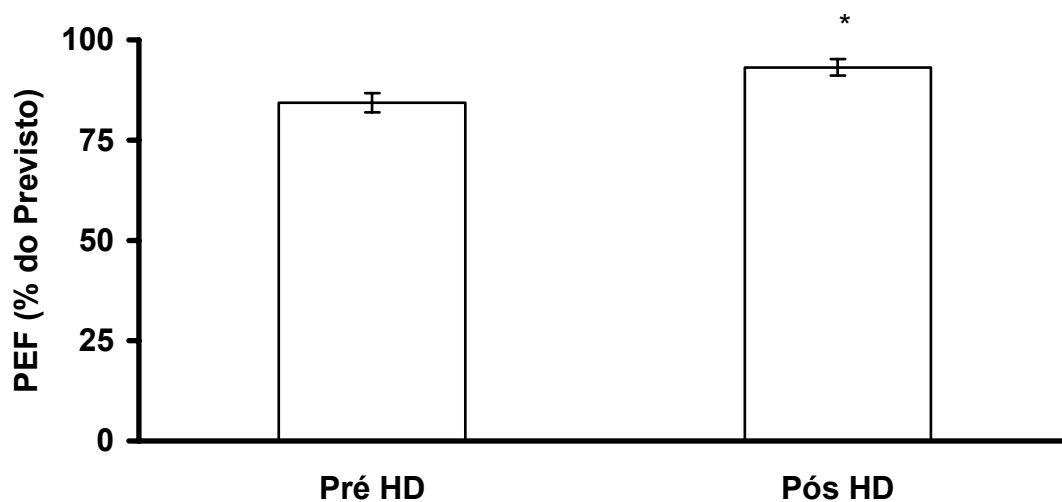


Figura 15. Avaliação do pico de fluxo expiratório – PEF, antes (Pré HD) e após (Pós HD) sessão de hemodiálise.

Os valores (% do previsto segundo Leiner et al., 1963), representam a média \pm erro padrão da média. * indica variação significativa pelo teste t ($p < 0,05$) entre as avaliações ($n=33$).

4.2 Estresse Oxidativo

4.2.1 Avaliação Pré e Pós Hemodiálise

4.2.1.1 Superóxido Dismutase

Neste trabalho avaliou-se a atividade de algumas enzimas antioxidantes. A SOD, enzima que possui atividade detoxificadora sobre o ânion superóxido, foi uma das avaliadas. A atividade desta enzima (U/mg de proteína), em eritrócitos, não

apresentou variação significativa na avaliação realizada Pré HD ($0,266 \pm 0,011$) em relação a Pós HD ($0,267 \pm 0,010$). Estes resultados são apresentados na figura 16.

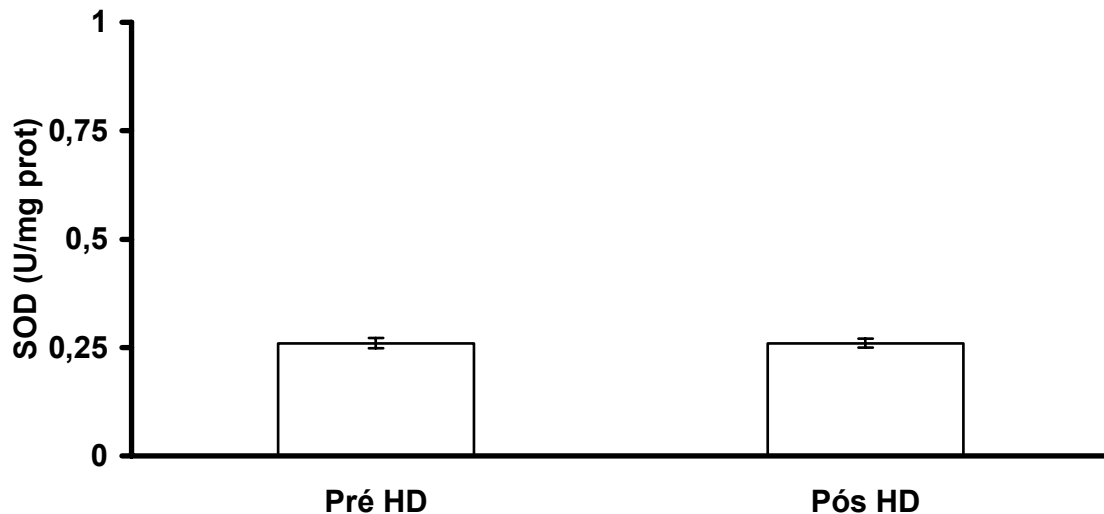


Figura 16. Atividade da superóxido dismutase – SOD (em U/mg de proteína) em eritrócitos de doentes renais crônicos antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise.

Os valores da figura representam a média \pm erro padrão da média, não existindo diferença significativa entre as avaliações (n=17).

4.2.1.2 Catalase

A outra enzima antioxidante avaliada neste estudo foi a catalase. Esta enzima tem atuação específica sobre o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A atividade da catalase (pmoles/mg de proteína), em eritrócitos não apresentou variação após única sessão de HD. Os valores Pré HD ($5,07 \pm 0,187$) e Pós HD ($5,03 \pm 0,137$) não foram estatisticamente diferentes. Os resultados desta variável estão apresentados na figura 17.

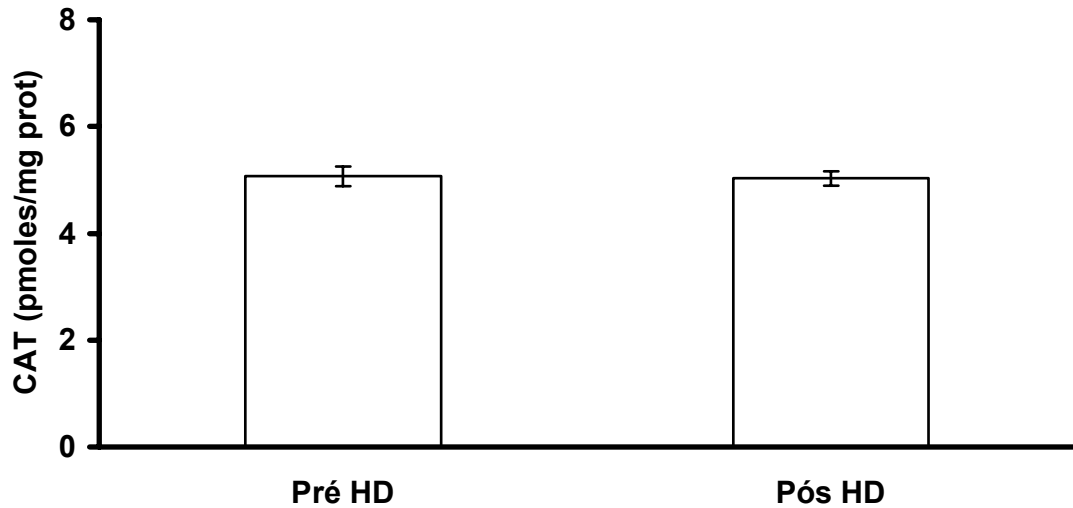


Figura 17. Atividade da enzima antioxidante catalase (em pmoles/mg de proteína), em eritrócitos de doentes renais crônicos antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise.

Os valores representam média \pm erro padrão da média, não havendo diferença significativa entre as avaliações (n=17).

4.2.1.3 Capacidade Antioxidante Total (TRAP)

O sistema antioxidante não enzimático foi avaliado através do TRAP. O TRAP (U Trolox/ μ L de amostra), foi avaliado no plasma de doentes renais crônicos antes e após sessão de HD apresentando redução significativa após sessão de hemodiálise. Pré HD ($1476,47 \pm 119,36$) e Pós HD ($648,47 \pm 87,87$) ($p < 0,0001$). Os resultados desta avaliação estão apresentados na figura 18.

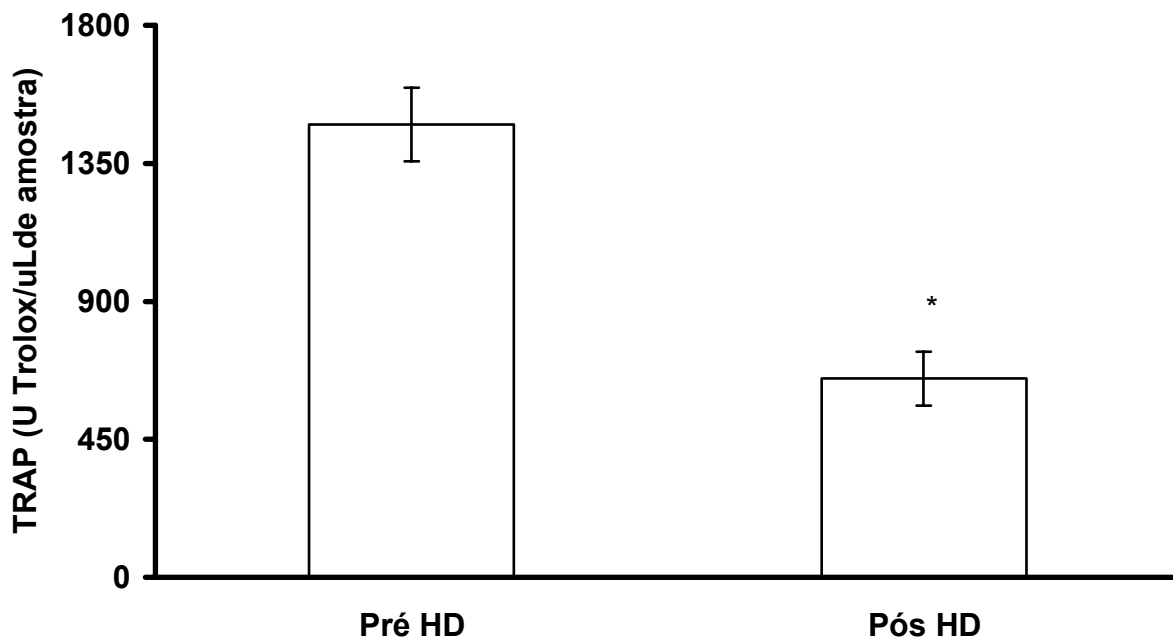


Figura 18. Avaliação da Capacidade Antioxidante Total - TRAP (em U Trolox/ μ L de amostra) no plasma de doentes renais crônicos antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise.

Os valores da figura representam a média \pm erro padrão da média. * indica diferença significativa pelo teste t ($p < 0,05$) em relação aos valores Pré HD ($n=17$).

4.2.1.4 Lipoperoxidação por Quimiluminescência

O dano aos lipídios de membrana de eritrócitos foi avaliado por quimiluminescência. Não houve variação nos níveis de LPO após uma única sessão de HD. Os valores de QL (cps/mg de hemoglobina) Pré HD (26.777 ± 2.993) e Pós HD (25.821 ± 3.559) não foram estatisticamente diferentes. Esses resultados são apresentados na figura 19.

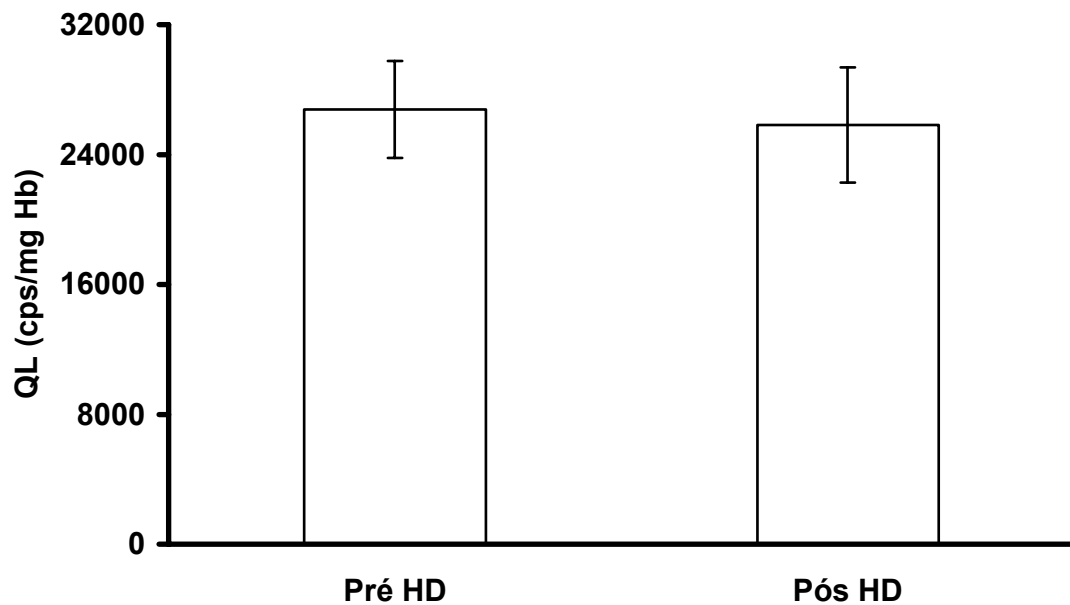


Figura 19. Avaliação da lipoperoxidação por quimiluminescência - QL (em cps/mg de hemoglobina) nos eritrócitos de doentes renais crônicos antes (Pré HD) e após (Pós HD) sessão de hemodiálise.

Os valores da figura representam a média \pm erro padrão da média, não houve diferença significativa entre as avaliações (n=17).

4.2.1.5 Oxidação de Proteínas – Carbonilas

O dano às proteínas foi avaliado pelo método das carbonilas. Os valores das carbonilas (nmol/mg de proteína), Pré HD ($5,62 \pm 0,46$) não foram estatisticamente diferentes dos obtidos após uma sessão de hemodiálise ($5,93 \pm 0,52$). Os resultados das carbonilas são apresentados na figura 20.

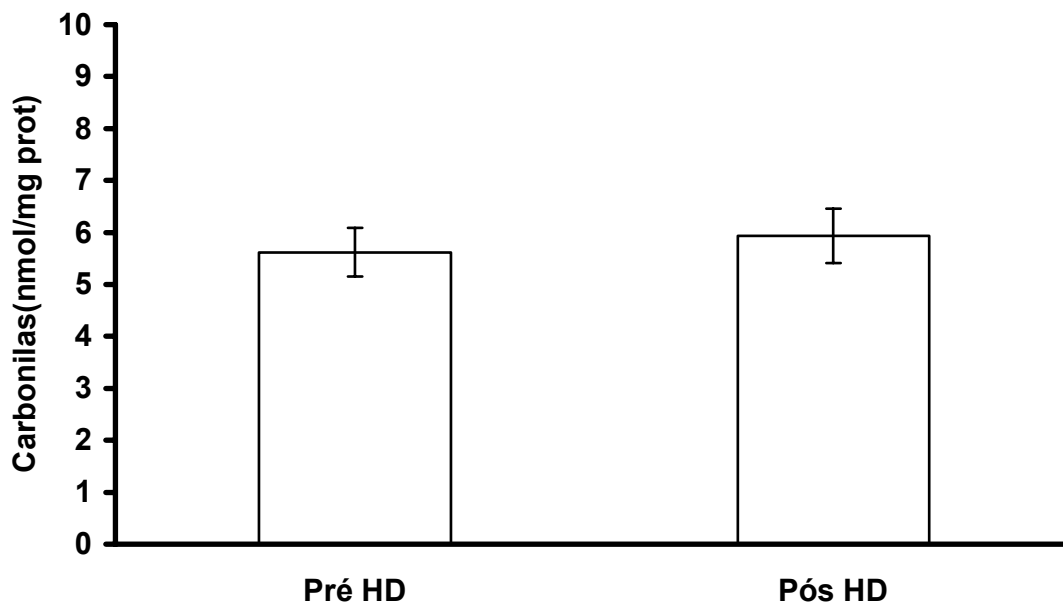


Figura 20. Avaliação das carbonilas (em nmol/mg de proteína), no plasma de doentes renais crônicos antes (Pré HD) e após (Pós HD) sessão de hemodiálise.

Os valores representam a média \pm erro padrão da média, não havendo diferença significativa entre as avaliações (n=17).

4.2.1.6 Nitratos

A avaliação de nitratos (em μM) no plasma de doentes renais crônicos Pré HD ($3,5 \pm 0,37$) não foram estatisticamente diferentes dos encontrados na avaliação realizada Pós HD ($5,52 \pm 1,06$), apesar dos valores apresentarem uma tendência de aumento após sessão de hemodiálise ($p=0,0698$). Os valores de nitratos obtidos estão representados na figura 21.

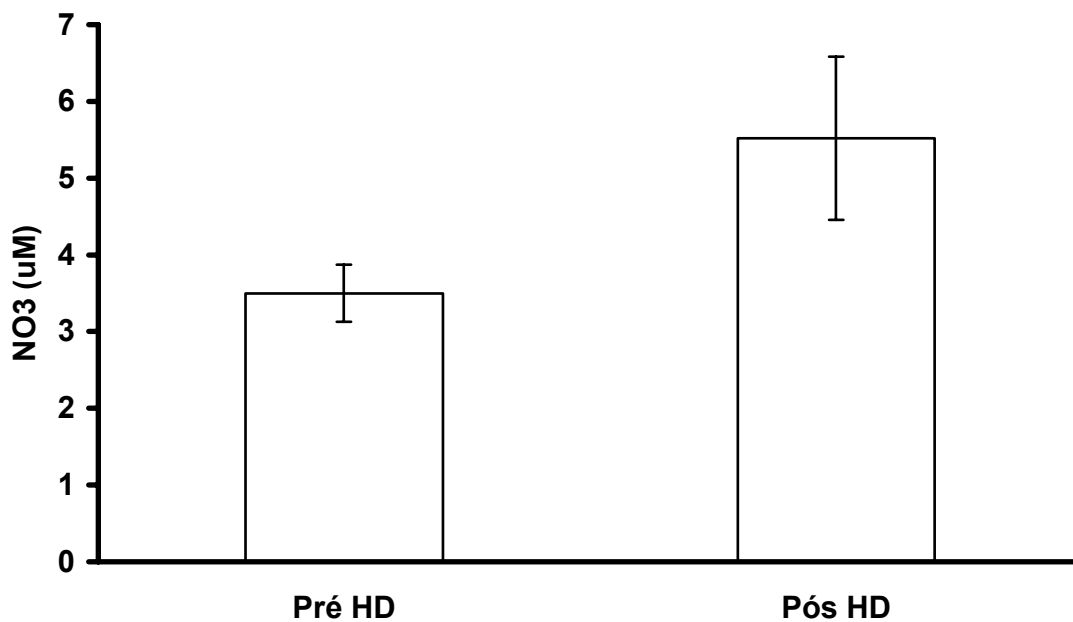


Figura 21. Avaliação de nitratos (em μM de NO_3^-), no plasma de doentes renais antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise.

Os valores representam a média \pm erro padrão da média, não havendo diferença significativa entre as avaliações ($n=17$).

4.2.1.7 Nitritos

A avaliação dos níveis de nitritos (em μM) avaliados no plasma dos pacientes apresentou um importante aumento após sessão de HD. Os valores Pré HD ($0,113 \pm 0,014$) foram estatisticamente diferentes dos encontrados Pós HD ($0,186 \pm 0,03$), ($p=0,0284$). Os valores são apresentados na figura 22.

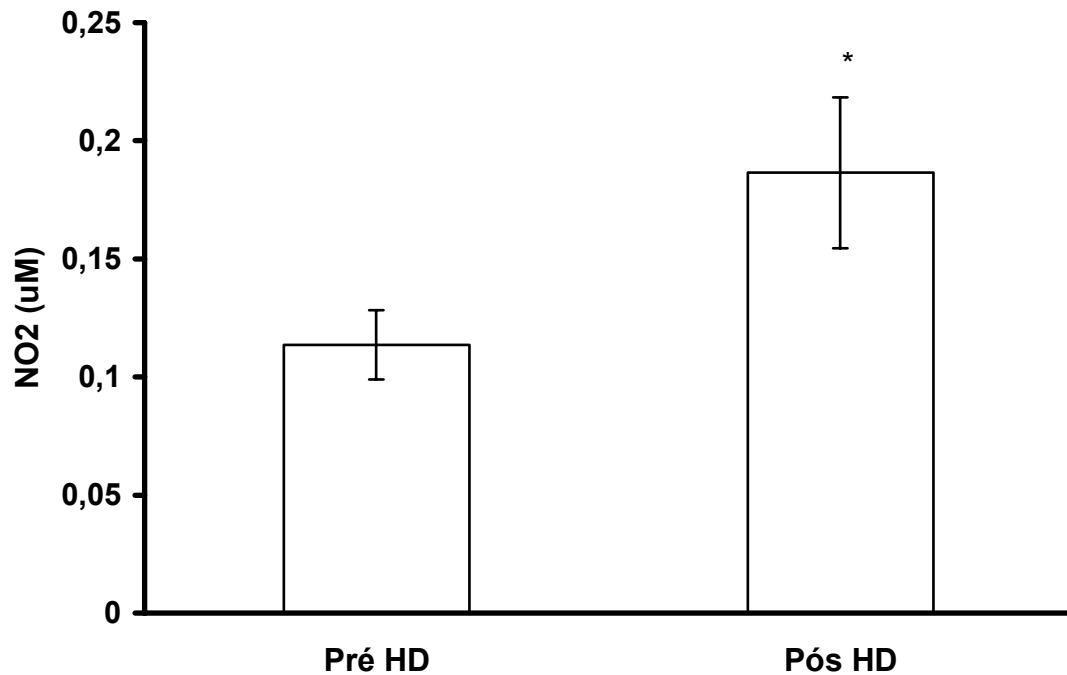


Figura 22. Avaliação dos níveis de nitritos (em μM), no plasma de pacientes renais crônicos em hemodiálise antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma única sessão de hemodiálise.

Os valores representam a média \pm erro padrão da média. * indica diferença significativa pelo teste t ($p < 0,05$) em relação à Pré HD ($n=17$).

4.2.2 Avaliação dos Pacientes em HD e Grupo Controle

4.2.2.1 Superóxido Dismutase

Após avaliação da atividade da SOD no grupo controle, observou-se que os valores dos pacientes em hemodiálise apresentavam uma importante redução na atividade dessa enzima. O nível de atividade da SOD (U/mg de proteína), nos doentes em hemodiálise ($0,266 \pm 0,011$) era significativamente mais baixo que os valores de SOD no grupo controle ($7,17 \pm 0,237$) ($p < 0,0001$). Os resultados de SOD dos pacientes em HD e grupo controle são apresentados na figura 23.

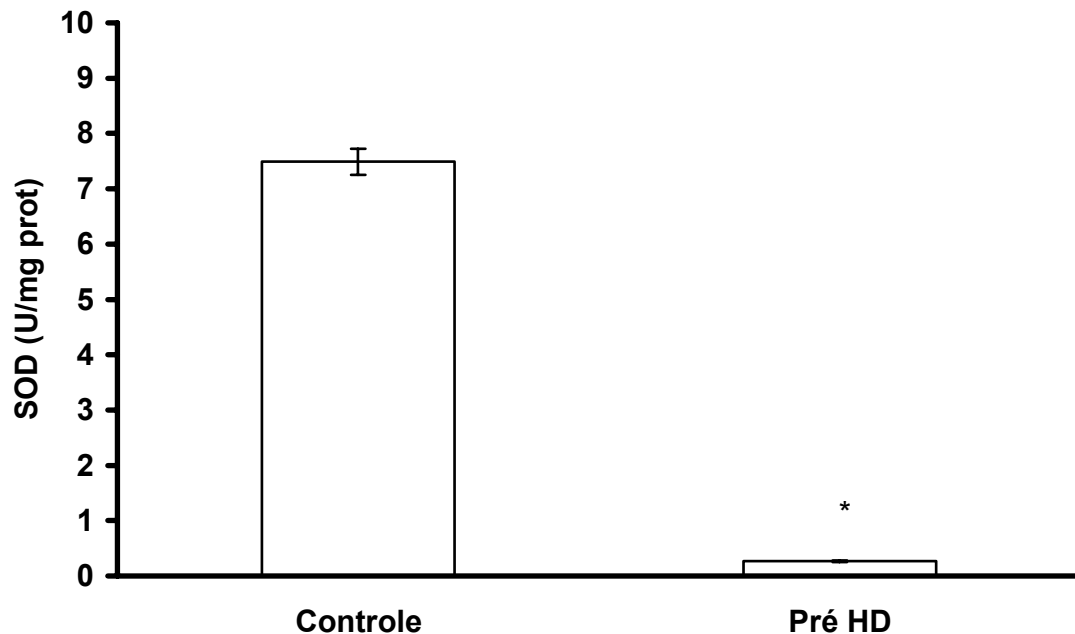


Figura 23. Atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase – SOD (em U/mg de proteína) de pacientes em hemodiálise (Pré HD) (n=17), e indivíduos saudáveis (controle) (n=18).

Os valores da figura estão representados em média \pm erro padrão da média.

* indica diferença significativa pelo teste t ($p < 0,05$), entre os grupos estudados.

4.2.2.2 Catalase

A atividade da catalase (pmoles/mg de proteína) dos pacientes em hemodiálise, Pré HD ($5,07 \pm 0,18$) comparada com o grupo controle ($7,94 \pm 0,26$), também apresentou uma redução significativa ($p < 0,0001$). Os resultados para atividade da catalase são apresentados na figura 24.

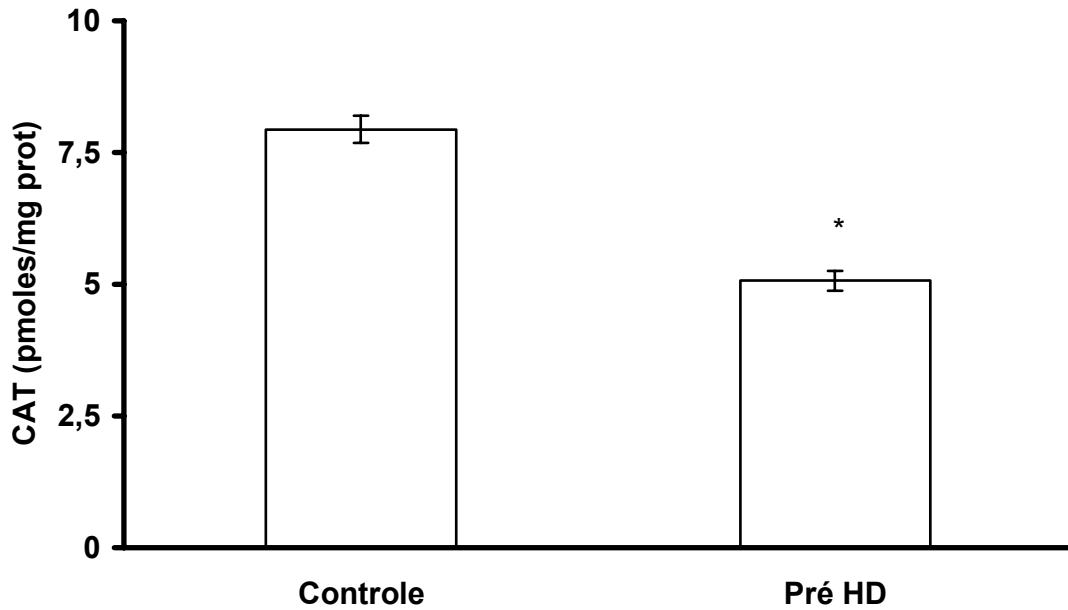


Figura 24. Atividade da enzima antioxidante catalase (em pmoles/mg de proteína) do grupo de doentes renais crônicos em hemodiálise (Pré HD) (n=17), e de indivíduos saudáveis (controle) (n=18).

Os valores da figura estão representados em média \pm erro padrão da média.

* indica diferença significativa pelo teste t ($p < 0,05$) nos valores observados entre os grupos.

4.2.2.3 Capacidade Antioxidante Total – TRAP

Os níveis de TRAP (em U Trolox/ μ L de amostra), encontrados nos doentes renais antes ou após sessão de hemodiálise, ou seja, mesmo após redução significativa, mostraram-se significativamente mais altos que os níveis observados nos indivíduos controle. Pré HD ($1.476,47 \pm 119,36$) e controle ($279,84 \pm 28,38$) ($p < 0,0001$). Os valores do TRAP dos pacientes em HD e grupo controle são apresentados na figura 25.

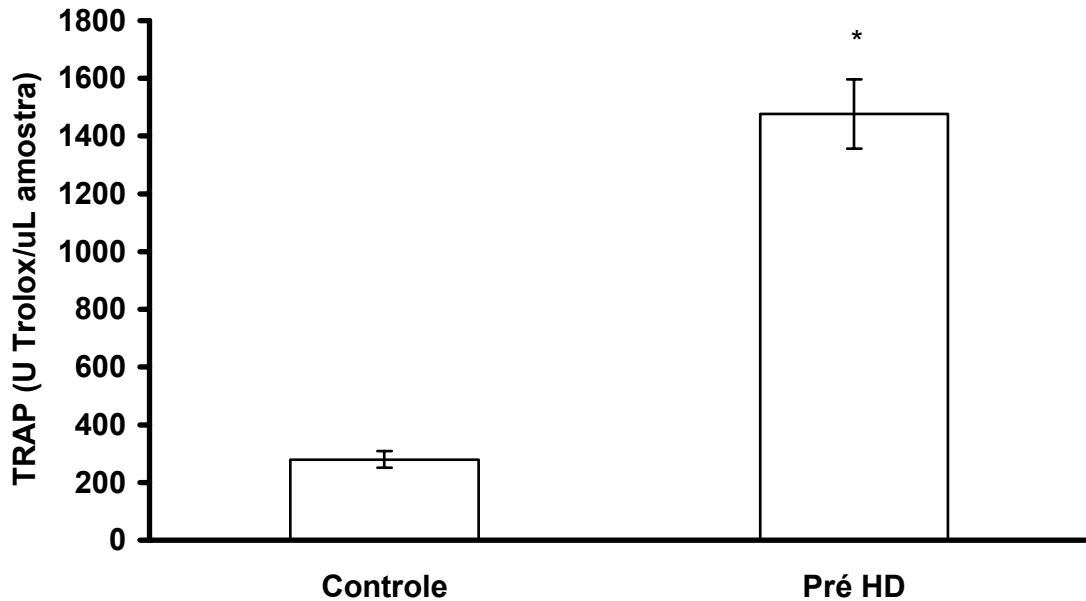


Figura 25. Avaliação da capacidade antioxidante total – TRAP (em U Trolox/ μ L de amostra), no plasma de indivíduos saudáveis (controle) (n=18), e pacientes renais crônicos antes de sessão de hemodiálise (Pré HD) (n=17). Os valores da figura representam a média \pm erro padrão da média. * indica diferença significativa pelo teste t ($p < 0,05$), entre os grupos estudados.

4.2.2.4 Lipoperoxidação por Quimiluminescência

O dano aos lipídios de membrana avaliados por QL (em cps/mg de hemoglobina) nos eritrócitos de doentes renais crônicos em HD e em indivíduos saudáveis são apresentados na figura 26. Os valores observados no grupo controle (13.140 ± 450) foram significativamente inferiores aos observados nos doentes renais em HD (26.777 ± 2.993) ($p < 0,0004$). Estes valores indicam maior dano oxidativo nos pacientes em hemodiálise.

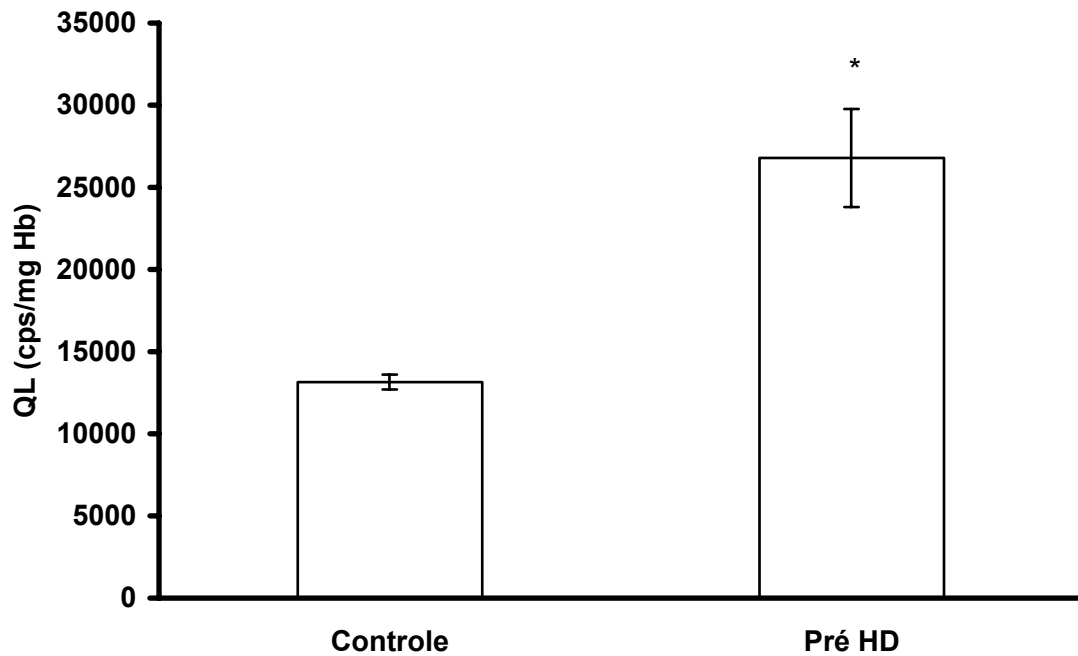


Figura 26. Avaliação da lipoperoxidação por quimiluminescência – QL (em cps/mg de proteína) nos eritrócitos de doentes renais crônicos antes de sessão de hemodiálise (Pré HD) (n=17), e de indivíduos saudáveis (controle) (n=18). Os dados representam a média \pm erro padrão da média. * indica diferença significativa pelo teste t ($p < 0,05$) entre os grupos estudados.

4.2.2.5 Oxidação de Proteínas – Carbonilas

O dano às proteínas avaliado pelo método das carbonilas (nmol/mg de proteína), apresentou um significativo aumento nos doentes renais antes de HD ($5,62 \pm 0,46$), quando comparou-se com o grupo controle ($3,30 \pm 0,25$) ($p < 0,0001$). Os valores obtidos para carbonilas de pacientes e grupo controle são apresentados na figura 27.

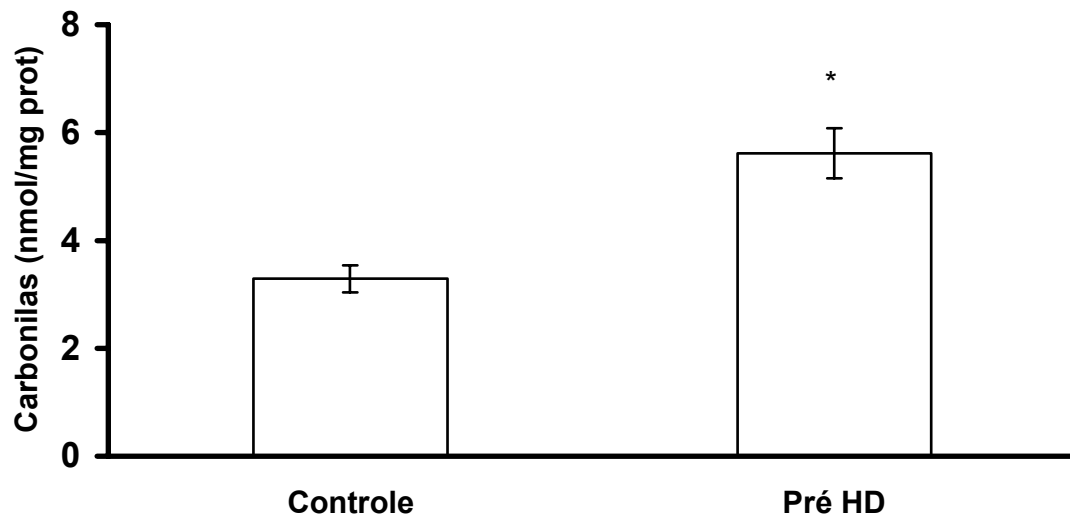


Figura 27. Avaliação da oxidação de proteínas pelas carbonilas (em nmol/mg de proteína) em doentes renais crônicos antes da sessão de hemodiálise (Pré HD) (n=17), e em indivíduos saudáveis (controle) (n=18).

Os valores representam média \pm erro padrão da média. * indica diferença significativa entre os grupos pelo teste t ($p < 0,05$).

4.2.2.6 Nitratos

A avaliação de nitratos (em μM) entre doentes renais antes de sessão de HD e indivíduos controle não apresentou variação significativa. Pré HD ($3,50 \pm 0,37$) e controle ($4,35 \pm 0,36$). Os valores obtidos para nitratos entre os grupos citados são apresentados na figura 28.

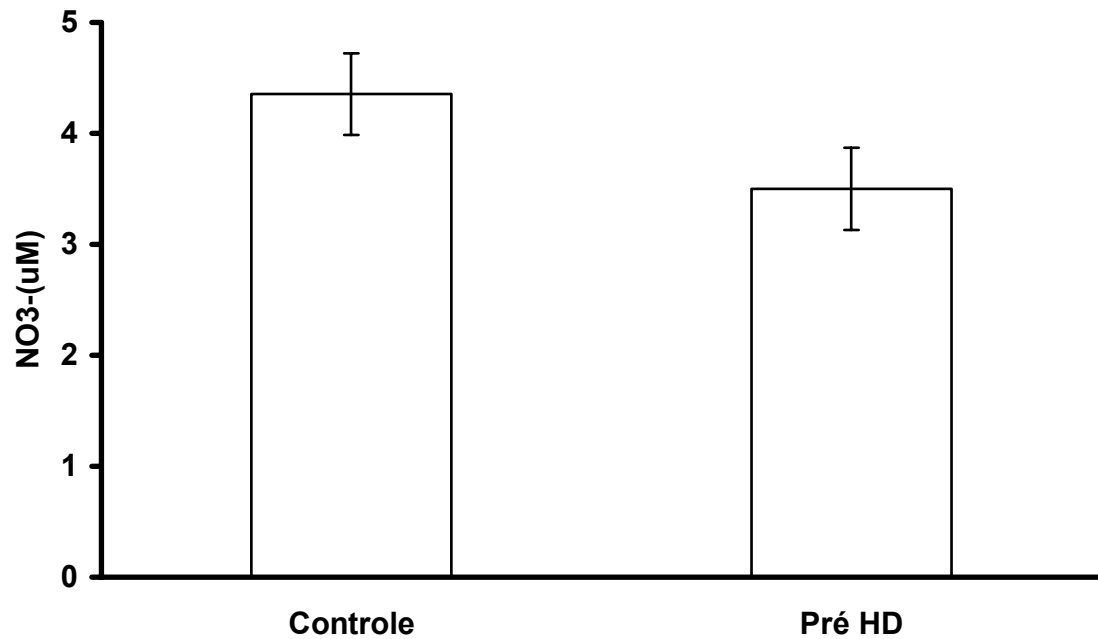


Figura 28. Avaliação de nitratos (em μM) no plasma de doentes renais crônicos antes de sessão de hemodiálise (Pré HD) ($n=17$), e em indivíduos saudáveis (controle) ($n=18$).

Os valores representam média \pm erro padrão da média, não havendo diferença significativa entre os grupos.

4.2.2.7 Nitritos

A avaliação de nitritos (em μM), outro metabólito do óxido nítrico, apresentou significativo aumento após HD, quando comparou-se esses valores com os valores obtidos no grupo controle, os valores obtidos nos doentes renais crônicos antes da HD - Pré HD ($0,11 \pm 0,014$) também foram superiores aos do controle ($0,05 \pm 0,005$) ($p=0,0023$). Esses dados são apresentados na figura 29.

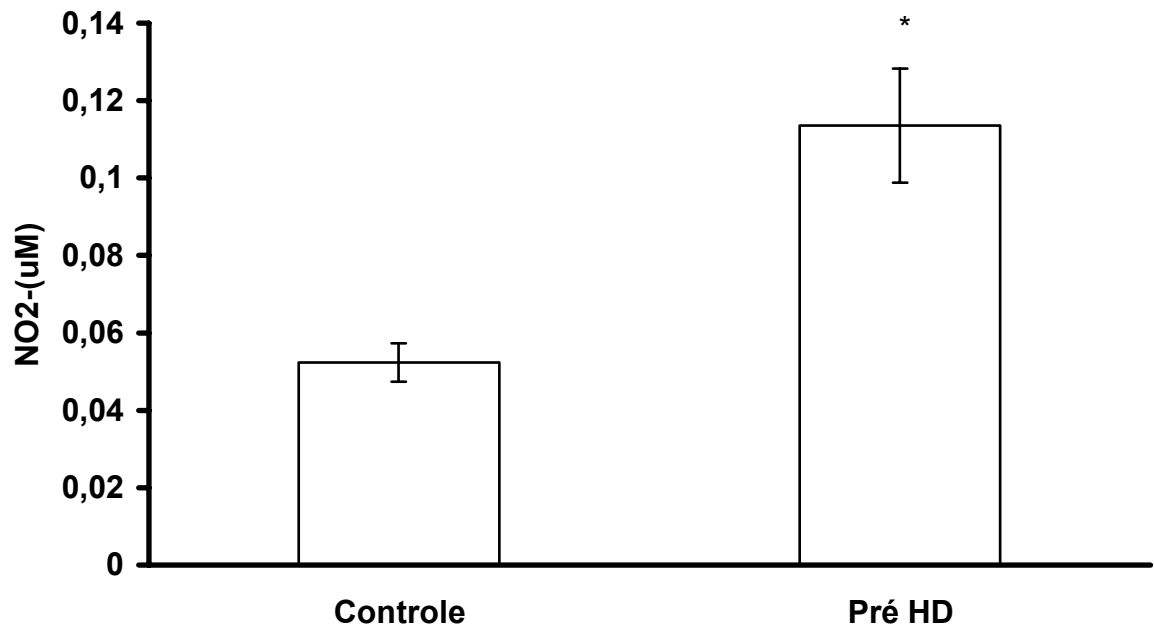


Figura 29. Avaliação de nitritos (em μM), em doentes renais crônicos antes de sessão de hemodiálise (Pré HD) (n=17), e de indivíduos saudáveis (controle) (n=18).

Os valores estão representam média \pm erro padrão da média. * indica diferença significativa entre os grupos pelo teste t ($p < 0,05$).

4.3 Avaliação Complementar

Para melhor visualização os dados referentes às variáveis bioquímicas, hemograma, e perda de peso corporal durante sessão de HD, estão apresentados na tabela 1. Os dados referentes ao hemograma: hematócrito e hemoglobina, foram avaliados apenas antes da sessão de HD e foram utilizados para analisar possíveis correlações entre as variáveis.

Os dados referentes à gasometria arterial antes e após HD, estão apresentados na tabela 2. Pode-se observar que não houve variação na saturação de oxigênio avaliada pela gasometria bem como pela oximetria. A PaCO₂, o pH e o

HCO₃ apresentaram aumento significativo e a PaO₂ apresentou redução significativa após HD.

Tabela 1. Variáveis bioquímicas, hemograma e variação percentual de perda de peso corporal, de doentes renais crônicos antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma sessão de hemodiálise (HD).

Variável	Pré HD ^a	Pós HD ^a	Teste t ^b
Uréia (mg/dL)	138,51 ± 6,07	57,42 ± 4,39	*
Creatinina (mg/dL)	7,63 ± 0,31	3,17 ± 0,17	*
Potássio (meq/L)	4,93 ± 0,17	3,24 ± 0,08	*
Sódio (meq/L)	137,78 ± 0,42	138,54 ± 0,46	ns
Fósforo (mg/dL)	6,18 ± 0,30	3,52 ± 0,16	*
Ácido úrico	6,15 ± 0,23	4,49 ± 0,20	*
Hematócrito (%)	34,66 ± 0,94	-	-
Hemoglobina (g/dL)	11,09 ± 0,30	-	-
%Perda de peso corporal	4,04 ± 0,268		

^a Valores expressos em média ± erro padrão. ^b Diferença não significativa (ns) e significativa (*) entre Pré e Pós HD pelo teste t (p<0,05).

Tabela 2. Gasometria arterial de doentes renais crônicos antes (Pré HD) e após (Pós HD) uma sessão de hemodiálise (HD).

Variável	Pré HD ^a	Pós HD ^a	Teste t ^b
PaO ₂ (mmHg)	94,99 ± 3,42	89,71 ± 3,54	*
PaCO ₂ (mmHg)	40,49 ± 0,81	43,00 ± 0,76	*
HCO ₃ (mmol/L)	25,72 ± 0,73	33,30 ± 0,69	*
pH	7,41 ± 0,008	7,50 ± 0,008	*
Sat O ₂ (%)	95,93 ± 1,0	95,73 ± 1,16	ns
Oximetria (%)	97,84 ± 0,16	97,24 ± 0,47	ns

^a Valores expressos em média ± erro padrão. ^b Diferença não significativa (ns) e significativa (*) entre Pré e Pós HD pelo teste t (p<0,05).

Tabela 3. Principais correlações significativas observadas entre variáveis espirométricas, tempo de tratamento com HD e variação percentual de perda de peso corporal durante sessão de HD.

Variáveis	r
Varição CVF X Variação VEF ₁	0,80 **
Varição PFE X Variação CVF	0,40 *
Varição PFE X Variação VEF ₁	0,48 **
Varição FEF _{25-75%} X Variação VEF ₁	0,59 **
Varição PEmáx X Variação VEF ₁	0,33 ^{ns}
Varição PFE X Variação PEmáx	0,51 **
Varição PFE X Variação PImáx	0,64 **
Varição PFE X Variação FEF _{25-75%}	0,36 *
Varição PImáx X Variação CVF	0,41 *
Varição PEmáx X Variação CVF	0,33 ^{ns}
Varição % perda peso X Variação VEF ₁	0,37 *
Meses de HD X Variação CVF	-0,37 *
Meses HD X Pré CVF	-0,57 **
Meses HD X Pré VEF ₁	-0,40 *

Correlação não significativa (ns), significativa a 5% (*) e 1% (**) de probabilidade.

5 DISCUSSÃO

As alterações fisiopatológicas observadas na insuficiência renal crônica surgem como resultado da perda das funções metabólica, endócrina e excretória dos rins (Alves et al., 1989).

Complicações pulmonares, geralmente designadas de pulmão urêmico, são comumente observadas em doentes renais crônicos, sendo as mais freqüentes, edema pulmonar clínico ou subclínico e derrame pleural (Kalender et al., 2002).

Neste estudo, avaliou-se a função pulmonar, através da espirometria de 33 pacientes com doença renal crônica em tratamento hemodialítico. Para serem avaliados, os pacientes deveriam estar sem sintomas respiratórios no dia da avaliação e não terem apresentado nenhum episódio pulmonar nos seis meses que antecederam o estudo. Utilizou-se a espirometria por ser um exame de fácil compreensão com resultados confiáveis e reprodutíveis. As espirometrias foram realizadas com espirômetro portátil na Unidade de Nefrologia do HCPA.

Avaliando-se as espirometrias obtidas antes da sessão de HD, se observou uma correlação negativa da CVF e VEF₁ com o tempo que os pacientes estavam em tratamento hemodialítico, ou seja, quanto maior o período de tempo que os pacientes estavam fazendo hemodiálise, menores os valores de CVF e VEF₁ obtidos pelos mesmos. Observou-se também, uma correlação negativa entre tempo de tratamento com hemodiálise e variação da CVF durante uma sessão deste tratamento. Portanto, além de obterem menores índices de CVF, os pacientes que realizam HD por um período maior de tempo também são os pacientes que melhoram menos a CVF após sessão de HD.

Os laudos espirométricos também foram avaliados (figuras 11 e 12), antes da HD observou-se que apenas 37% dos pacientes apresentavam espirometria normal e que, 63% apresentavam algum tipo de anormalidade respiratória. Dos pacientes com laudo espirométrico alterado, 71% apresentavam padrão respiratório restritivo com maior ou menor grau de comprometimento da função pulmonar. Dos 10 pacientes que apresentavam um padrão respiratório obstrutivo, 8 eram fumantes ou ex-fumantes.

Como se pode observar nas figuras 7 a 10, as variáveis espirométricas CVF, VEF₁ e PEF apresentaram uma melhora significativa após sessão de HD, FEF_{25-75%} também aumentou após HD, porém, este não foi estatisticamente significativo.

O aumento significativo observado nas variáveis espirométricas após HD, não foi muito acentuado, mas foi suficiente para que 15% dos pacientes avaliados normalizassem seu teste de função pulmonar, e 27% do total de pacientes avaliados apresentassem melhora que se refletiu na alteração de seus laudos espirométricos. Após HD, 52% dos pacientes apresentavam espirometria normal e, 48% algum tipo de padrão respiratório anormal. Observou-se que a melhora ocorreu principalmente nos pacientes com padrão respiratório restritivo. Dos pacientes com DVR leve, 50% normalizaram sua espirometria, os pacientes com DVR moderado e grave melhoraram seu quadro restritivo passando a apresentar um DVR leve. O paciente com DVR leve com CVF reduzida normalizou a CVF e um paciente com DVC leve antes da HD normalizou seu componente restritivo.

Após a HD, 21% dos pacientes ainda apresentavam padrão respiratório restritivo grau leve, 21% algum grau de comprometimento obstrutivo e 6% apresentavam distúrbio ventilatório combinado.

A presença de doença pulmonar restritiva em pacientes urêmicos pode ser devido à calcificação pulmonar, vasculite infecção recorrente, sobrecarga de volume ou edema pleural. Geralmente a capacidade vital não é acometida a não ser que a causa seja sobrecarga de fluidos ou doença cardíaca incipiente (Prezant, 1990).

Quando ocorre acúmulo de água extravascular no pulmão, esta ocupa primeiramente o tecido intersticial mais periférico e à medida que o seu volume vai aumentando estende-se para zonas axiais peri-hilares. O acúmulo de água no

período interdialítico relaciona-se com aumento da pressão hidrostática. Isso associado ao aumento nos valores séricos de substâncias osmoticamente ativas e aumento de permeabilidade poderá condicionar a retenção de água extravascular pulmonar sem que haja manifestações clínicas ou radiológicas. Esta retenção, no entanto, seria suficiente para modificar a expansibilidade pulmonar e a permeabilidade das vias aéreas de menor calibre. Geralmente, com o tratamento hemodialítico o edema desaparece rapidamente sem deixar seqüelas importantes (Alves et al., 1989; Prezant, 1990; Kalender et al., 2002).

A ocorrência de insultos pulmonares repetidos pela sobrecarga de fluidos, pode danificar a parede alvéolo-capilar e induzir a uma redução na capacidade de difusão sem sintomas óbvios (Kalender et al., 2002). É possível que esses repetidos episódios de edema subclínico que ocorrem no intervalo de cada sessão de HD, poderiam induzir à fibrose intersticial, justificando os índices mais baixos de CVF e VEF₁ em doentes renais em tratamento hemodialítico por um período maior de tempo. Alguns autores têm dado atenção à fibrose pulmonar como um fator explicativo para o defeito na difusão em pacientes com doença renal crônica, mas isto não foi verificado histopatologicamente (Kalender et al., 2002; Morris & Bernard, 1995).

Um estudo realizado por Metry et al., (1997), utilizando tomografia computadorizada, avaliou as mudanças de fluidos nos pulmões de 10 pacientes em hemodiálise, além de avaliar os volumes e função pulmonar por pletismografia. Os autores observaram que houve aumento significativo da capacidade pulmonar total e capacidade residual funcional após HD. O volume corrente também apresentou melhora, porém, este não foi estatisticamente significativo. Apesar da melhora dos volumes pulmonares após HD estes permaneciam abaixo dos valores previstos. A perda de líquido durante o tratamento era de $2,9 \pm 1$ litro. Neste estudo, a hipervolemia pulmonar antes da HD era manifestada por um aumento significativo da densidade pulmonar quando comparada com indivíduos controle, após a diálise a redução na água corporal total era acompanhada por uma diminuição na densidade pulmonar. Os resultados indicam uma melhora na aeração dos pulmões e ocorreu

normalização da densidade pulmonar após HD em 6 dos 10 pacientes, porém, a diminuição da densidade pulmonar foi um achado comum em todos os pacientes avaliados. Não houve correlação entre mudanças da densidade pulmonar e grau de diálise. Os autores acreditam que a distribuição de água após HD nos compartimentos corporais é diferente de paciente para paciente, e isto poderia ser a explicação para diferentes variações da densidade pulmonar em pacientes com a mesma variação percentual de peso corporal.

Pode-se observar através dos dados da gasometria (tabela 2), que a melhora das variáveis espirométricas não se refletiu em melhora da oxigenação. Após a HD, os pacientes apresentavam aumento significativo nos níveis de HCO_3 e pH, o que caracteriza um quadro de alcalose metabólica. Além do papel de oxigenação e eliminação de CO_2 , os pulmões são fundamentais para o equilíbrio ácido-básico. Ácidos fixos são produzidos pelo metabolismo tecidual e são continuamente eliminados pelos rins, sendo que cerca de 40-80mEq de ácidos fixos são diariamente removidos. Nas condições em que a habilidade dos rins em manter o equilíbrio foi perdida, os pulmões compensam o desequilíbrio de forma aguda ou crônica, para preservar um pH em níveis aceitáveis (Viegas, 2002). Quadros de hipoventilação são descritos quando ocorre formação de bicarbonato em pacientes dialisados por acetato, ou resultante de alcalose metabólica intradialítica com altas doses de bicarbonato (Barros et al., 1999). Essa compensação respiratória é claramente observada por aumento significativo nos níveis de PaCO_2 e por diminuição significativa nos níveis de PaO_2 nos pacientes após sessão de HD.

Como se pode observar nas figuras 9 e 15, o PFE apresentou melhora significativa após sessão de hemodiálise. Observa-se também, que os dados obtidos foram semelhantes nos dois métodos utilizados para essa avaliação. O PFE apresentou correlação significativa com CVF, VEF_1 , $\text{FEF}_{25-75\%}$ e com a força muscular respiratória (tabela 3).

Distintos medidores portáteis de PFE diferem nos resultados observados para um mesmo indivíduo e isto pode ter importantes implicações no tratamento dos pacientes (Pereira, 2002). No entanto, a monitorização sistemática do PEF, através de um protocolo estabelecido e equipamento adequado, poderia na impossibilidade

de se realizar exames como espirometria, volumes pulmonares ou RX, sinalizar alguma alteração na função pulmonar de doentes renais crônicos em HD, já que a melhora dos índices de PFE, associam-se com a melhora das variáveis espirométricas e da força muscular respiratória.

No estudo realizado por Davenport & Williams (1988), os autores observaram uma queda no PFE após trinta minutos de HD, esta era acompanhada por uma queda na PaO₂. Após trinta minutos de HD o PFE voltava a subir. A variação no PFE não apresentou relação com a variação de peso corporal durante sessão de HD.

A hipoxemia arterial ocorre cerca de quinze minutos após o início da hemodiálise às vezes causando sintomas respiratórios ou cardíacos em pacientes com doença pulmonar subjacente. Componentes da membrana causam sequestração de leucócitos na vasculatura pulmonar com leucopenia, aumento do gradiente alvéolo-capilar e diminuição da capacidade de difusão (Barros et al., 1999). Mudanças no PFE durante a diálise são provavelmente o reflexo do balanço entre, melhora esperada devido a remoção de fluidos durante a diálise e broncoconstrição devido a bioincompatibilidade da membrana de diálise (Davenport & Williams, 1988).

Alguns autores mostram um maior aumento no PFE em indivíduos com perdas de líquido maiores que 2 Kg durante sessão de hemodiálise. No presente estudo, não se observou correlação significativa entre variação de peso corporal e aumento nos níveis de PFE. A distribuição da água corporal após HD é diferente em cada paciente e isto pode explicar diferentes variações de PFE em pacientes com mesma perda percentual de peso corporal. Além disso, o PFE é um parâmetro esforço dependente e pode ser utilizado como um índice da capacidade de tossir, ou indiretamente da força muscular expiratória (Pereira, 2002). Aumento da força muscular expiratória, como observado no nosso estudo (figura 14), juntamente com a perda de líquido nos pulmões, pode ser responsável por esta importante melhora no PFE dos doentes renais crônicos após HD, já que o mesmo apresentou correlação significativa com a PEmáx.

Apesar dos pacientes urêmicos não apresentarem nenhum sintoma respiratório, seus testes de função pulmonar na grande maioria dos pacientes avaliados apresentavam alteração funcional que melhorava após a HD. Isto

demonstra o comprometimento do sistema respiratório que na maioria das vezes passa despercebido. Embora essas alterações possam ser de pequena significância clínica para doentes renais crônicos estáveis, elas podem ter importância crítica para pacientes com infecções pulmonares, edema pulmonar ou anemia.

A doença renal crônica é acompanhada por um complexo de patologias. Algumas manifestações decorrentes da doença renal crônica como, envelhecimento acelerado, catarata, aterosclerose, câncer, diminuição das células vermelhas do sangue e disfunção plaquetária, podem estar relacionadas com uma produção anormal de radicais livres (Paul et al., 1993). A insuficiência renal crônica é caracterizada por um estado pró-oxidante, demonstrado pela presença de produtos da reação com radicais livres e pela depleção de antioxidantes no plasma e eritrócitos desses pacientes (Clearmont et al., 2000). Somente quando os sistemas de proteção são superados é que o ataque das EAO é favorecido podendo causar danos às células (Peuchant et al., 1994).

Neste estudo, procurou-se avaliar o estresse oxidativo de doentes renais crônicos em tratamento hemodialítico sob todos os seus aspectos. Avaliou-se o sistema antioxidante de defesa enzimático através da mensuração da atividade das enzimas superóxido dismutase e catalase, e avaliou-se o sistema antioxidante não enzimático através da avaliação da capacidade antioxidante total. O dano causado pelo estresse oxidativo foi avaliado através de marcadores de dano à lipídios e proteínas, e avaliou-se indiretamente o óxido nítrico através de seus metabólitos. Verificou-se o efeito da HD sobre todas essas variáveis.

Os dados referentes à enzima antioxidante superóxido dismutase avaliada nos eritrócitos dos doentes renais crônicos que realizam hemodiálise, bem como, no grupo controle são apresentados nas figuras 16 e 23. Observou-se que não houve variação significativa da enzima SOD após sessão de hemodiálise. No entanto, quando os níveis obtidos nos pacientes em hemodiálise foram comparados com os obtidos nos controles, observou-se uma redução significativa em sua atividade. Estes dados confirmam achados da literatura. Paul et al., (1993), observaram níveis significativamente baixos de SOD e GPx nos eritrócitos de doentes renais crônicos quando comparados com sujeitos controles. Durak et al., (1994), encontraram níveis

significativamente baixos de SOD, GPx e catalase nos doentes renais crônicos em tratamento com HD e CAPD quando comparados com sujeitos saudáveis, porém, quando analisaram a atividade dessas enzimas em grupo de pacientes recebendo tratamento conservador com e sem drogas, os valores dessas enzimas não eram diferentes dos valores encontrados no grupo controle. Cristol et al., (1997), também observaram uma redução na atividade da SOD em pacientes tratados com HD, independentemente da administração de eritropoetina, quando comparados com controles. Neste estudo, a GPx não apresentou valores diferentes do grupo controle.

Em um estudo, onde foi avaliada a atividade da SOD nos eritrócitos de pacientes em HD recebendo terapia intravenosa de ferro os pacientes foram divididos em grupos de acordo com seus níveis séricos de ferritina. Os valores da atividade da SOD nos pacientes eram similares aos encontrados nos controles em todos os grupos (<300; 301 a 600; >601 $\mu\text{g/L}$ respectivamente). Após infusão intravenosa de ferro, ocorreu uma diminuição significativa na atividade da SOD. Neste estudo, observou-se também que os níveis de GPx no plasma e nos eritrócitos dos grupos com maior nível de ferritina eram mais altos que os encontrados nos controles. Não houve variação na atividade da GPx após infusão intravenosa de ferro (Lim et al., 1999). Um estudo utilizando diferentes tipos de membranas de diálise, uma delas modificada contendo vitamina E, com infusão ou não de vitamina C durante uma única sessão de hemodiálise observou que os níveis de SOD e GPx eram mais baixos que os controles, não sendo modificados pelo tratamento (Eiselt et al., 2001).

A enzima SOD citosólica é cobre e zinco dependente. A diminuição desses íons em pacientes recebendo tratamento hemodialítico pode contribuir para uma diminuição da atividade da SOD (Paul et al., 1993). A atividade da SOD pode também ser diretamente diminuída por um aumento na produção de íons superóxido e peróxido de hidrogênio (Travacio & Llesuy, 1996). Além disso, a maioria dos doentes renais crônicos em HD, recebe terapia com eritropoetina e ferro e, sabe-se que o ferro atua como catalisador na geração de espécies ativas de oxigênio, como o tóxico radical hidroxil e que espécies férricas podem estar envolvidas em diferentes

etapas da lipoperoxidação como iniciação e propagação (Cristol et al., 1997). Todos estes fatores podem estar influenciando a atividade da SOD nestes pacientes com conseqüente diminuição de sua atividade.

A outra enzima avaliada neste estudo, a catalase (figuras 17 e 24), a exemplo da SOD, não apresentou variação em sua atividade após sessão de hemodiálise. Porém, quando comparada com o grupo controle, a atividade da catalase estava significativamente mais baixa.

Durak et al., (1994), observaram uma redução na atividade da catalase nos eritrócitos de doentes renais. A catalase estava reduzida em todos os grupos de pacientes desde aqueles em tratamento conservador com ou sem uso de drogas como nos pacientes em tratamento dialítico, CAPD ou HD.

A exposição a alguns elementos como alumínio, silicone ou ferro durante diálise, deficiência de algum elemento essencial participante da ativação de algumas enzimas como selênio ou zinco, além de outros fatores ainda não esclarecidos podem ser os responsáveis pela baixa atividade da catalase e SOD nos eritrócitos dos pacientes em tratamento dialítico (Durak et al., 1994).

Nossos resultados indicam claramente que os mecanismos de defesa enzimáticos avaliados através da atividade da SOD e da catalase, estão diminuídos nos eritrócitos de doentes renais crônicos que realizam hemodiálise e que não há alteração na atividade dessas enzimas após uma única sessão de hemodiálise.

Neste estudo, avaliou-se também a capacidade antioxidante total (TRAP), dados apresentados nas figuras 18 e 25. O interesse nesse tipo de avaliação ocorre em função de que ela pode fornecer informações a respeito da capacidade dos sistemas em resistir aos desequilíbrios do estresse oxidativo (Evelson et al., 2001). O método permite medir a capacidade da amostra em agir como antioxidante frente a radicais livres formados. A capacidade apresentada pela amostra é comparada a um padrão neste caso, o Trolox (vitamina E hidrossolúvel)(Lissi et al., 1992; Evelson et al., 2001). Dentre as substâncias antioxidantes medidas pela técnica estão: vitamina C, ácido úrico e glutathione, principais antioxidantes não enzimáticos hidrossolúveis do plasma. As substâncias são mensuradas em conjunto e não individualmente.

Níveis de vitamina C nos doentes renais crônicos em HD estão, na maioria das vezes mais baixos que os encontrados em pessoas saudáveis. Além disso, é observada uma diminuição nos níveis de vitamina C ao final da diálise (Eiselt et al., 2001). Como resultado da ação dos radicais livres, a vitamina E é convertida a α -tocoferil, um radical livre. O radical livre α -tocoferil não possui propriedades antioxidantes e pode disparar o processo de peroxidação lipídica das membranas. A vitamina C, um dos antioxidantes medidos pelo TRAP, é uma substância responsável pela regeneração do radical α -tocoferil a tocoferol (vitamina E). Essa pode ser uma explicação para a relatada redução concomitante do TRAP e vitamina C após sessão de HD.

Clermont et al., (2000), observaram uma depleção acentuada de antioxidantes após sessão de hemodiálise. Os autores encontraram também uma diminuição nos níveis de vitamina C e tióis, e um aumento nos níveis do radical ascorbil em relação ao nível de vitamina C. A atividade antioxidante do plasma e os níveis de ácido úrico eram significativamente mais altos nos doentes renais crônicos. Após HD, os níveis de vitamina C diminuam e a razão radical ascorbil/vitamina C aumentava, já a capacidade antioxidante do plasma e o nível de ácido úrico eram significativamente mais baixos após o procedimento de diálise. O aumento nos níveis do radical ascorbil após a diálise demonstra um aumento na concentração de espécies ativas de oxigênio.

Erdogan et al., (2002), em uma avaliação da capacidade antioxidante total no plasma humano, mostraram que esta era formada pela presença de: urato (35 – 65%), ascorbato (0 – 24%), vitamina E (5 – 10%) e proteínas (10 – 50%).

Neste trabalho, observou-se uma diminuição paralela em ambos, ácido úrico e estado antioxidante do plasma após sessão de HD, bem como maior TRAP nos pacientes quando comparados aos controles. Esse maior TRAP tem sido atribuído a um aumento no nível de urato desses pacientes e os resultados deste trabalho estão em concordância com Clermont et al., (2000).

A importância do ácido úrico como scavenger de $\cdot\text{OH}$ *in vivo* é ainda discutida. Estudos mostraram um efeito benéfico de sua molécula em tecido como o miocárdio,

porém é ainda uma tendência considerar o ácido úrico como um fator de risco com respeito às doenças coronarianas e aterosclerose (Clermont et al., 2000).

A depleção da capacidade antioxidante é atribuída em grande parte à eliminação do ácido úrico pela diálise. Em adição, é freqüente uma perda de antioxidantes causada pela remoção de antioxidantes solúveis em água durante sessão de hemodiálise devido ao seu baixo peso molecular. As defesas podem também ser enfraquecidas pela perda causada em função de grande produção de radicais livres (Wratten et al., 2000).

A alta capacidade antioxidante não indica melhora das defesas antioxidantes e não exclui a deficiência de alguns antioxidantes (Eiselt et al., 2001). Nas amostras de soro e saliva, valores de TRAP são enfaticamente correlacionados com o ácido úrico devido à alta concentração desse antioxidante. Essa dependência dos valores de TRAP com a concentração de um antioxidante em que a concentração é pobremente relacionada com o estresse oxidativo limita a utilização dessa técnica como um índice de estado antioxidante no plasma (Evelson et al., 2001). Medidas diretas dos níveis de vitaminas e outros antioxidantes hidrossolúveis poderiam auxiliar na discussão desses dados.

Vários estudos mostram que marcadores de estresse oxidativo estão aumentados na insuficiência renal crônica. Um dos marcadores avaliado pelo estudo foi a determinação do dano oxidativo aos lipídios, lipoperoxidação (LPO). A LPO tem sido mostrada estar envolvida na patogênese de doenças como aterosclerose e câncer, doenças comumente encontradas entre os doentes renais crônicos que realizam HD.

Níveis aumentados de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), têm sido relatados nesses pacientes, porém, não está claro se o aumento da LPO é causado pela diálise ou pela patologia propriamente dita. Não pode ser excluída a possibilidade de que a LPO aumente em função do tratamento hemodialítico, já que é possível que granulócitos sejam ativados pelas membranas de diálise, resultando na geração de EAO capazes de oxidar lipídios do plasma e dos eritrócitos. Além disso, o sangue é exposto a um grande fluxo e a superfícies artificiais durante o circuito extra-corpóreo. O TBARS pode também ser formado durante peroxidação do

ácido araquidônico pelas enzimas lipoxigenase e cicloxigenase (Schettler et al., 1994).

Um aumento nos níveis de TBARS nos eritrócitos de pacientes em hemodiálise foram observados por Paul et al., (1993), não havendo correlação com sexo, idade, tipo de membrana de diálise ou duração do tratamento. Neste trabalho, os autores não constataram variação do TBARS no plasma desses pacientes. Já os dados apresentados por Schettler et al., (1994), mostram que os valores de TBARS estavam significativamente elevados no plasma de doentes renais e que esses não se modificavam após sessão de hemodiálise.

Utilizando HPLC – cromatografia líquida de alta performance, Peuchant et al., (1994), observaram um aumento nos níveis de malondialdeído (MDA), um produto final da LPO, no plasma de pacientes renais, aumentando ainda mais após diálise. Nos eritrócitos desses pacientes, os níveis de MDA antes e após sessão de hemodiálise não diferiram dos níveis observados em indivíduos controle. Como o presente trabalho, os autores observaram uma importante redução nos níveis de vitamina E nos doentes renais, independentemente de estarem ou não em tratamento hemodialítico. Os autores acreditam que essa redução pode ocorrer devido ao seu alto consumo como antioxidante frente a uma produção aumentada de radicais livres.

Hirayama et al., (2000), avaliaram a LPO através do TBARS e PCOOH – hidroperóxido de fosfatidilcolina, no plasma e eritrócitos antes e após sessão de hemodiálise. A mensuração do PCOOH foi realizada com o objetivo de medir um produto mais específico da peroxidação lipídica e pela fosfatidilcolina ser um componente dominante da camada externa da membrana dos eritrócitos. Foram encontrados níveis significativamente maiores de TBARS e PCOOH no plasma e eritrócitos dos pacientes que nos controles sugerindo um aumento no estado oxidativo destes pacientes. Os valores não foram modificados pela hemodiálise.

O TBARS também foi avaliado no tecido adiposo subcutâneo de doentes renais crônicos. Este estudo observou que o nível do TBARS do tecido adiposo subcutâneo nos doentes renais era significativamente maior se comparado aos níveis de TBARS encontrados no plasma e eritrócitos destes. Uma das teorias

propostas para explicar estes achados é que peróxidos lipídicos produzidos em outros órgãos podem ser transportados pela circulação e acumulados no tecido adiposo. O TBARS foi avaliado nos diferentes níveis da doença renal: fase inicial com tratamento conservador, fase inicial do tratamento com hemodiálise e tratamento regular com hemodiálise. Em todos os grupos de pacientes, os valores observados eram significativamente mais elevados do que os níveis encontrados em indivíduos controle. Os autores sugerem que o TBARS no tecido subcutâneo pode ser um marcador sensível da LPO (Gotoh et al., 1997).

Contrastando com os trabalhos já mencionados, Erdogan et al., (2002), não observaram aumento nos níveis séricos de MDA em pacientes recebendo tratamento dialítico CAPD ou HD quando comparados com indivíduos controle.

Como pôde-se observar, a grande maioria dos estudos avalia a lipoperoxidação através da técnica de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Os radicais livres atacam os ácidos graxos poliinsaturados das membranas celulares resultando na formação de produtos da LPO como dienos conjugados e malondialdeído (MDA), um dos componentes medidos pelo TBARS. O TBARS é um método bastante difundido, porém, pouco sensível e específico. Sabe-se que muitos fatores como, composição dos ácidos graxos, quantidade de gordura e de antioxidantes podem modificar essa reação (Janero, 1990). Durante HD, ocorre influência de diversas substâncias incluindo glicose, que podem afetar a reação com o TBA. Desse modo, é necessária a utilização de uma técnica mais sensível para melhorar a qualidade e acurácia nas determinações de lipoperoxidação nos doentes renais (Hirayama et al., 2000; Schettler et al., 1994). A determinação da lipoperoxidação neste trabalho foi feita através da técnica de quimiluminescência (QL), descrita por Gonzalez-Flecha et al., (1991). Esta técnica tem sido usada para determinar a ocorrência de estresse oxidativo em diversas situações patológicas e é um método bastante sensível para medida da LPO. Analisando os dados apresentados nas figuras 19 e 26, observa-se que os valores da QL não foram modificados pela sessão de HD, e que os mesmos eram significativamente maiores que o grupo controle. Apesar da técnica usada para mensurar o dano aos lipídios ser diferente da utilizada habitualmente, os resultados apontam para um mesmo

caminho, um importante estado de estresse oxidativo nestes pacientes, não sendo alterado por uma única sessão de hemodiálise.

Acredita-se que um caminho compartilhado por ambos, hemodiálise e uremia, uma vez que o aumento do estresse oxidativo tem sido descrito em todos os estágios da doença renal, é a amplificação das respostas inflamatórias. Um estímulo disparador inicial poderia provocar a produção de citocinas inflamatórias ou aumento das EAO como o superóxido e o peróxido de hidrogênio. Associado a isso, a falta de defesas antioxidantes para encerrar ou diminuir essa resposta amplificada, poderia levar a um crônico ciclo vicioso de radicais livres causando produção de mediadores inflamatórios que voltam a estimular a produção desses radicais livres. Essa produção crônica pode lesar proteínas, lipídios de membrana e DNA, mantendo altos os índices de estresse oxidativo nesses pacientes (Wratten et al., 2000).

Para tentar impedir o aumento do estresse oxidativo nestes pacientes, diversos estudos utilizando terapia com antioxidantes têm sido publicados. Cristol et al., (1997), observaram que os valores de MDA nos doentes renais em hemodiálise eram superiores aos encontrados nos controles, e que este aumento era independente da administração de eritropoetina. Após administração de suplementação oral de vitamina E (500 mg/dia), ocorria uma redução progressiva nas concentrações de MDA nesses pacientes, e um aumento nas concentrações de vitamina E nos eritrócitos.

Eiselt et al., (2001), estudaram o efeito de um tipo de membrana de hemodiálise modificada contendo vitamina E associada ou não com infusão intradialítica de vitamina C. Em todos os grupos, o TBARS era superior ao encontrado nos controles. Apenas no grupo que não utilizou a membrana modificada nem infusão de vitamina C é que houve um aumento nos níveis de TBARS no plasma sugerindo um aumento na LPO.

Produtos da oxidação de proteínas (Davies, 1987; Witko-Sarsat & Descamps-Latscha, 1997; Descamps-Latscha & Witko-Sarsat, 2001; Descamps-Latscha et al., 2001), e produtos da oxidação de bases de DNA (Tarng et al., 2000) também têm sido sugeridos como importantes índices de estresse oxidativo. Essa nova linha de estudo indica que a mensuração de proteínas oxidadas pode ter algumas vantagens

na comparação com produtos da lipoperoxidação por sua formação ser relativamente precoce e pela relativa estabilidade desses compostos (Erdogan et al., 2002).

Tem sido estabelecido que as proteínas representam alvos para a injúria mediada por oxidantes. O ataque de espécies ativas de oxigênio às proteínas pode levar a alterações funcionais, e em particular à perda progressiva de suas propriedades metabólicas, enzimáticas ou imunológicas.

A formação de carbonilas representa um marcador precoce da oxidação de proteínas. Elas envolvem cátions do ciclo redox como o ferro e cobre, os quais têm locais de ligação em proteínas e podem transformar resíduos de aminoácidos em carbonilas na presença de peróxido de hidrogênio e ânion superóxido. Os aminoácidos lisina, arginina, prolina e histidina são os mais propensos para gerar carbonilas (Descamps-Latscha & Witko-Sarsat, 2001).

No presente trabalho, avaliou-se oxidação de proteínas no plasma pela técnica das carbonilas, descrita por Reznick & Packer (1994). Os dados apresentados nas figuras 20 e 27 mostram os níveis de carbonilas no plasma de doentes renais crônicos em HD, estando estes significativamente elevados quando comparados com indivíduos controle. Esse alto índice de dano às proteínas, observado nos doentes renais crônicos, não foi modificado após uma única sessão de hemodiálise.

Além da avaliação de espécies ativas de oxigênio, foram efetuadas medidas relativas aos metabólitos do NO, uma espécie ativa de nitrogênio. O óxido nítrico (NO), também conhecido como fator de relaxamento dependente do endotélio, é um gás hidrofóbico responsável por controlar o tônus vascular, promovendo vasodilatação e por inibir alguns processos como: agregação plaquetária, adesão de leucócitos ao endotélio, produção de endotelinas (peptídeos com potente ação vasoconstritora). Causa também variação na força de contração e frequência cardíaca. O NO é liberado quando ocorre aumento no fluxo sanguíneo, aumento do estresse de cisalhamento (*shear stress*) e aumento da pressão arterial, provocando relaxamento dos vasos. Este é um mecanismo de adaptação que contribui para manter a pressão arterial em valores normais. Um aumento na produção de EAO, como o superóxido, peróxido de hidrogênio e lipoperoxídicos, além de diminuição da

síntese de NO foi observado em pacientes com hipertensão essencial quando comparados a indivíduos normais. Esses indivíduos com hipertensão arterial ainda apresentam diminuídas concentrações de antioxidantes tais como a vitamina E e SOD (Kumar & Das, 1993).

Em hipertensão por doença renal crônica foi observada uma inibição na síntese de NO (Kuo & Schroeder, 1995). Porém, quando esses pacientes são submetidos à sessão de HD, um aumento de NO pode estar sendo induzido pelo aumento do fluxo sangüíneo e estresse de cisalhamento a que o sangue é submetido durante o procedimento. Esse aumento de NO juntamente com a perda de volume, parece ser um dos responsáveis pela hipotensão apresentada pelos pacientes durante HD. O superóxido circulante pode reagir com o NO inativando-o e formando nitratos, ou peroxinitrito (ONOO^-), que é um produto tóxico altamente oxidante. O decaimento espontâneo do peroxinitrito pode levar à formação de nitrito e radical hidroxil (Denicola, 1995). Este mecanismo pode explicar o aumento significativo nos níveis de nitritos observado nos doentes renais após sessão de hemodiálise (figura 22).

Apesar de um metabólito do NO estar aumentado após HD, não se observou aumento nos níveis de LPO e de carbonilas após o procedimento. Isto poderia estar sendo combatido pelo sistema antioxidante não enzimático que teve uma redução importante durante o procedimento de HD. Outra hipótese, é que uma única sessão de HD, em função do pequeno espaço de tempo, não seria suficiente para se detectar o dano causado por estes radicais, já que quando há aumento nos níveis de nitritos existe também aumento do radical hidroxil.

Um conjunto de fatores como: aumento de espécies ativas de oxigênio, redução na atividade de enzimas antioxidantes e redução na concentração de antioxidantes não enzimáticos após a HD, podem constituir um ciclo vicioso de estresse oxidativo nesses pacientes.

Este estudo avaliou de forma ampla, danos oxidativos e defesas antioxidantes relacionados com apenas uma sessão de HD. Os resultados obtidos com este trabalho podem servir de base para futuras pesquisas envolvendo a avaliação de

protocolos de tratamento convencional, como a administração de ferro no tratamento da anemia renal, bem como a utilização de terapias antioxidantes.

6 CONCLUSÕES

Através desse estudo, pode-se constatar que mesmo sem apresentar sintomas respiratórios, pacientes renais crônicos que realizam HD, na maioria das vezes, apresentam alteração na função pulmonar que melhora após tratamento com HD. Isto é observado pela melhora das variáveis espirométricas e, força muscular respiratória após o procedimento.

Uma única sessão de HD, não modificou o dano oxidativo a lipídios e proteínas, e também, não alterou a atividade das enzimas antioxidantes estudadas. No entanto, a capacidade antioxidante total do plasma foi significativamente reduzida, e os nitritos apresentaram aumento significativo após sessão de HD.

Pode-se concluir também, que o estresse oxidativo avaliado em doentes renais crônicos que realizam HD, é significativamente maior ao observado em indivíduos saudáveis. Isto foi evidenciado pelo aumento significativo nos níveis de lipoperoxidação e oxidação de proteínas, redução significativa da atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT e, por níveis aumentados de nitritos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, J.; HUESPANHOL, V.; FERNANDES, J; MARQUES, J.A. Alterações espirométricas provocadas pela hemodiálise: sua relação com a variação dos parâmetros vulgarmente utilizados na medição da eficácia hemodialítica. **Acta Méd. Port.**, v. 2, p. 195 -198, 1989.

AMERICAN THORACIC SOCIETY. Lung function testing: selection of reference values and interpretative strategies. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 144, p. 1202-1218, 1991.

ASOYAMA, K.; SHIKI, Y.; HASEGOWA, O.; MIYAO, A.; HAYASHIBE, H.; DOBASHI, K.; KATO, K. Antioxidant enzymes and lipoperoxides in blood in uremic children and adolescent. **Free Rad. Biol.Med.**, v. 9, p. 105 – 109, 1990.

AZEREDO, C.A.C. **Fisioterapia Respiratória Moderna**. 2. ed. Rio de Janeiro: Panamed, 1996. 251p.

AZEREDO, C.A.C. **Fisioterapia Respiratória Moderna**. 4. ed. São Paulo: Manole, 2002. 495p.

BARROS, E.; MANFRO, R.C.; THOMÉ, F.S.; GONÇALVES, L.F.S. **Nefrologia: rotinas, diagnóstico e tratamento**. 2. ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1999. 627p.

BELLÓ-KLEIN, A. Dano oxidativo e regulação biológica pelos radicais livres. In: MARRONI, N.P. **Estresse oxidativo e antioxidantes**. Canoas: ULBRA, 2002. p. 15 - 19.

BLACK, L.F.; HYATT, R.E. Maximal respiratory pressures: normal values and relationship to age and sex. **Am. Rev. Res. Dis.**, v. 99, p. 696-702, 1969.

BLACK, L.F.; HYATT, R.E. Maximal respiratory pressure in generalized muscular disease. **Am. Rev. Res. Dis.**, v. 103, p. 641-650, 1971.

BOAZ, M.; MATAS, Z.; BIRO, A.; KATZIR, Z.; GREEN, M.; FAINARU, M.; SMETANA, S. Serum malondialdehyde and prevalent cardiovascular disease in hemodialysis. **Kidney Int.**, v. 56, p. 1078-1083, 1999.

BOVERIS, A.; CHANCE, B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. **Biochem. J.**, v. 134, p. 707-716, 1973.

BURGE, P. Use of serial measurements of peak flow in the diagnosis of occupational asthma. **Occup. Med.**, v. 8, p. 279-294, 1993.

BUSH, A.; GABRIEL, R. Pulmonary function in chronic renal failure: effects of dialysis and transplantation. **Thorax**, v. 46, p. 424-428, 1991.

CAMELO, J.S.; TERRA FILHO, J.; MANÇO, J.C. Pressões respiratórias máximas em adultos normais. **Jornal de Pneumologia**, v. 11, p. 181-184, 1985.

CARDOSO, J. Fisiopatologia respiratória: da biopatologia à exploração funcional. **Rev. Port. Pneumol.**, v. 3, p. 429-439, 1997.

CASTRO, L.S.; COELHO, A.C.J. Radicais livres de oxigênio: aspectos químicos, biológicos e fisiopatológicos em medicina. **JBM**, v. 59, p. 11-21, 1990.

CHAN, C.H.S.; LAI, C.K.W.; LI, P.K.T.; LEUNG, C.B.; HO, A.S.S.; LAI, K.N. Effect of renal transplantation on pulmonary function in patients with end-stage renal failure. **Am. J. Nephrol.**, v. 16, p. 144-148, 1996.

CHANCE, B.; SIES, H.; BOVERIS, A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. **Physiol. Rev.**, v. 59, p. 527-625, 1979.

CLERMONT, G.; LECOUR, S.; LAHET, J.J.; SIOHAN, P.; VERGELY, C.; CHEVET, D.; RIFLE, G.; ROCHETTE, L. Alteration in plasma antioxidant capacities in chronic renal failure and hemodialysis patients: a possible explanation for the increased cardiovascular risk in these patients. **Cardiovasc. Res.**, v. 47, p. 618-623, 2000.

COSTA, D. **Fisioterapia Respiratória Básica**. São Paulo: Atheneu, 1999. 127p.

CRISTOL, J.P.; BOSCH, J.Y.; BADIOU, S.; LEBLANC, M.; LORRHO, R.; DESCOMPS, B.; CANAUD, B. Erythropoietin and oxidative stress in haemodialysis: beneficial effects of vitamin E supplementation. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 12, p. 2312-2317, 1997.

DAHLQUIST, M.; EISEN, E.A.; WEGMAN, D.H.; KRIEBAL, D. Reproducibility of peak expiratory flow measurements. **Occup. Med.**, v. 8, p. 295-302, 1993.

DAVENPORT, A.; WILLIAMS, A.J. Fall in peak expiratory flow during hemodialysis in patients with chronic renal failure. **Thorax**, v. 43, p. 693-696, 1988.

DAVIES, K.J. Protein damage and degradation by oxygen radicals: general aspects. **J. Biol Chem.**, v. 262, p. 9895-9901, 1987.

DEL MAESTRO, R.F. An approach to free radicals in medicine and biology. **Acta Physiol. Scand.**, v. 40, p. 153-168, 1980.

DENICOLA, A.; SOUZA, J.M.; GATTI, R.M.; AUGUSTO, O.; RADİ, R. Desferrioxamine inhibition of the hydroxyl radical-like reactivity of peroxyntrite: role of the hydroxamic groups. **Free Rad. Biol. Med.**, v. 19, p. 11-19, 1995.

DESCAMPS-LATSCHA, B.; WITKO-SARSAT, V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. **Kidney Int.**, v. 59, s. 78, p. 108-113, 2001.

DESCAMPS-LATSCHA, B., DRÜEKE, T.; WITKO-SARSAT, V. Dialysis induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy. **Semin. Dial.**, v. 14, p. 193-199, 2001.

DIAS, R.M.; CHAVVET, P.R.; SIQUEIRA, H.R.; RUFINO, R. **Testes de função respiratória: do laboratório a aplicação clínica com 100 exercícios**. São Paulo: Atheneu, 2001. 210p.

DO VALLE, P.H.C.; COSTA, D.; JAMAN, M.; OISHI, J.; BALDISSERA, V. Avaliação do treinamento muscular respiratório e do treinamento físico em indivíduos sedentários e em atletas. **Rev. Brasil. Ativ. Fis. Sau.**, v. 2, p. 27- 40, 1997.

DURAK, I.; AKYOL, Ö.; BASESME, E.; CANBOLAT, O.; KAVUTÇU, M. Reduced erythrocyte defense against free radical toxicity in patients with chronic renal failure. **Nephron**, v. 66, p. 76-80, 1994.

EISELT, J.; RACEK, J.; TREFIL, L.; OPATRNÝ JR, K. Effects of a vitamin E-modified dialysis membrane and vitamin C infusion on oxidative stress in hemodialysis patients. **Artificial Organs.**, v. 25, p. 430-436, 2001.

ERDOGAN, C.; ÜNLÜÇERÇİ, Y.; TÜRKMEN, A.; KURU, A.; ÇETIN, Ö.; BEKPMAR, S. The evaluation of oxidative stress in patients with chronic renal failure. **Clinica Chimica Acta**, v. 322, p.157-161, 2002.

EVELSON, P.; TRAVACIO, M.; REPETTO, M.; ESCOBAR, J.; LLESUY, S.; LISSI, E.A. Evaluation of total reactive antioxidant potential (TRAP) of tissue homogenates and their cytosols. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 388, p. 261-266, 2001.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Ass. Med. Brasil**, v. 43, p. 61-68, 1997.

GIBSON, G.J. **Clinical Tests Of Respiratory Function**. 2. ed. London: Chapman & Hall Medical, 1996. p. 381.

GONZALEZ FLECHA, B.; LLESUY, S.; BOVERIS, A. Hydroperoxide-initiated chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of liver, heart and muscle. **Free Rad. Biol. Med.**, v.10, p. 41-47, 1991.

GOTOH, M.; NAGASE, S.; AOYAGI, K.; HIRAYAMA, A.; TAKEMURA, K.; UEDA, A.; TOMIDA, C.; KIKUCHI, H.; KOYAMA, A.; Thiobarbituric acid reactive substances are increased in the subcutaneous fat tissue of patients with end-stage renal disease. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 12, p. 713-717, 1997.

GRANGER, D.L.; ANSTEY, N.M.; MILLER, W.C.; WEINBERG, J.B. Measuring nitric oxide production in human clinical studies. **Meth. Enzymol.**, v. 301, p. 58-61, 1999.

HALLIWELL, B. Antioxidants: the basis what they are and how to evaluate them. In: SIES, H. **Antioxidants in diseases: Mechanisms and Therapy**. California: Academic Press, 1997.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.C.M. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3. ed. New York: Oxford University Press, 1999. 936p.

HIRAYAMA, A.; NAGASE, S.; GOTOH, M.; TAKEMURA, K.; TOMIDA, C.; UEDA, A.; AOYAGI, K.; TERAU, J.; KOYAMA, A. Hemodialysis does not influence the peroxidative state already present in uremia. **Nephron**, v. 86, p. 436-440, 2000.

IRWIN, S.; TECKLIN, J.S. **Fisioterapia Cardiopulmonar**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1994. 570p.

JANERO, D.R. Malondialdehyde end thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. **Free Rad. Biol. Méd.** v.9, p.515-540, 1990.

JARDIM, J.R.B. Ação dos músculos respiratórios. **Jornal de Pneumologia**, v. 8, 1982.

KALENDER, B.; ERK, M.; PEKPAK, M.; APAYDIN, S.; ATMAN, R.; SERDENGEÇTI, K.; SARIYAR, M.; EREK, E. The effect of renal transplantation on pulmonary function. **Nephron**, v. 90, p. 72-77, 2002.

KNUDSON, R.J.; LEBOWITZ, M.D.; SLATIN, R.C. The timing of the forced vital capacity. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 119, p. 315-318, 1979.

KNUDSON, R.J.; LEBOWITZ, M.D.; HOLDBERG, J.; BURROWS, B. Changes in the normal maximal expiratory flow-volume curve with growth and aging. **Am. Rev. Resp. Dis.**, v. 127, p. 725-734, 1983.

KUMAR, K.V.; DAS, U.N. Are free radicals involved in the pathobiology of human essential hypertension? **Free Rad. Res. Comms.**, v. 19, p. 59-66, 1993.

KUO, P.C.; SCHROEDER, R.A. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. **Annals of Surgery**, v. 221, p. 220-235, 1995.

LEINER, G.C.; ABRAMOWITZ, S.; SMALL, M.J.; STENBY, V.B.; LEWIS, W.A. Expiratory peak flow rate. Standard values for normal subjects: use as a clinical test of ventilatory function. **Am. Rev. Resp. Dis.**, v. 88, p. 644, 1963.

LIM, P.S.; WEI, Y.H.; YU, Y.L.; KHO, B. Enhanced oxidative stress in hemodialysis patients receiving intravenous iron therapy. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 14, p. 2680-2687, 1999.

LISSI, E.; PASCUAL, C.; DEL CASTILLO, M.D. Luminol luminescence induced by 2,2'-azobis (2-amidino-propane) thermolysis. **Free Rad. Res. Comms.**, v. 17, p. 299-311, 1992.

LISSI, E.; SALIM-HANNA, M.; PASCUAL, C.; CASTILLO, M.D. Evaluation of total antioxidant reactivity from luminol-enhanced chemiluminescence measurements. **Free Rad. Biol. Med.**, v. 18, p. 153-158, 1995.

LLESUY, S.F.; MILEI, J.; FLECHA, B.S.G.; BOVERIS, A. Myocardial damage induced by doxorubicins: hydroperoxide-initiated chemiluminescence and morphology. **Free Rad. Biol. Med.**, v. 8, p. 259-264, 1990.

LLESUY, S.F. Introducción y especies activas de oxígeno. In: MARRONI, N.P. **Estresse oxidativo e antioxidantes**. Canoas: ULBRA, 2002. p. 21-32.

LOUGHREY, C.M.; YOUNG, I.S.; LIGHTBODY, J.H.; ME MASTER, D.; ME NAMEE, P.T.; TRIMBLE, E.R. Oxidative stress in hemodialysis. **QJM**, v. 87, p. 679-683, 1994.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, v. 193, p. 265-275, 1951.

MAHER, E.R.; WICKENS, D.G.; GRIFFIN, J.F.A.; KYLE, P.; CURTIS, J.R.; DORMANDY, T.L. Increased free radical activity during haemodialysis. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 2, p.169-171, 1987.

MARKLUND, S. **Handbook of methods for oxygen radical research**. Boca Raton: CRC Press, 1985. p. 243-247.

MENNA BARRETO, S.S. Volumes pulmonares. **Jornal de Pneumologia**, v. 28, s. 3, p. 83-94, 2002.

METRY, G.; WEGENIUS, G.; HEDENSTRÖM, H.; WIKSTRÖM, B.; DANIELSON, B. G. Computed tomographic measurement of lung density changes in lung water with hemodialysis. **Nephron**, v. 75, p. 394-401, 1997.

MENEGHINI, R.A. A toxicidade do oxigênio. **Ciência Hoje**, v. 5, p. 57-63, 1987.

MORRIS, P.E.; BERNARD, G.R.: Pulmonary complications of uremia. In: MASSRY, S.G.; GLASSOCK, J. (Eds.) **Textbook of nephrology**. 3. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1995. p.1364-1367.

NEDER, J.A.; ANDREONI, S.; LERARIO, M.C.; NERY, L.E. Reference values for lung function tests: maximal respiratory pressures and voluntary ventilation. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 32, p. 719-727, 1999.

NGUYEN-KHOA, T.; MASSY, Z.A.; BANDT, J.P.; KEBEDE, M.; SALAMA, L.; LAMBREY, G.; WITKO-SARSAT, V.; DRÜEKE, T.B.; LACOUR, B.; THÉVENIN, M. Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 16, p. 335-340, 2001.

NISSENSON, A.R. & FINE, R.N. **Dialysis Therapy** 3 ed. Philadelphia: Hanley & Belfus, 2002.

PAUL, K.; MAVRIDIS, G.; BONZEL, K.E.; SCHÄRER, K. Pulmonary function in children with chronic renal failure. **Eur. J. Pediatr.**, v. 150, p. 808-812, 1991.

PAUL, J.L.; SALL, N.D.; SONI, T.; POIGNET, J.L.; LINDENBAUM, A.; MAN, N.K.; MOATTI, N.; RAICHVARG, D. Lipid peroxidation abnormalities in hemodialyzed patients. **Nephron**, v. 64, p.106-109, 1993.

PEREIRA, C.A.C. & NASPITZ, C. II Consenso Brasileiro no Manejo da Asma. **Jornal de Pneumologia**, v. 24, 1998.

PEREIRA, C.A.C.; LEMLE, A.; ALGRANTI, E.; JANSEN, J.M.; NERY, L.E.; MALLOZ, M.; GERBASE, M.; DIAS, R.M.; ZIN, W.A. I consenso brasileiro sobre espirometria. **Jornal de Pneumologia**, v. 22, p. 105-163, 1996.

PEREIRA, C.A.C. Espirometria. **Jornal de Pneumologia**, v. 28, s. 3, p. 1-82, 2002.

PEUCHANT, E.; CARBONNEAU, M.A; DUBOURG, L.; THOMAS, M.J.; PERROMAT, A.; VALLOT, C.; CLERC, M. Lipoperoxidation in plasma and red blood cells of patients undergoing haemodialysis: vitamins A, E and iron status. **Free Rad. Biol. Med.**,v. 16, p. 339-346, 1994.

PREZANT, J. D. Effect of uremia and its treatment on pulmonary function. **Lung**, v. 168, p. 1-4, 1990.

REZNICK, A.Z.; PACKER, L. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymol.**, v. 233, p. 357-363, 1994.

SAS – Institute Statistical Analysis System. **User's guide: version 6.4.** ed. Cary: SAS Institute, 1989. 846p.

SCHETTLER, V.; WIELAND, E.; VERWIEBE, R.; SCHUFF-WERNER, P.; SCHELER, F.; OELLERICH, M. Plasma lipids are not oxidized during hemodialysis. **Nephron**, v. 67, p. 42-47, 1994.

SCHMIDT, R.; DONATO, C.R.F.; DO VALLE, P.H.C.; COSTA, D. Avaliação da força muscular respiratória em crianças e adolescentes. **Práxis**, Cruz Alta, v. 1, p. 41-54, 1999.

SIES, H. Glutathione and its role in cellular functions. **Free Rad. Biol. Med.**, v. 27, p. 916-921, 1999.

SILVA, L.C.C.; RUBIN, A.S.; SILVA, L.M.C. **Avaliação funcional pulmonar**. Rio de Janeiro: Revinter, 2000. 171p.

SMYTH, R.J.; CHAPMAN, K.R.; REBUCK, A.S. Maximal inspiratory and expiratory pressures in adolescents: normal values. **Chest**, v. 86, p. 568-572, 1984.

SOUZA, R.B. Pressões respiratórias estáticas máximas. **Jornal de Pneumologia**, v.28, p.155-165, 2002.

TARNG, DC.; HUANG, TP.; LIU, TY.; CHEN, HW.; SUNG, YJ.; WEI, YH. Effect of vitamin E-bonded membrane on the 8-hydroxy 2'-deoxyguanosine level in leukocyte DNA of hemodialysis patients. **Kidney Int.**, v. 58, p. 790-799, 2000.

THOMÉ, S.F.; BARROS, E. Prevenção das Doenças Renais. In. BARROS, E.; MANFRO, R.C.; THOMÉ, F.S.; GONÇALVES, L.F.S. **Nefrologia: rotinas, diagnóstico e tratamento**. 2. ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1999. p. 55-67.

TRAVACIO, M.; LLESUY, S. Antioxidant enzymes and their modification under oxidative stress conditions. **J. Br. Assoc. Adv. Sci.** v. 48, p. 9-13, 1996.

VIEGAS, C.A.A. Gasometria arterial. **Jornal de Pneumologia**, v. 28, p. 233-238, 2002.

VOEGELL, R.; MELER, J.; RIES, R. Defesa contra espécies reativas de oxigênio: modelos "in vitro". **Cosmetics & Toiletries**, v. 4, p. 49-55, 1992.

YU, B. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiological Reviews**, v. 74, p. 139-162, 1994.

WEST, J.B. **Fisiologia Respiratória Moderna**. 5. ed. São Paulo: Manole, 1996. 177p.

WINCK, J.C.; FERREIRA, L. Oximetria: papel no estudo do doente respiratório. **Rev. Port. Pneumol.**, v. 3, p. 307-313, 1998.

WITKO-SARSAT, V.; DESCAMPS-LATSCHA, B. Advanced oxidation proteins products: novel uraemic toxins and pro-inflammatory mediators in chronic renal failure? **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 12, p. 1310-1312, 1997

WRATTEN, M.L.; TETTA, C.; URSINI, F.; SEVANIAN, A. Oxidant stress in hemodialysis: prevention and treatment strategies. **Kidney Int.**, v. 58, s. 76, p. 126-132, 2000.

8 ANEXOS

Anexo 1. Aprovação do projeto de pesquisa pela Comissão Científica e pela Comissão de Pesquisa Ética em Saúde do HCPA.



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação
 COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

RESOLUÇÃO

A Comissão Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB0000921) analisaram o projeto:

Projeto: 01-235

Pesquisador Responsável:
SERGIO MENNA BARRETO

Título: AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PULMONAR E ESTRESSE OXIDATIVO EM DOENTES RENAI CRÔNICOS QUE REALIZAM HEMODIÁLISE

Data da Versão:
14/03/2003

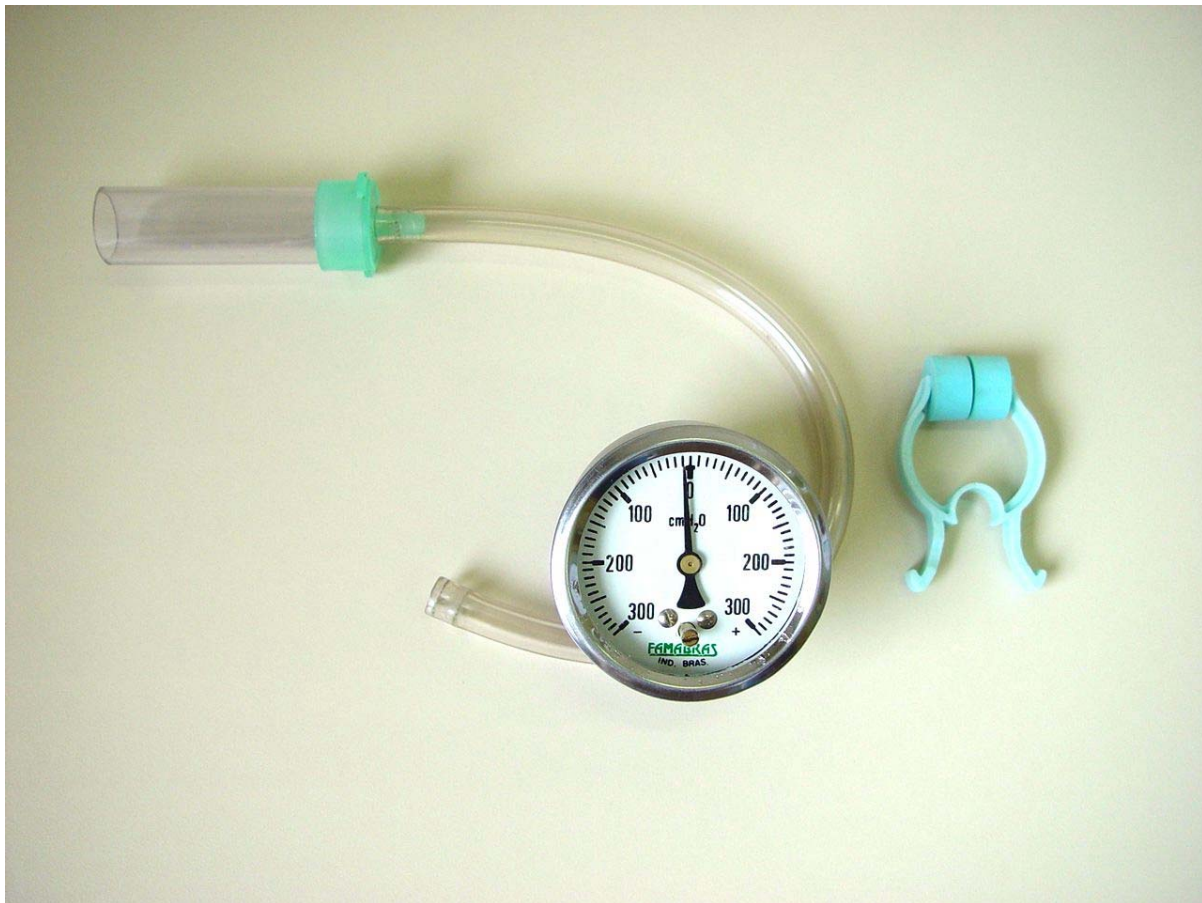
EMENDA I

Este documento referente ao projeto acima foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, 24 de março de 2003.


 Prof. Therris Reverbel da Silveira
 Coordenadora do GPPG e CEP-HCPA

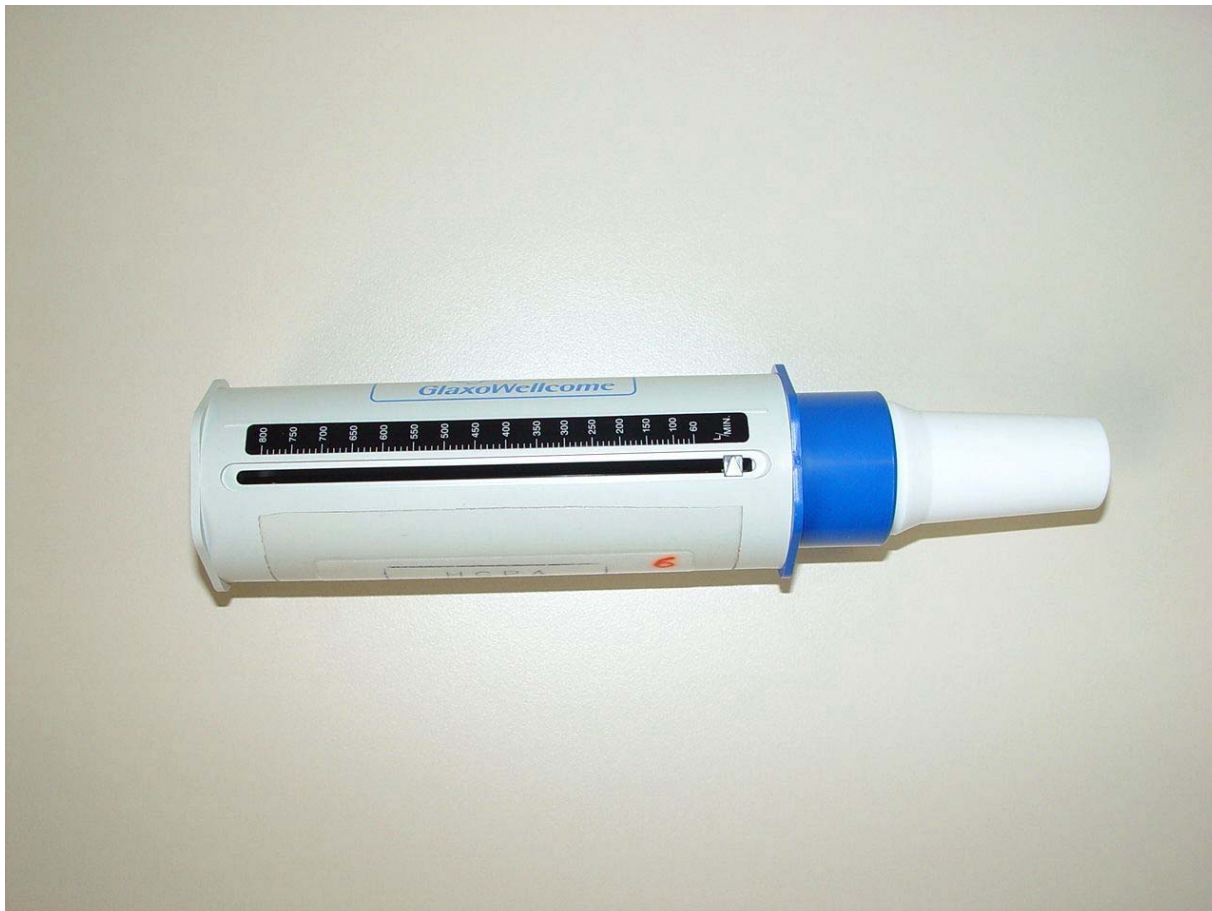
Anexo 2. Foto demonstrativa do manovacuômetro e bocal utilizados.



Anexo 3. Foto demonstrativa do método utilizado para avaliação da força muscular respiratória.



Anexo 4. Foto demonstrativa do medidor de pico de fluxo utilizado.



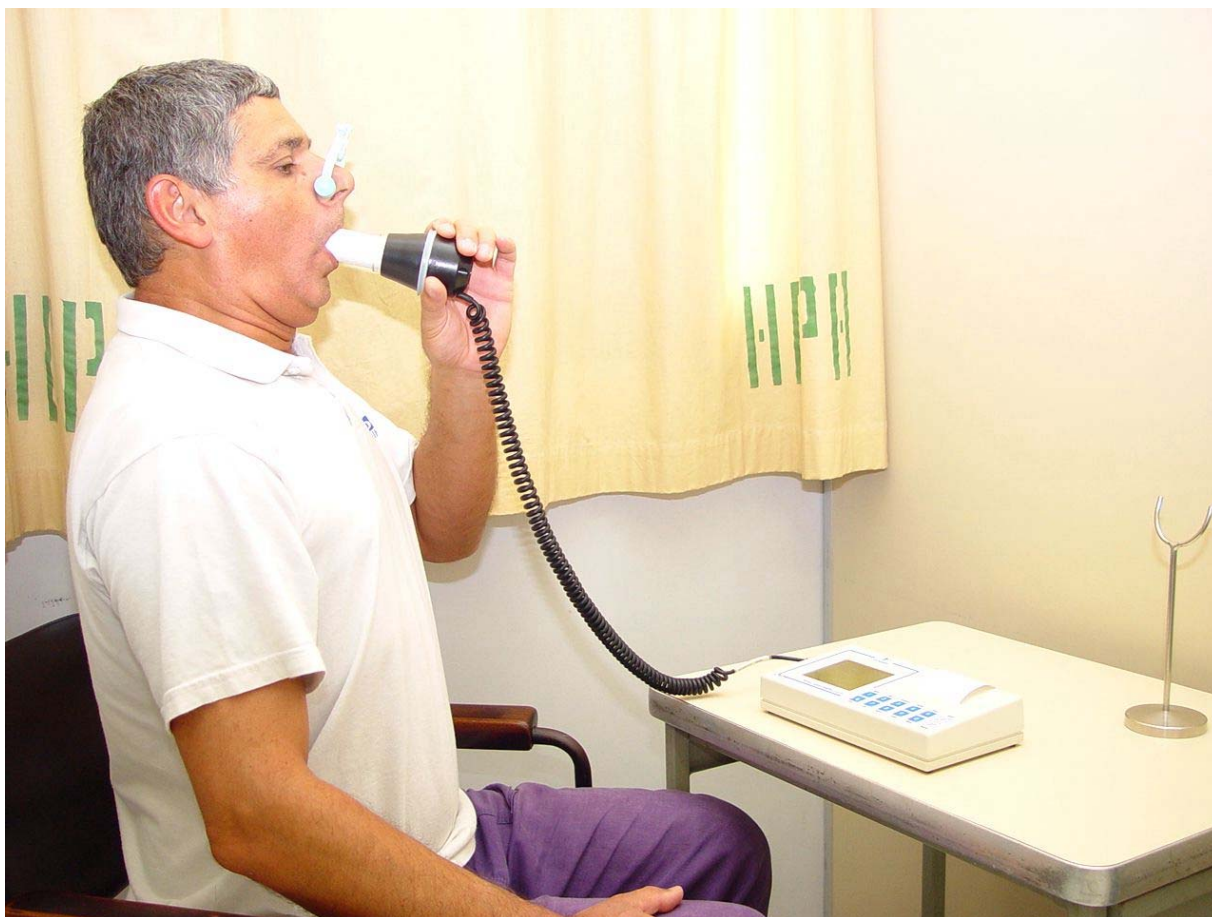
Anexo 5. Foto demonstrativa da manobra respiratória realizada para mensuração do PFE.



Anexo 6. Foto demonstrativa do espirômetro utilizado.



Anexo 7. Foto demonstrativa da manobra de capacidade vital forçada, utilizada na realização das espirometrias.



Anexo 8. Correlação entre variáveis espirométricas (pós HD – pré HD), tempo de tratamento com HD e variação percentual de perda de peso corporal durante sessão de HD.

Variáveis	PFE	CVF	VEF ₁	VEF ₁ /CVF	FEF _{25-75%}	Plmáx	PEmáx	Perda de peso (%)	HD (Meses)
PFE	1,0	0,40 *	0,49 **	0,06 ^{ns}	0,36 *	0,64 **	0,51 **	0,31 ^{ns}	0,02 ^{ns}
CVF	-	-	0,80 **	-0,49 **	0,07 ^{ns}	0,41 *	0,23 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,37 *
VEF ₁	-	-	-	0,11 ^{ns}	0,59 **	0,33 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,37 *	0,25 ^{ns}
VEF ₁ /CVF	-	-	-	-	0,76 **	-0,22 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,18 ^{ns}	-0,25 ^{ns}
FEF _{25-75%}	-	-	-	-	-	0,04 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,01 ^{ns}
Plmáx	-	-	-	-	-	-	0,30 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,04 ^{ns}
PEmáx	-	-	-	-	-	-	-	0,21 ^{ns}	-0,004 ^{ns}
%perda de peso	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,01 ^{ns}
HD (meses)	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0

Correlação não significativa (ns), significativa a 5% (*) e 1% (**) de probabilidade.

Anexo 9. Correlação entre variáveis espirométricas antes da HD (pré HD), tempo de tratamento com HD e variação percentual de perda de peso corporal durante sessão de HD.

Variáveis	Perda de peso (%)	HD (meses)	CVF Pré HD	VEF ₁ Pré HD	FEF _{25-75%} Pré HD	PFE Pré HD	PI _{máx} Pré HD	PE _{máx} Pré HD
Perda de peso (%)	1,0	-0,01 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,07 ^{ns}
HD (meses)	-	1,0	-0,57 ^{**}	-0,40 [*]	-0,08 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,24 ^{ns}
CVF Pré HD	-	-	1,0	0,86 ^{**}	0,37 [*]	0,51 ^{**}	0,34 [*]	-0,09 ^{ns}
VEF ₁ Pré HD	-	-	-	1,0	0,72 ^{**}	0,62 ^{**}	0,39 [*]	0,09 ^{ns}
FEF _{25-75%} Pré HD	-	-	-	-	1,0	0,58 ^{**}	0,32 ^{ns}	0,18 ^{ns}
PFE Pré HD	-	-	-	-	-	1,0	0,45 ^{**}	0,08 ^{ns}
PI _{máx} Pré HD	-	-	-	-	-	-	1,0	0,29 ^{ns}
PE _{máx} Pré HD	-	-	-	-	-	-	-	1,0

Correlação não significativa (ns), significativa a 5% (*) e 1% (**) de probabilidade.

Anexo 10. Correlação das variáveis espirométricas com variáveis bioquímicas e gasometria.

Variáveis	PFE	CVF	VEF ₁	VEF1/CVF	FEF 25-75%	PI _{máx}	PE _{máx}	Perda de peso (%)	HD (Meses)
Uréia (mg/dL)	0,08 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,09 ^{ns}
Creatinina (mg/dL)	0,08 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	-0,23 ^{ns}	0,10 ^{ns}
Potássio (meq/L)	0,28 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,23 ^{ns}	0,01 ^{ns}
Sódio (meq/L)	-0,20 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,21 ^{ns}
Fósforo (mg/dL)	-0,15 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,20 ^{ns}
PaO ₂ (mmHg)	0,04 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,12 ^{ns}
PaCO ₂ (mmHg)	0,09 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,35*	0,38*	-0,18 ^{ns}	0,19 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,04 ^{ns}
HCO ₃ (mmol/L)	-0,03 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,26 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,06 ^{ns}
PH	-0,18 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	-0,30 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	0,12 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,03 ^{ns}
Sat O ₂ (%)	-0,20 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,02 ^{ns}
Oximetria (%)	0,09 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,15 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,25 ^{ns}

Correlação não significativa (ns), significativa a 5% (*) e 1% (**) de probabilidade.

Anexo 11. Correlação entre variáveis bioquímicas e gasometria.

Variáveis	PaO ₂ (mmHg)	PaCO ₂ (mmHg)	HCO ₃ (mmol/L)	pH	Sat O ₂ (%)	Oximetria (%)
Uréia (mg/dL)	0,01 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Creatinina (mg/dL)	-0,10 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,30 ^{ns}	0,16 ^{ns}
Potássio (meq/L)	-0,01 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,22 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	-0,19 ^{ns}	0,02 ^{ns}
Sódio (meq/L)	0,01 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Fósforo (mg/dL)	-0,05 ^{ns}	-0,41 ^{ns}	-0,33 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,15 ^{ns}

Correlação não significativa (ns), significativa a 5% (*) e 1% (**) de probabilidade.

Anexo 12. Correlação entre medidas de estresse oxidativo com variáveis bioquímicas e gasometria.

Variáveis	Carbonilas	TRAP	QL	CAT	SOD	Nitrato	Nitrito
Uréia (mg/dL)	0,26 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,24 ^{ns}	-0,33 ^{ns}
Creatinina (mg/dL)	0,28 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,41 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,37 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,54 [*]
Potássio (meq/L)	0,27 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,09 ^{ns}
Sódio (meq/L)	-0,19 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,40 ^{ns}	0,08 ^{ns}
Fósforo (mg/dL)	0,08 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,05 ^{ns}
PaO ₂ (mmHg)	-0,17 ^{ns}	-0,69 ^{**}	-0,40 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,19 ^{ns}
PaCO ₂ (mmHg)	-0,04 ^{ns}	0,30 ^{ns}	0,31 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	-0,27 ^{ns}	-0,20 ^{ns}	0,06 ^{ns}
HCO ₃ (mmol/L)	-0,06 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,38 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	0,06 ^{ns}
pH	-0,02 ^{ns}	-0,45 ^{ns}	-0,27 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,22 ^{ns}
Sat O ₂ (%)	-0,43 ^{ns}	-0,62 [*]	-0,25 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,08 ^{ns}
Oximetria (%)	0,90 ^{**}	-0,35 ^{ns}	-0,20 ^{ns}	0,40 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,54 ^{ns}	0,08 ^{ns}

Correlação não significativa (ns), significativa a 5% (*) e 1% (**) de probabilidade.