

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA DA PUCRS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE

**CARLOS ABAETÉ DE LOS SANTOS**

**O PADRÃO INFLAMATÓRIO E ANEMIA EM HEMODIÁLISE**

Porto Alegre

2004

**CARLOS ABAETÉ DE LOS SANTOS**

**O PADRÃO INFLAMATÓRIO E ANEMIA EM HEMODIÁLISE**

Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Doutor em Medicina e Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS, Área de Concentração em Nefrologia.

**Orientador:** Prof. Dr. Ivan Carlos Ferreira Antonello

Porto Alegre

2004

S237p **Santos, Carlos Abaeté de los**

O padrão inflamatório e anemia / Carlos Abaeté de los Santos;  
orient. Ivan Carlos Ferreira Antonello. Porto Alegre: PUCRS, 2004.  
109f.: gráf. tab.

Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio  
Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em  
Medicina e Ciências da Saúde. Área de Concentração: Nefrologia.

1. PROTEINA C-REATIVA. 2. ANEMIA. 3. INFLAMAÇÃO. 4.  
DESNUTRIÇÃO. 5. ERITROPOETINA. 6. ESTUDOS TRANSVERSAIS.  
7. ESTUDOS DESCRITIVOS. I. Antonello, Ivan Carlos Ferreira. II. Título.

C.D.D. 616.072

C.D.U. 616-002:616-005.4(043.2)

N.L.M. QZ 150

Rosária Maria Lúcia Prenna Geremia/Bibliotecária  
CRB10/I96

**CARLOS ABAETÉ DE LOS SANTOS**

**O PADRÃO INFLAMATÓRIO E ANEMIA EM HEMODIÁLISE**

Tese apresentada para apreciação e parecer da banca examinadora, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Doutor em Medicina e Ciências da Saúde – Área de Concentração em Nefrologia, da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS.

Porto Alegre

2004

À Karla, pelo carinho, incentivo,  
compreensão, presença e paciência.

Aos “guris” Carlos, Francisco e  
Antonio, pelo carinho, estímulo e apoio.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Ivan, pela competência, disponibilidade, amizade e presença constante.

Ao Edson Figueira dos Santos e ao Marco Antônio Goldani, pela cooperação espontânea e apoio decisivo.

Ao Alexandre Losekann, pelo interesse e colaboração.

Ao Homero Agra e Osvaldo von Eye, pela cooperação.

Ao Gordon Castle, pelo auxílio e disponibilidade.

À Ana Lígia Bender e Laura Schumacher Schoh da Trindade, pela boa vontade e competência nas determinações laboratoriais.

Às Enfermeiras Lilian Righetto, Adriana Conti e Ana Elizabeth Figueiredo, pelo auxílio na coleta de dados e acompanhamento dos pacientes.

À Rosária Prenna Geremia, bibliotecária, amiga, pelo competente auxílio.

A todos os colegas de trabalho pela compreensão e apoio.

Aos nossos pacientes, a quem sempre dedicamos nosso conhecimento e procura constante por novos meios de diminuir seu sofrimento, nosso respeito e afeto.

“Pensar é mais interessante do que saber,  
e saber é menos interessante do que observar”.

Johann Wolfgang von Goethe

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar inflamação e anemia em pacientes realizando hemodiálise crônica (HD) em hospital de referência. Estabeleceu-se a prevalência do padrão inflamatório(PI) em centros de diversas complexidades quanto à gravidade de pacientes atendidos, descreveu-se o perfil dos indivíduos com Deficiência Funcional do Ferro(DFF) e Bloqueio Inflamatório do Ferro(BIF), e avaliou-se a evolução clínica e laboratorial do padrão inflamatório com a introdução de água ultrapura em hemodiálise.

O estudo foi transversal e descritivo. O PI correspondeu a ferro sérico < 60 mg/dL, capacidade ferropéxica < 250 µg/dL e ferritina > 100 ng/dL. A prevalência deste padrão foi estudada em 284 pacientes que realizavam HD em quatro hospitais de diferentes complexidades. Para estudar as características clínicas e laboratoriais dos pacientes com PI foram exclusivamente utilizados os dados dos pacientes de um centro de referência, divididos inicialmente em 2 grupos (GA e GB), de acordo com o nível sérico de proteína C reativa ultra-sensível(PCR). Posteriormente, os doentes do GB também foram divididos em 2 subgrupos (GB1 e GB2), de acordo com ausência ou presença de infecção ou inflamação clinicamente identificada.

A prevalência do PI foi aumentada em hospitais de referência e maior complexidade. Aproximadamente um quarto dos pacientes com PI tinham PCR normal. Estes não apresentaram infecção ou inflamação explícitas, não portavam acessos temporários, e hospitalizaram menos. Tinham níveis de hematócrito (Htc),



hemoglobina(Hgb) e ferro(Fe) mais elevados, receberam significativamente menos transfusões, e a taxa de mortalidade foi menor. Preenchiam os requisitos que os definiam como DFF. Nos pacientes com PCR aumentado houve necessidade de maior quantidade de acessos temporários, mais infecção-inflamação, e a prevalência de hospitalizações foi maior. Os níveis de Htc, Hgb e Fe foram significativamente menores. A quantidade de transfusões de sangue e a taxa de mortalidade foram maiores. Estes pacientes parecem se enquadrar no perfil BIF. Quando se analisou exclusivamente os com aumento do PCR, sem infecção ou inflamação específica, verificou-se que as dosagens foram obtidas antes da instalação do sistema de tratamento para obtenção de água ultrapura. Nestes pacientes, após a introdução de água ultrapura houve normalização dos níveis de PCR.

Palavras-chave:

Anemia – Proteína-C reativa – Inflamação – Desnutrição – Resistência à eritropoietina.

## ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the association between inflammation and anemia in patients submitted to chronic haemodialysis (HD) in a high-complexity university hospital. The prevalence of the inflammatory pattern (IP) in patients submitted to hemodialysis, in distinct complexity centers, was observed. The characteristics of individuals in HD with functional iron deficiency (FID) and inflammatory iron blockade (IIB) were evaluated. Changes in clinic and laboratory aspects of the IP were studied before and after ultrapure water introduction in HD.

This was a cross-sectional study. IP means a serum iron  $< 60$  mg/dL, a total iron binding capacity  $< 250$   $\mu$ g/dL and a ferritin  $> 100$  ng/dL. The prevalence of the IP was compared in 284 individuals submitted to chronic HD in 4 distinct complexity hospitals. To study properly the IP patient's clinic and laboratory characteristics, the data were derived from individuals submitted to dialysis exclusively in a high complexity university hospital. These patients were initially divided in 2 groups (GA and GB), according to the N high sensitivity C-reactive protein (CRP) serum levels. Subsequently, patients from GB were also divided in 2 other groups (GB1 and GB2), according to the absence or presence of proved infection or inflammation.

Prevalence of the IP was augmented in high complexity hospitals. When the IP patients were divided in 2 groups according to CRP levels, nearly 1/4 had normal CRP determinations. Individuals with normal CRP levels had no identified infection or inflammation, had no temporary access and less hospitalizations were required.

hematocrit(Htc), hemoglobin(Hgb) and iron(Fe) were augmented, they received less blood transfusions and the mortality rate was significantly decreased. This pattern corresponds to FID. In the individuals with increased CRP levels, the need for temporary catheters increased. Infections and inflammations were more frequently seen and the prevalence of patients admitted to the hospital was augmented. Htc, Hgb and Fe determinations were significantly decreased. Blood transfusions and mortality were increased. These patients belong to the IIB group. When patients with elevated CRP and no specific infection or inflammation were analyzed, it was seen that everyone was dialyzed before ultra pure water implementation. After its introduction CRP levels became within normal limits.

Key-words:

Anemia – C-reactive protein – Inflammation – Malnutrition – Erythropoietin resistance.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - HTC e HGB pré e pós uso de EPO.....	18
<b>Figura 2</b> - Esquema de água ultrapura em HD, no Centro D .....	41
<b>Figura 3</b> - Porcentagens de pacientes com Padrão Inflamatório em Hemodiálise em quatro unidades de diálise do Rio Grande do Sul (ano 2000).....	44

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Dados de todos os pacientes em HD com PI .....	46
<b>Tabela 2</b> - Características dos pacientes com PI em HD, divididos conforme níveis séricos de PCR .....	48
<b>Tabela 3</b> - Características dos pacientes em HD com PI divididos em três grupos .....	50
<b>Tabela 4</b> - Comparação entre as variáveis do GB1 antes e após uso de AUP	52

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ADC - Anemia de doença crônica
- AGEs - Produtos finais de glicosilação avançada
- AUP - Água ultrapura
- A-V - Artério-venosa
- BIF - Bloqueio inflamatório do ferro
- CAPD - Diálise peritoneal contínua de ambulatório
- DFF - Deficiência funcional do ferro
- DM - Diabetes melito
- EDTA - Etilenodiaminotetracético: anticoagulante
- EPO - Eritropoietina humana recombinante
- EU - Endotoxin units, ensaio validado pela European Pharmacopoeia: unidade utilizada para medir níveis de endotoxinas bacterianas na água
- GA - Grupo A
- GB - Grupo B
- GB1 - Grupo B1
- GB2 - Grupo B2
- HAS - Hipertensão arterial sistêmica
- HD - Hemodiálise
- Hgb - Hemoglobina

Htc	- Hematócrito
IL	- Interleucina
IV	- Intra-venoso
Kt/V	- Medida de adequação de diálise
NKF-DOQI	- National Kidney Foundation- Dialysis Outcome Quality Initiative
PCR	- Proteína-C reativa
PI	- Padrão inflamatório
RTfS	- Receptor de transferrina solúvel na membrana celular
S.R.E.	- Sistema Retículo Endotelial
UFC	- Unidades formadoras de colônia

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
1.1 A Anemia na Insuficiência Renal Crônica.....	18
1.1.1 Resistência ao uso de EPO.....	19
1.1.2 Anemia de Doença Crônica.....	19
1.2 Inflamação em Diálise.....	20
1.2.1 As Proteínas de Fase Aguda.....	21
1.2.2 O Padrão Inflamatório.....	23
1.2.3 Hecpidina.....	24
1.2.4 Estresse Oxidativo.....	24
1.2.5 Bloqueio Inflamatório ou Deficiência Funcional de Ferro?.....	25
1.2.6 Ferropenia: Mecanismo de Proteção e Defesa?.....	27
1.2.7 BIF e DFF: Divergências na Literatura.....	27
1.2.8 Finalidade do Estudo.....	28
2 OBJETIVOS.....	31
2.1 Objetivo Geral.....	31
2.2 Objetivos específicos.....	31
3 PACIENTES E MÉTODOS.....	34
3.1 Delineamento da Pesquisa.....	34
3.2 População e Amostra.....	34
3.3 Critérios de Inclusão e Exclusão.....	35
3.4 Definições para o Estudo.....	36
3.5 Variáveis Consideradas para Análise.....	37
3.6 Características da HD no Centro D.....	37
3.7 Parâmetros Laboratoriais do Estudo.....	38
3.8 Características da Água da HD.....	40
3.9 Dosagens de PCR.....	41
3.10 Análise Estatística.....	42
3.11 Ética.....	42
4 RESULTADOS.....	44
4.1 Prevalência do Padrão Inflamatório.....	44
4.2 Padrão Inflamatório e Anemia no Centro D.....	45
5 DISCUSSÃO.....	5 <sup>F</sup>
6 CONCLUSÕES.....	6
REFERÊNCIAS.....	69



	16
ANEXOS .....	83
ANEXO A – An attempt to distinguish iron blockade from functional iron deficiency in dialysis by using the soluble transferrin cell receptor test (dados não publicados) .....	84
ANEXO B – Protocolo de Pesquisa .....	86
ANEXO C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	87
ANEXO D – Influência das Hepatites Virais nos Marcadores de Inflamação em Pacientes em Diálise (dados não publicados).....	90
ANEXO E – Decoding the "anemia of chronic disease" pattern on dialysis: functional iron deficiency or inflammatory iron blockade? (texto encaminhado para publicação) .....	92
ANEXO F – Ultrapure water decreases inflammation in hemodialysis (texto encaminhado para publicação) .....	100
ANEXO G – Trabalhos Apresentados em Congressos e Publicados .....	
108	

---

---

## 1 INTRODUÇÃO

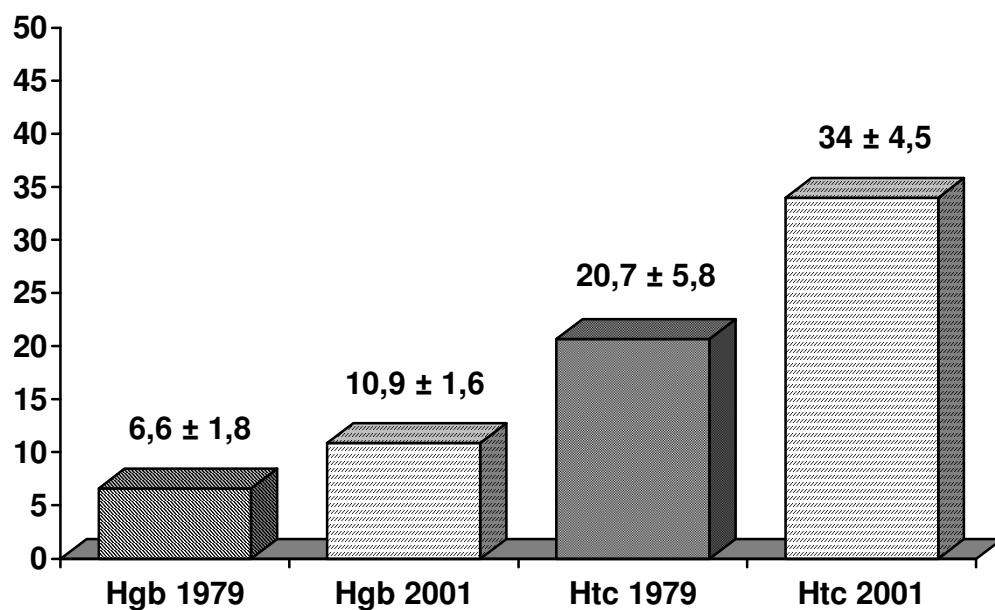
---

---

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 A Anemia na Insuficiência Renal Crônica

Produção diminuída de eritropoietina (EPO) é a principal causa de anemia na insuficiência renal crônica (1) e acompanha a fibrose intersticial progressiva das nefropatias em evolução. O uso clínico de EPO modificou dramaticamente o controle da anemia (Figura 1) e a qualidade de vida do renal crônico em diálise (2). Houve redução na morbidade e mortalidade (3) e significativa melhora no desempenho físico dos pacientes (4) (5).



**Figura 1** - Hematócrito e Hemoglobina: dados de uma Unidade de hemodiálise. PUCRS - 1979\* (Pré EPO) e 2001 (Pós EPO), expressos por média±desvio-padrão.

\*Dados de 1979 retirados da Dissertação de Mestrado "Avaliação das reservas de ferro em hemodiálise: o papel da ferritina"; Carlos Abaeté de los Santos, UFRGS, P. Alegre, RS, 1979.

### 1.1.1 Resistência ao Uso de EPO

Em algumas situações, a resposta à EPO não é adequada. Deficiência de ferro deixou de ser a razão mais importante de resposta inapropriada desde que, por recomendação do *National Kidney Foundation - Dialysis Outcome Quality Initiative* (NKF-DOQI) (6,7), passou-se a usar ferro parenteral em altas doses (8-10). Inflamação, hiperparatireoidismo secundário grave, intoxicação por alumínio e deficiência vitamínica também podem piorar a anemia em diálise. Resposta diminuída à EPO ocorre na presença de severa osteíte fibrosa, manifestação avançada e infreqüente de hiperparatireoidismo secundário em pacientes renais crônicos (11). Hiperparatireoidismo moderado, no entanto, não é causa de resistência à ação do hormônio (12). Atualmente, intoxicação por alumínio não é comum (13), mas níveis séricos mais elevados deste metal foram detectados em pacientes em hemodiálise (HD), quando comparados àqueles em diálise peritoneal crônica ambulatorial (CAPD) e a indivíduos normais (14). Inflamação é, freqüentemente, responsabilizada por resistência à EPO. Deficiência de vitaminas hidrossolúveis é rara, pois reposição oral é recomendação de rotina.

### 1.1.2 Anemia de Doença Crônica

Presença de inflamação aguda ou crônica, com reservas adequadas de ferro, é um dos achados mais freqüentes na anemia resistente à EPO em diálise (6-8) (10)

(15-19), constituindo a chamada anemia de doença crônica (ADC), também denominada anemia da inflamação. É anemia normocrômica e normocítica (raramente ocorre microcitose), com reduzidos níveis séricos de ferro e de transferrina, com ferritina normal ou elevada, sugerindo que há reservas adequadas do mineral na medula óssea (20,21). Este padrão inflamatório (PI) ocorre freqüentemente em diálise (22), embora anemia nem sempre esteja aparente na rotina laboratorial.

Recentemente, verificou-se que 44% dos pacientes em HD e 31% dos que realizavam CAPD em hospital de referência apresentaram PI compatível com ADC, com ou sem anemia associada (19).

## **1.2 Inflamação em Diálise**

Está comprovada a associação entre desnutrição, inflamação e aterosclerose (Síndrome MIA), e existe sugestão de que haja certo sinergismo entre desnutrição, inflamação e estresse oxidativo, com a interação de componentes genéticos e ambientais na produção da aterosclerose progressiva da uremia (23-25). Com freqüência, pacientes em tratamento dialítico apresentam infecção ou inflamação - aguda ou crônica - bem identificada e definida. Entretanto, reação inflamatória inespecífica ocorre em diálise, e pode ser induzida por vários mecanismos. Sabe-se que o contato do sangue com a membrana do hemodialisador pode ativar o sistema imunológico, e que membranas de diversas composições ativam-no com diferentes intensidades (26-29). A presença de bactérias ou de fragmentos lipopolissacarídicos

capsulares, além da ocorrência de biofilme na superfície interna dos condutos de sangue ou de líquido de diálise (30), também podem despertar reação inflamatória. O cuidado para produzir água com mínimo conteúdo de bactérias para uso em HD é fundamental para reduzir a geração de mediadores da reação inflamatória. Aparentemente, adoção deste cuidado melhora a resposta à EPO, diminui o catabolismo protéico, melhora o estado nutricional e, talvez, possa reduzir a velocidade de instalação do processo de aterosclerose (31-34). A presença de doença periodontal tem recentemente sido relatada como importante causa de inflamação “oculta” em pacientes em diálise (35,36).

### 1.2.1 As Proteínas de Fase Aguda

Em vigência de processo inflamatório agudo ou crônico há aumento dos níveis séricos de proteínas de fase aguda positivas (proteína C-reativa, amilóide A e ferritina), e redução de proteínas de fase aguda negativas (transferrina, albumina e leptina séricas) (33) (37). A presença de inflamação, sugerida por níveis persistentemente elevados de proteínas de fase aguda positiva - como a proteína C reativa (38) - está associada a diversas manifestações patológicas, como: anemia resistente à EPO (6,7) (15-19) (38-42), desnutrição (43), aterosclerose (38) (44) e risco de doença cardiovascular (45-49), com aumento de mortalidade (50). Anemia tem sido recentemente considerada como fator de risco vascular isolado em diálise (51). Recentes evidências revelam que PCR talvez não seja - isoladamente- um preditor de doença cardiovascular, como se afigurava. PCR estaria associada apenas com moderado aumento no risco de doença coronária em pacientes não

submetidos à diálise (52,53). Em diálise PCR tem sido considerada fator preditivo de risco de morte (44) (48) (54). Elevados níveis de PCR estiveram presentes em 35% de 1.054 pacientes submetidos à HD, examinados por Owen (40). Estes podem apresentar padrão inflamatório, compatível com anemia de doença crônica (55), também denominada anemia da inflamação (56). Anemia de doença crônica também pode ocorrer associada a outras situações, como neoplasia ou doença hepática (20).

PCR é um polipeptídeo pentamérico, composto de 5 sub-unidades de 25 Kda cada, também chamado de pentraxina. É assim denominada porque reage com o polissacarídeo C do *Pneumococcus*. PCR é proteína de fase aguda positiva, i.e, aumenta com inflamação/infecção, é produzida nas células hepáticas, por influência de citocinas pró-inflamatórias, particularmente a interleucina-6, além de interleucina 1 e fator de necrose tumoral-alfa (53) (56). Foi descoberto que PCR estava associada a vários fatores de risco tradicionais, que havia forte correlação entre PCR e doença coronária e que o peptídeo talvez estivesse implicado na gênese e progressão da aterosclerose (57). A avaliação de uma série de fatores de risco tradicional em 28.000 mulheres pós-menopausa revelou que PCR e razão colesterol/HDL foram os mais importantes preditores de risco (58). O método de dosagem da PCR é simples e não oneroso. Tem pequena variabilidade intra-ensaio, mas a variabilidade amostral é grande. A PCR, na vigência de estímulo inflamatório, mesmo fugaz, se eleva prontamente em 6 a 12 horas, persistindo o aumento até aproximadamente 19 horas. Tem sido considerado o indicador laboratorial mais adequado de inflamação (59, 60).

### 1.2.2 O Padrão Inflamatório

A probabilidade de seqüestro de ferro pelo sistema retículo-endotelial (SRE) - tornando-o indisponível para a eritropoiese - deve ser fortemente considerada quando os níveis séricos de ferro e de transferrina são baixos, em vigência de ferritina normal ou elevada. Na presença deste perfil, deve-se suspeitar de padrão inflamatório, que é o padrão da anemia de doença crônica (ADC) (61), com ou sem anemia associada. No entanto, é preciso lembrar que níveis elevados de ferritina podem ocorrer associados com processo inflamatório ou infeccioso, apenas como manifestação de fase aguda de inflamação, e não como expressão das reservas de ferro (62-65), o que pode torná-lo um índice vulnerável.

Inflamação, infecção ou lesão tissular são produzidas pela ativação de citocinas, especialmente interleucina-1 beta, e fator de necrose tumoral-alfa, produzidos por monócitos e macrófagos. Estes fatores estimulam a produção de outras citocinas - particularmente a Interleucina-6 - principal responsável pela indução ou inibição da síntese de proteínas de fase aguda no fígado (26) (60).

### 1.2.3 Hpcidina



Recentemente descoberta, a hepcidina é um polipeptídeo antimicrobiano com funções hormonais definidas. Foi encontrada, inicialmente, em pacientes portadores de grandes adenomas hepáticos, que se apresentavam com anemia severa e refratária a tratamento com ferro, com perfil semelhante ao encontrado no padrão inflamatório (ou ADC), e que curava com a ablação do tumor (66) A hepcidina tem sido cada vez mais implicada na gênese da ADC: diminui a absorção intestinal do ferro e impede sua liberação dos macrófagos, podendo ser a principal causa do seqüestro do ferro que ocorre associado com infecções e inflamações (67) A produção de hepcidina é também afetada por hipóxia (68). A associação entre ADC (ou PI) e hepcidina apóia a hipótese de que o peptídeo seja, pelo menos, um dos mediadores da situação. No entanto, a dosagem de hepcidina no soro não se correlaciona tão bem quanto a dosagem na urina, para a caracterização do PI (69). Este fato torna difícil a dosagem urinária do peptídeo em pacientes com insuficiência renal crônica terminal, devido à oligoanúria, que quase sempre apresentam.

#### 1.2.4 Estresse Oxidativo

Este é um assunto sobre o qual ainda não se conhece muito. Himmelfarb et al., recentemente, compararam o estresse oxidativo a um elefante sendo apalpado por indivíduos que nunca o tinham visto, e com os olhos vendados, o que dá origem a interpretações equívocas e absurdas (70). Essa imagem parece muito aproximada da realidade atual em relação ao assunto. Os autores lançam a hipótese que o estresse oxidativo seria o elo de ligação entre uremia, inflamação e desnutrição,

sendo ele o responsável pelo aumento da aterosclerose e da morbi-mortalidade encontrada na síndrome urêmica. Propõem que todos os substratos que contribuem para a injúria oxidativa, como a beta-2 microglobulina, os produtos finais da glicosilação avançada (AGEs), a cisteína e a homocisteína estejam envolvidos e que contribuam para a aceleração da aterogênese na insuficiência renal. Kaysen também relata que poderia haver vínculo entre AGEs e citocinas, estando estas associadas à ativação de monócitos, provendo ligação hipotética entre o estresse oxidativo e a resposta inflamatória na uremia (71).

#### 1.2.5 Bloqueio Inflamatório ou Deficiência Funcional de Ferro?

Anemia e resistência à EPO estão entre os mais importantes problemas clínicos desencadeados por inflamação (16-19) (39-42). Entretanto, padrão laboratorial compatível com o PI, em pacientes em diálise, pode ocorrer representando duas condições distintas: 1) bloqueio inflamatório do ferro (BIF), no sistema retículo endotelial, ou 2) deficiência funcional de ferro (DFF) (6) (15) (16-19) (62) (72). O diagnóstico diferencial entre as duas situações nem sempre é fácil, pois a apresentação laboratorial é semelhante (6) (17) (21).

Bloqueio inflamatório do ferro ocorre em vigência de processo inflamatório ou infeccioso - agudo ou crônico -, bem identificado ou não. Nestas situações, há reservas adequadas de ferro na medula óssea (medidas pela ferritina), mas há redução nos níveis de ferro e de transferrina circulantes (63). No BIF, há

quantidades adequadas de ferro em reserva que, no entanto, não estão disponíveis para eritropoiese, pois estão bloqueadas no SRE.

Deficiência funcional de ferro, por outro lado, é definida como baixa disponibilidade biológica de ferro para eritropoiese, com reservas ainda preservadas. Ocorre, com freqüência, em pacientes renais crônicos que usam EPO. Por efeito da droga, quantidades maiores de ferro são consumidas (6) (15) (18) (41). O consumo aumentado se torna aparente, inicialmente, por redução do ferro circulante. Em seqüência, há consumo das reservas, com posterior queda dos níveis séricos de ferritina (72, 73).

Determinação da porcentagem de saturação do receptor de transferrina solúvel na membrana celular (RTfS) poderia ser ferramenta potencialmente capaz de distinguir ferropenia (deficiência absoluta de ferro) do padrão ADC (onde há deficiência relativa de ferro) (74-79). O receptor de transferrina, inserido na superfície celular, é solúvel e detectável no plasma, onde o nível é diretamente proporcional à concentração celular. Na anemia ferropênica a concentração de RTfS está aumentada, enquanto na ADC é normal ou diminuída. Ainda não há dados comparando os níveis de RTfS em BIF e DFF. O RTfS não foi capaz de distinguir as duas entidades em estudo local recentemente realizado ( Anexo A).

#### 1. 2.6 Ferropenia: Mecanismo de Proteção e Defesa?

Seqüestro de ferro no S.R.E. - na vigência de infecção ou inflamação - parece ser mecanismo importante para o controle da virulência e da proliferação de microorganismos no hospedeiro (80,81). Há evidências sugerindo que excesso de ferro diminui as propriedades quimiotáticas e fagocíticas de neutrófilos, reduzindo sua capacidade de ataque a patógenos (82). Inflamação pode ser vista como possível resposta imune inespecífica que impossibilita o fornecimento de ferro aos microorganismos invasores (63). O uso de doses elevadas de ferro pode ser deletério, aumentando a incidência e a gravidade das infecções (41) (83-86), podendo induzir hemossiderose (depósito aumentado de ferro, em fígado, pâncreas e outros órgãos), incremento na geração de radicais livres de oxigênio (87) e, possivelmente, aumento na proliferação de células neoplásicas (88). Recentemente Feldman, avaliando dados de 32.566 pacientes em HD durante 18 meses, não encontrou significativa associação entre administração de ferro IV em diferentes doses e mortalidade (89).

#### 1.2.7 BIF e DFF: Divergências na Literatura

Quem define as 2 entidades, BIF e DFF, de maneira clara e objetiva é o NKF-DOQI (6). Como já enfatizado, BIF consiste na retenção do ferro no SRE, tornando-o menos disponível para a eritropoiese, quase sempre acompanhando infecção ou inflamação, aparente ou oculta. DFF ocorre quando há necessidade de quantidade maior de ferro do que aquela que pode ser liberada pelas reservas para sustentar a síntese de hemoglobina. Esta situação é freqüentemente causada pelo estímulo

farmacológico da eritropoiese durante o uso da EPO. Distinguir as duas entidades, BIF e DFF, é problema clínico encontrado na prática (6) (17) (64). Embora uma série de autores (10) (17) (18) (38) (64,65) (90) tenham seguido os conceitos emitidos pelo DOQI para conceituar as entidades, outros não o fizeram, gerando idéias discrepantes, divergentes e conflitantes sobre o assunto. Em geral todos os autores definem claramente o padrão ADC, associando-o a inflamação e BIF. No entanto, no que se refere a DFF, divergem em seus conceitos (8,9) (85,86) (91-94).

Todos os artigos citados foram escritos por especialistas, autoridades no assunto que, no entanto, emitem conceitos discrepantes e conflitantes que tendem a tornar o assunto difícil de entender, confundindo os leitores. Recentemente, foram publicados artigos de revisão que usaram – impropriamente - o termo anemia de doença crônica para nomear o que deveria ter sido chamado de anemia de doença renal crônica, o que não contribuiu para diminuir a celeuma (95,96).

#### 1.2.8 Finalidade do Estudo

A finalidade do presente estudo foi a de melhor avaliar o padrão inflamatório que pode levar à anemia, situação comum em diálise, especialmente em pacientes que a realizam em hospitais de referência. Buscou-se discernir melhor o que representa bloqueio inflamatório e deficiência funcional do ferro.

---

---

## 2 OBJETIVOS

---

---

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Estudar inflamação e anemia, em pacientes realizando hemodiálise crônica.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Estabelecer a prevalência do padrão inflamatório em pacientes realizando HD, em Unidades vinculadas e não vinculadas a hospitais de referência;
- Descrever o perfil dos pacientes com padrão inflamatório, sugerindo DFF, realizando HD crônica em hospital de referência;
- Descrever o perfil dos pacientes com padrão inflamatório, sugerindo BIF, realizando HD crônica em hospital de referência;
- Avaliar a evolução clínica e laboratorial de pacientes com padrão inflamatório em HD crônica, com PCR aumentada, sem infecção ou inflamação detectada, com a introdução de água ultrapura, em hospital de referência.

---

---

### **3 PACIENTES E MÉTODOS**

---

---



### **3 PACIENTES E MÉTODOS**

#### **3.1 Delineamento da Pesquisa**

Estudo transversal, observacional, analítico e descritivo, seguido de coorte contemporânea em pacientes realizando HD crônica em Centro de referência.

#### **3.2 População e Amostra**

A amostra inicial constou de 292 pacientes que realizavam HD crônica, em 4 hospitais: Centros A e B, situados em comunidades do Interior do Estado do Rio Grande do Sul, e Centros C e D, localizados em Porto Alegre, ligados a Universidades, e que são referência para encaminhamento de pacientes gravemente enfermos em HD. Nestes Centros avaliou-se a prevalência do PI.

Para estudo do padrão inflamatório (PI) foram utilizados somente os dados colhidos no Centro D (Unidade de Diálise do Hospital São Lucas da PUCRS, HSL-PUCRS), por razões de ordem metodológica: época de coleta de exames, suspensão de determinadas drogas para coleta posterior de exames, facilidade de

obter informações, cadastros e dados de laboratório. As amostras laboratoriais, nos pacientes com PI, foram colhidas em outubro de 2000, 2001 e 2002, e em fevereiro de 2004. Os dados foram coletados nos períodos assinalados em pacientes realizando HD, tendo sido incluídos todos os que apresentavam PI, por ordem cronológica de aparecimento, e sempre excluídos os que já haviam sido considerados previamente para análise.

Para cada paciente foi preenchido um protocolo (Anexo B) em que constam dados de identificação, de anamnese, história médica pregressa, exame físico e exames laboratoriais.

Os pacientes selecionados do Centro D foram divididos em 2 grupos, conforme PCR normal ou aumentada, e comparados para variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais.

### **3.3 Critérios de Inclusão e Exclusão**

Foram incluídos pacientes com insuficiência renal crônica terminal em HD, com ou sem anemia, mas com padrão inflamatório.

Foram excluídos pacientes que, por qualquer razão, perderam-se do estudo, que decidiram não participar, que realizavam HD nas Unidades de Tratamento Intensivo, por não terem sido identificadas as amostras de soro no resgate dos tubos, por terem sido colhidas amostras usando EDTA em vez de heparina, por não possuírem dados completos para análise, e os pacientes que estavam usando

inibidores da enzima de conversão da angiotensina ou estatinas.

### **3.4 Definições para o Estudo**

Hospital de Referência: hospital universitário, de cuidados terciários, que recebe pacientes referenciados de outros Hospitais ou Serviços da Capital, de qualquer região do Estado, ou de outros Estados;

Anemia: presença de Htc < 33 % ou Hgb < 11 mg/dL;

Padrão Inflamatório: pacientes com ferro plasmático menor do que 60µg/dL, capacidade ferropéxica menor que 250µg/dL e ferritina maior do que 100 ng/dL;

HD crônica: procedimento realizado por mais do que 3 meses em pacientes com insuficiência renal crônica terminal, com depuração da creatinina endógena (DCE) estimada menor do que 10 mL/ min;

PCR normal: valor eqüivalente a menos do que 0,51 mg/dL;

Infecção clínica identificada: diagnóstico clínico bem fundamentado de infecção à época da coleta laboratorial para o estudo;

Inflamação identificada: diagnóstico clínico bem fundamentado de inflamação à época da coleta de exames laboratoriais;

Água ultrapura(AUP) para HD: água que, após tratamento, proporciona

cultura negativa e nível de endotoxinas bacterianas menor do que 0,03 EU/mL ao alcançar os consoles individuais.

### **3.5 Variáveis Consideradas para Análise**

Foram considerados para análise: idade, gênero, presença de inflamação-infecção diagnosticadas, tempo de tratamento dialítico, necessidade de hospitalização ou não, presença de cateteres implantados para acesso venoso temporário ou fístulas AV, Htc, Hgb, Fe, capacidade ferropéxica, porcentagem de saturação da transferrina, PCR, ferritina, albumina, PTH, dosagem de EPO, quantidade de EPO utilizada, Kt/V, prevalência de transplantes, ocorrência de óbitos e quantidade de transfusões de sangue nos últimos 3 meses antes das determinações. Nenhum usava próteses vasculares como acesso. Presença de anticorpos anti-virais para hepatite também foi avaliada.

As amostras de sangue sempre foram colhidas imediatamente antes do início da sessão de HD e examinadas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital São Lucas da PUCRS.

### **3.6 Características da HD no Centro D**

Os pacientes eram submetidos a HD durante 4-5 horas/dia, 3 vezes/semana. Utilizaram-se somente máquinas do tipo *single proportioning*, com monitorização

contínua do sódio, e bicarbonato. Foram utilizados somente dialisadores de Polissulfona. Anticoagulação foi realizada com heparina durante todos os procedimentos, salvo quando houve contra-indicação. Nestes casos utilizou-se lavagem periódica da superfície interna do dialisador com solução fisiológica.

A reutilização dos dialisadores foi realizada manualmente com Proxitane® ST (Peróxido de Hidrogênio 6,3 g e ácido peracético 22 g) produzido pela Fresenius Medical Care, São Paulo, Brasil.

Todos os pacientes receberam ferro terapêutico (sacarato de hidróxido de ferro endovenoso) somente por via IV e EPO através da via subcutânea, conforme doses recomendadas pelo NKF-DOQI (6); vitaminas B6 e B12, folato, carbonato de cálcio, vitamina D3 oral e citrato de sódio 10% via oral, também foram prescritos. Terapia com ferro IV foi descontinuada 2 semanas antes dos soros para determinações laboratoriais serem coletadas. Estatinas e inibidores da ECA não foram administradas durante o estudo.

### **3.7 Parâmetros Laboratoriais do Estudo**

O hemograma foi determinado por equipamento automatizado *SE 9500*, *Sysmex Co*, Kobe, Japan. O hematócrito (Htc) foi determinado pelo método de detecção cumulativo da altura do pulso, sendo os resultados expressos em porcentagem. O método do Lauril Sulfato de Sódio foi usado para a dosagem de hemoglobina (Hgb), e os resultados expressos em g/dL. Ferro sérico ( $\mu\text{g/dL}$ ) e

capacidade ferropéxica ( $\mu\text{g/dL}$ ) foram dosados, ambos através de kits fornecidos pela *Merck® KgaA*, Darmstadt, Germany. Os níveis de *N high sensitivity CRP* foram determinados através de nefelometria potencializada, usando kit da *Dade Behring®, Marburg, GmbH, Germany*, resultados em  $\text{mg/dL}$ . Ferritina sérica foi determinada pela *Immulite 2000 Ferritin, DPC® Diagnostic Products Corporation*, Los Angeles, CA, USA, sendo os resultados expressos em  $\text{ng/dL}$ . Albumina sérica ( $\text{g/L}$ ) foi determinada pela solução verde de Bromocresol, kit da *ADVIA 1650/2400, Bayer, Co*, Tarrytown, NY, USA. O PTH intacto ( $\text{pg/mL}$ ) foi dosado no soro através do kit *IMMULITE® 2000 Intact PTH, DPC® Diagnostic Products Co*, Los Angeles, Ca, USA. Determinações no soro de EPO ( $\text{mIU/mL}$ ) foram igualmente feitas com kit da *Immulite® DPC Diagnostic Products Co*, LA, Ca, USA. HBsAg foi determinado por eletroquimioluminescência (ECLIA), *Roche Co, Germany*. Anti-HCV e Anti-HIV foram determinados por ELISA, através de kits específicos da *Ortho-Johnson*, New Jersey, USA. Todas as culturas de água da HD nos consoles foram processadas com o kit *Colilert ®, da Iddex Co, GmbH, Wörstadt, Germany*. O nível de endotoxinas bacterianas foi medido pelo *Pyrogent ® LAL Gel Clot Assays, da BioWhittaker*, Maryland, USA .

Todas as determinações laboratoriais do estudo foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do HSL-PUCRS.

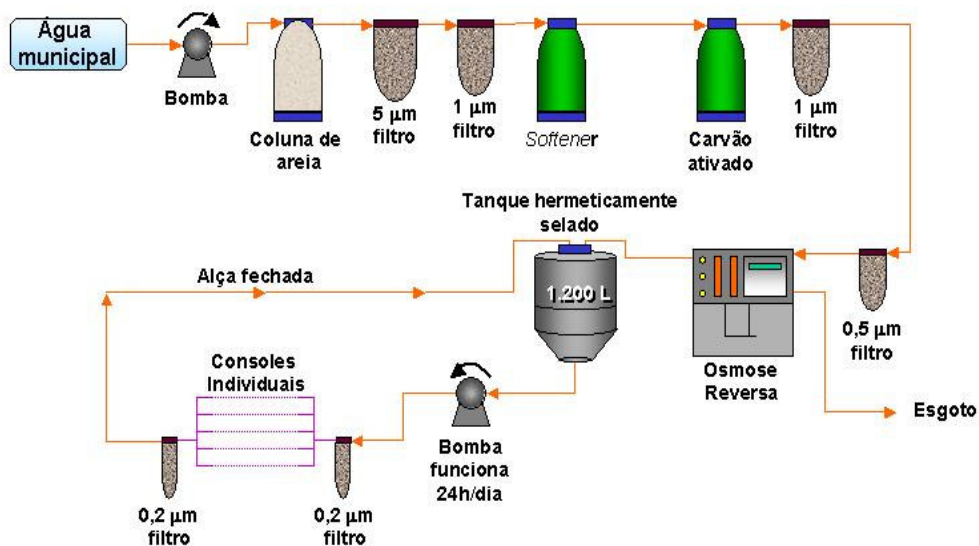
### **3.8 Características da Água da HD**

O sistema de obtenção de AUP antes da introdução da osmose reversa (RO) na HD do HSL-PUCRS consistia de colunas deionizadoras contendo coluna de carvão ativado, seguida de resinas aniônicas e catiônicas e 5 micro-filtros de 1  $\mu\text{m}$  de diâmetro cada. A água era obtida processando a água da hidráulica municipal, passando pelos seguintes passos: coluna de areia, filtro de 5  $\mu\text{m}$  e de 1  $\mu\text{m}$ , abrandador (*softener*), equipamento de carvão ativado, micro-filtro de 1  $\mu\text{m}$  e subsequente micro-filtro de 0.5  $\mu\text{m}$ .

Para obter água ultrapura, a água foi tratada por osmose reversa (*Osmonics*<sup>TM</sup>, Minnetonka, USA), e armazenada em um tanque hermeticamente selado de 1.200 litros. A água assim tratada foi encaminhada às máquinas de HD através de alça recirculante, e dispensada para cada console individual passando através de filtro de 0.2  $\mu\text{m}$ , filtro localizado imediatamente antes de cada console. Na alça de recirculação há microfiltro de 0.2  $\mu\text{m}$  situado imediatamente antes do tanque selado. Os filtros, com diminuição seqüencial dos poros, são do tipo *Polyester Betapure Ultrafilters*, foram dispensados pela *CUNO Co. Fluid Purification*<sup>TM</sup>, Meriden, CT, USA. Melhora do circuito hidráulico foi simultaneamente implantada na época. Evitou-se a ocorrência de tubulações com configuração angular.

Antes da implementação da água ultrapura - em junho de 2001 - as culturas de água eram negativas nos consoles individuais. Contudo, as contagens bacterianas variavam entre 80 (no primeiro console) a 600 UFC/mL (no último), e os níveis de endotoxinas alcançaram 0,4 EU/mL, mensuradas nos locais mencionados (em outubro de 2000). Após a instalação do sistema de obtenção de AUP, todas as culturas foram negativas, e as contagens bacterianas também, e os níveis de

endotoxinas foram reduzidos a menos do que 0,01 EU/ mL em todos os consoles (Figura 2 ).



**Figura 2** - Esquema da água ultra-pura em hemodiálise, no Centro D.

### 3.9 Dosagens de PCR

Determinações séricas de PCR ultra-sensível foram realizadas nos 61 pacientes em HD com PI. Determinações de PCR antes e após a implantação do sistema de obtenção de água ultrapura (AUP) também foram realizadas, conforme dados anteriormente fornecidos.



### **3.10 Análise Estatística**

A análise estatística foi efetuada usando o teste-t de Student, para comparação entre 2 amostras quando as variáveis eram contínuas. Na presença de assimetria entre as variáveis, testes não paramétricos foram utilizados. Usou-se o teste exato de Fisher para análise de variáveis categóricas. Análise multi-variada Anova foi utilizada quando se tornou necessária a comparação de mais do que 2 grupos, bem como o teste discriminatório de Tukey HSD. Para comparação da prevalência do PI nas diversas Unidades de HD utilizou-se o teste do qui-quadrado e o teste de Finner (97). Níveis de  $p \leq 0,05$  foram considerados significativos.

### **3.11 Ética**

O protocolo foi submetido à Comissão de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da PUCRS, tendo sido aprovado em agosto de 2000. Termo de Consentimento livre e esclarecido foi solicitado aos participantes. Os pacientes foram informados sobre a pesquisa e incluídos após assinatura do Consentimento (Anexo C).

---

---

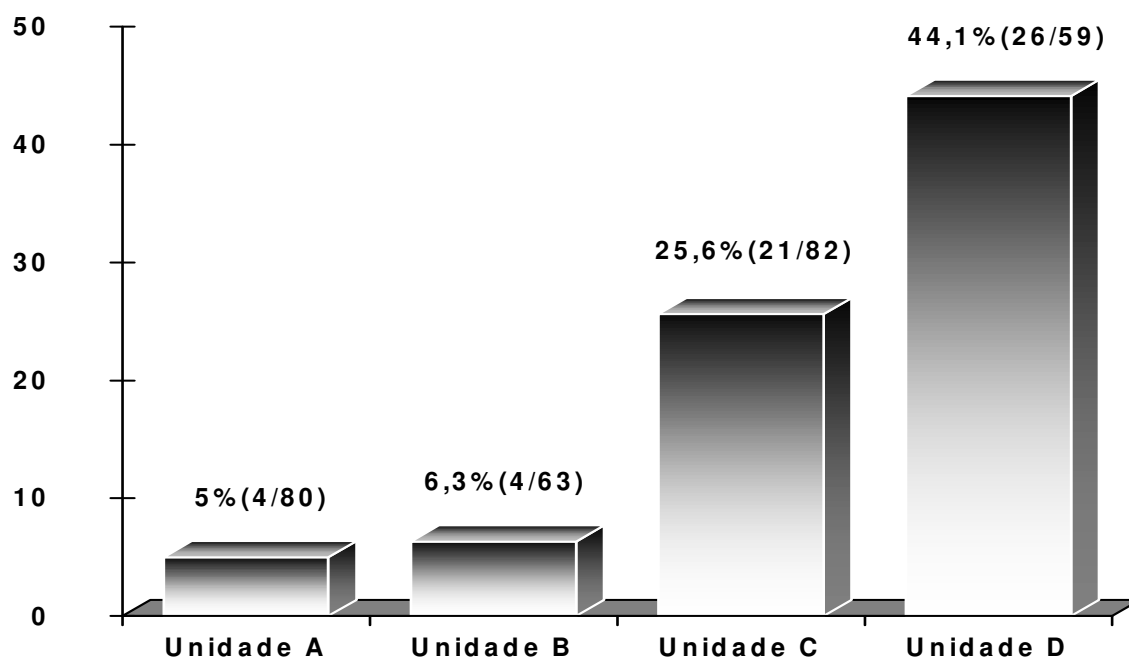
## 4 RESULTADOS

---

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Prevalência do Padrão Inflamatório

A prevalência do padrão inflamatório em pacientes submetidos a HD no Centro A foi de 5% (4/80), no B foi de 6,3% (4/63), no C foi de 25,6% (21/82) e no D correspondeu a 44,1% (26/59), mensurada nos dados colhidos em outubro de 2000.



**Figura 3** - Porcentagens de pacientes com Padrão Inflamatório em Hemodiálise em quatro unidades de diálise do Rio Grande do Sul (ano 2000).

A prevalência em diálise peritoneal crônica de ambulatório (CAPD), nesta mesma época, em pacientes no Centro D, foi de 31,4% (11/35) (18).

A prevalência cumulativa do PI foi de 25,1% (61/ 243) nos dados colhidos em pacientes em diálise no Centro D entre outubro de 2000 e fevereiro de 2004,.

A comparação da prevalência do PI entre os grupos A,B,C e D, usando teste z para proporções, com ajuste de Finner para comparações múltiplas (97), mostrou diferenças significativas entre os Centros A e C (P=0,002), A e D (P=0,0006), B e C (P=0,008), B e D (P= 0,0006) e C e D (P= 0,036). Não houve diferença quando se comparou a prevalência do PI entre as Unidades A e B (P=0,99).

#### **4.2 Padrão Inflamatório e Anemia no Centro D**

Características dos Pacientes: voluntários, submetidos à HD crônica devido a doença renal de diversas etiologias: HAS (n=16); DM (n=8); HAS + DM (n=7); Glomerulopatias (n=7); Rins Policísticos (n=4); Urolitíase (n=3); Nefropatia do Refluxo (n=2); Doença de Alport: (n=1); Câncer de rim (n=2) e origem desconhecida (n=11). Os pacientes eram de ambos os gêneros e de idade variável. Todos apresentavam padrão inflamatório (ferro sérico < 60 µg/ dL, capacidade de fixação do ferro pela transferrina < 250 µg/dL e ferritina sérica > 100 ng/ dL), tendo os dados sido colhidos nos períodos de outubro de 2000 a fevereiro de 2004. Do total de 243 indivíduos, 61 apresentavam o padrão inflamatório e foram acompanhados durante período que variou de 3 a 40 meses.

**Tabela 1-** Dados gerais de todos os pacientes em HD com PI no Centro D, expressos pela frequência ou média e desvio-padrão (n=61).

<b>Idade</b> (anos)	57,8±15,6
<b>Gênero Masculino</b> (n)	34
<b>Tempo HD</b> (meses)	38±46,3
<b>PCR</b> (mg/dL)	2,2±2,7
<b>Htc</b> (%)	29,8±5,85
<b>Hgb</b> (g/dL)	9,5±1,9
<b>Ferro sérico</b> (µg/dL)	42,3±10,7
<b>Capacidade Ferropéxica</b> (µg/dL)	181±37
<b>% Sat. Transferrina</b>	23,6±6,2
<b>Ferritina</b> (ng/dL)	452±607
<b>PTH</b> (pcg/dL)	376±610
<b>Albumina</b> (g/dL)	4,1±0,3
<b>Kt/V</b>	1,26±0,3
<b>RhuEPO sérica</b> (mU/ml)	24±22,7
<b>EPO</b> (un/Kg/sem)	105,5±76,4

Detectaram-se 25 processos infecciosos nestes pacientes: doença periodontal (n=4), endocardite infecciosa (n=3), broncopneumonia (n=3), tuberculose (n=3: pulmonar, ganglionar e Mal de Pott), septicemia (n=2), infecções urinárias (n=2), cateteres de Shilley infectados (n=2), extenso abscesso peritoneal (n=1), pé diabético infectado (n=1), AIDS (n=1), sinusite aguda (n=1), amigdalite aguda (n=1) e prostatite aguda (n=1). Sete processos inflamatórios em atividade foram

identificados: artrite gotosa, Lupus Eritematoso Sistêmico, perda de transplante renal, *by-pass* aorto-bifemural, cirrose, gastrite antral e artrite reumatóide. Os dados referentes a estes pacientes estão na tabela 1.

Dividimos os 61 pacientes, inicialmente, em dois grupos, de acordo com a concentração plasmática de PCR. O Grupo A (GA) tinha 16 pacientes com PCR < 0,51 e o Grupo B (GB) 45 doentes com PCR > 0,51 (tabela 2).

Não houve diferença para idade e gênero comparando GA e GB. A quantidade de infecções ou inflamações identificadas foi significativamente maior no Grupo B (32/45) do que no Grupo A (0/16):  $P= 0,0001$ . O tempo em HD no Grupo A foi de  $53\pm 63$  meses e no Grupo B  $32,6\pm 38,7$  ( $P= 0,139$ ). A comparação entre a porcentagem de indivíduos em HD que hospitalizaram (GA: 1/16; GB: 18/45) foi significativamente maior no Grupo B (0,01), bem como a quantidade de catéteres provisórios para HD utilizados neste grupo (GA:0/16; GB: 14/45) ( $P=0,007$ ).

Hematócrito no GA foi  $33\pm 3,8\%$  e no GB  $28,7\pm 6,1\%$  ( $P=0,01$ ). Hemoglobina no GA foi  $10,5 \pm 1,1$  e  $9,2\pm 2,0$  g/L no GB ( $P=0,02$ ).

**Tabela 2-** Características dos pacientes com PI em HD, divididos conforme níveis séricos de PCR.

<b>Variável</b>	<b>Grupo A n=16 PCR&lt;0,5</b>	<b>Grupo B n=45 PCR&gt;0,5</b>	<b>P</b>
<b>Idade</b> (anos)	58±11,7	57,7±17	0,825
<b>Gênero masculino</b> (n)	7	27	0,261
<b>Infecção/inflamação</b> F	0/16	32/45	>0,001
<b>Tempo HD</b> (meses)	53±63	32,6± 38,7	0,139
<b>Hospitalizações</b> (n)	1/16	18/45	0,012
<b>Acesso temporário</b> (n)	0/16	14/45	0,011
<b>Kt/V</b>	1,4±0,3	1,2±0,3	0,667
<b>Htc (%)</b>	33±3,8	28,7±6,1	0,01
<b>Hgb</b> (g/dL)	10,5±1,1	9,2±2,0	0,02
<b>Ferro</b> (µg/dL)	48,3±8,7	40,1±10,7	0,01
<b>Cap. Ferropéxica</b> (µg/dL)	184±35	180±38	0,333
<b>% Saturação Transferrina</b>	27,6±8,2	22,2±4,6	0,022
<b>Ferritina</b> (ng/dL)	577±1108	408±299	0,344
<b>Alb</b> (g/dL)	4,1±0,3	3,9±0,5	0,189
<b>PTH</b> (pcg/dL)	755±945	241±346	0,316
<b>RhuEPO</b> (mU/mL)	30,8±36,7	20±12,9	0,135
<b>EPO</b> (u/kg/semana)	109,4± 67,6	104,1± 80,2	0,814
<b>Transfusões</b> (un/pt/3meses)	5/16	6/45	0,01
<b>Transplante</b> (n)	2/16	5/45	0,881
<b>Óbito</b> ( n)	0/16	12/45	0,021

Ferro sérico no GA: 48,3±8,7 contra 40,1±10,7 µg/dL no GB (P=0,01). Capacidade ferropéxica não demonstrou diferença. A porcentagem de saturação da transferrina foi de 27,6±8,2 no GA e de 22,2±4,6% no GB (P=0,003). A ferritina e albumina não foram estatisticamente diferentes. A dosagem do hormônio da paratireóide (PTH) no GA foi 755±945 e no GB 241±346 pg/mL (P=0,316). A

dosagem sérica de EPO e a dose administrada por semana, bem como a quantidade de transplantes renais não foram significativamente diferentes, comparando os grupos. A prevalência de óbitos no GA (0/16) foi significativamente menor do que no GB (12/45) ( $P=0,02$ ). O número de unidades de transfusões de glóbulos utilizadas no GA (5/16), foi significativamente menor do que a usada no GB, 63/45 ( $P=0,01$ ).

Ao observar-se o GB, verificou-se que, dos 45 pacientes com  $PCR > 0,51$ , 13 não apresentavam infecção ou inflamação aparentes, enquanto 32 apresentavam este diagnóstico evidente. Decidiu-se dividir o GB e analisá-los: o Grupo B1 ( $PCR > 0,51$  sem infecção/inflamação aparente) e o Grupo B2 ( $PCR \geq 0,51$  com infecção/inflamação inequívoca associadas), e os comparamos entre si e com o GA ( $PCR < 0,51$  sem infecção/inflamação) ( Tabela 3).



**Tabela 3** - Características dos pacientes com PI divididos em três grupos conforme PCR e presença ou ausência de infecção ou inflamação.

<b>Variável</b>	<b>Grupo A n=16 PCR&lt;0,51</b>	<b>Grupo B1 n=13 PCR&gt;0,51 S/infecção/Inflamação</b>	<b>Grupo B2 n=32 PCR&gt;0,51 C/Infecção/Inflamação</b>	<b>P</b>
<b>Idade</b> (anos)	58±11,7	57±14,6	58±17,6	0,995
<b>Gênero Masculino</b>	7	9	18	0,506
<b>Tempo HD</b> (meses)	53±6	52±51	25±28	0,099
<b>Acesso temporário</b>	0/16 <sup>a</sup>	0/13 <sup>a</sup>	14/32 <sup>b</sup>	0,001
<b>Hospitalizações</b>	1/16 <sup>a</sup>	0/13 <sup>a</sup>	18/32 <sup>b</sup>	0,002
<b>Kt/V</b>	1,37±0,26	1,23±0,32	1,20±0,28	0,291
<b>PCR</b> (mg/dL)	0,25 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,32 ± 0,7 <sup>b</sup>	3,5± 3,2 <sup>c</sup>	<0,0001
<b>Htc</b> (%)	33±3,8 <sup>a</sup>	28±6,9 <sup>a</sup>	26±4,4 <sup>b</sup>	0,01
<b>Hgb</b> (g/dL)	10,5±1,0 <sup>a</sup>	9,0±2,2 <sup>a</sup>	8,2±1,4 <sup>b</sup>	0,02
<b>Ferro</b> (µg/dL)	48,3±8,7 <sup>a</sup>	39,5±11,2 <sup>a,b</sup>	40±10,4 <sup>b</sup>	0,002
<b>Cap. Ferropéx.</b> (µg/dL)	184±35	189±40,5	180±38	0,831
<b>% Saturação</b>	27,5±8,2 <sup>a</sup>	21,8±5,0 <sup>b</sup>	21,5±5,0 <sup>b</sup>	0,01
<b>Ferritin</b> (ng/dL)	577±1073	220,4±113,6	484±312	0,303
<b>PTH</b> (pcg/dL)	755±945	237±336	113±186	0,229
<b>Albumina</b> (g/dL)	4,1±0,3	4,1±0,3	3,8±0,5	0,113
<b>RhuEPO</b> (mU/mL)	30,8±36,7	22,6±9,5	16±13,8	0,07
<b>EPO</b> (u/kg/semana)	109,4±67,6	111,5±71	101±82	0,781
<b>Transfusões</b>	5/16 <sup>a</sup>	4/13 <sup>b</sup>	61/32 <sup>b</sup>	0,009
<b>Transplante</b>	2/16	2/13	3/32	0,899
<b>Óbito</b> (n)	0/16 <sup>a</sup>	2/13 <sup>a,b</sup>	10/32 <sup>b</sup>	0,02

a, b, c – letras índices diferentes correspondem à diferença significativa entre os conjuntos.

A comparação, quando a amostra foi dividida em três grupos, revelou que a idade e gênero não demonstraram diferenças entre os grupos. O tempo em diálise também não diferiu. O número de acessos temporários para HD foi de 0/16 no GA, 0/13 no GB1, e 14/32 no GB2, havendo significância na diferença entre GA e GB2 (0,002), e entre GB1 e GB2 (0,002). A prevalência de pacientes que hospitalizaram foi de 1/16 no GA, 0/13 no GB1, e 18/32 no GB2; a comparação entre GA e GB1 não assinalou diferença, mas entre GA e GB2 foi de  $p=0,01$ , e entre GB1 e GB2  $p=0,002$ . O Kt/V calculado não foi diferente. Htc no GA foi  $33\pm 3,8\%$ , no GB1 foi  $28\pm 6,9$ , e no GB2  $26\pm 4,4$ : comparação GA x GB1 não mostrou diferença, enquanto GA x GB2 e GB1 x GB2 foi  $p=0,001$ . Hgb no GA foi  $10,5\pm 1$ ; no GB1  $9,0\pm 2,2$ , e  $8,2\pm 1,4$  no GB2: GA x GB1 foi semelhante, mas GA x GB2 e GB1 x GB2 foi diferente com  $p < 0,0001$ , respectivamente. A dosagem de ferro sérico no GA foi de  $48,3\pm 8,7$ ; no GB1  $39,5\pm 11,2$ ; e no GB2  $40\pm 10,4$ : a comparação entre GA e GB1 e GB1 e GB2 foram semelhantes; mas entre GA e GB2 foram distintos com  $p=0,02$ . A capacidade ferropéxica não mostrou diferença significativa. PCR no GA foi  $0,25\pm 0,1$ ; no GB1  $1,3\pm 0,7$ ; e no GB2  $3,5\pm 3,2$ . A comparação de PCR entre os grupos sempre mostrou diferença: GA x GB1 = 0,003; GA x GB2 = 0,001; e GB1 x GB2 = 0,007. Ferritina, PTH e Albumina não foram diferentes, nem a dosagem de EPO sérica, nem a dose de EPO administrada, quando se compararam os 3 grupos. A frequência de transplantes renais também não diferiu. A prevalência dos óbitos foi de 0/16 no GA, 2/13 no GB1 e 10/32 no GB2. A comparação entre GA x GB1 e GB1 x GB2 não mostrou significância, mas entre GA e GB2 foi de  $p=0,02$ . As quantidades de transfusões de sangue administradas foram de 5/16 no GA, 4/13 no GB1 e 61/32 no GB2. A comparação entre o GA x GB1 foi  $p=0,09$ ; entre GA x GB2  $p=0,009$  e entre GB1 x GB2 foi de 0,09.

Comparação de PCR antes e após uso de água ultrapura no GB 1:

A média das determinações de PCR nos 13 pacientes do GB1 antes da implantação da água ultrapura foi de  $1,3 \pm 0,7$  mg/dL e  $0,47 \pm 0,13$  após ( $p=0,001$ ).

**Tabela 4** - Comparação entre as variáveis do GB1 antes e após a introdução da água ultrapura (AUP).

<b>N= 13</b>	<b>ANTES AUP</b>	<b>APÓS AUP</b>	<b>P=</b>
<b>Idade (anos)</b>	57,0±14,6		
<b>Htc (%)</b>	28±6,9	32,8±3,5	0,453
<b>Hgb (g/dL)</b>	9,0±2,2	10,5±1,0	0,404
<b>Ferro (µg/dL)</b>	39,5±11,28	72,5±19,9	0,0002
<b>Cap. Ferro (µg/dL)</b>	189±40,5	184±38	0,361
<b>% Sat. Transferrin</b>	21,8±5	40,2±10,5	0,0001
<b>Ferritina (ng/dL)</b>	220±113	305±112	0,331
<b>Albumina (g/dL)</b>	4,1±0,2	3,9±0,3	0,06
<b>PCR (mg/dL)</b>	1,3±0,7	0,47±0,13	0,001
<b>EPO sérica (mU/dL)</b>	22,6±10,3	24,3±14,2	0,461

---

---

## 5 DISCUSSÃO

---

## 5 DISCUSSÃO

A prevalência do PI em HD, no estudo, foi maior em Centros ligados a hospitais universitários de referência, responsáveis por atendimento terciário, de maior complexidade. Estes hospitais recebem doentes de outras Unidades, em apoio a outros hospitais, primários ou secundários, pacientes freqüentemente portadores de infecções ou inflamações ainda não bem identificadas. Os Centros C e D parecem se enquadrar neste perfil, pois muitos dos doentes em diálise nestes Hospitais são portadores de doenças graves e encaminhados por outros Serviços, da Capital, do Interior ou de outros Estados. A mais alta prevalência do PI foi registrada no Centro D, em outubro de 2000 (44,1% em HD e 30% em CAPD) (19).

Ao longo de todo o estudo, foram avaliados 243 pacientes do Centro D, sendo identificados 61 destes com PI. No Centro C foram examinados 82 doentes, 21 com PI. A prevalência do PI em ambos os hospitais citados foi em torno de 25%. A diferença na prevalência do PI no Centro D, em outubro de 2000 (44%), comparado aos períodos subsequentes (25%) e, em especial ao Centro C, talvez se deva ao fato de que, àquela época, ainda não havia sido implantado o sistema AUP para HD no Centro D. A diferença entre estes números, quando comparados aos 5% com PI encontrados no Centro A, e aos 6,3% no Centro B, talvez se justifiquem levando-se em consideração o nível distinto de complexidade assistencial. Por outro lado, o uso mais agressivo de ferro IV, nestes últimos Centros, talvez possa justificar

diminuição de incidência do PI naqueles Serviços, pois ferro sérico e ferritina se tornam elevados, com transferrina baixa, com uso desta terapêutica (98).

Tem sido enfatizado que inflamação é causa importante de anemia resistente à ação da EPO (6-10), (15-19), (39) (99), de desnutrição e de doença vascular aterosclerótica (100,101), associada com aumento do risco de morte cardiovascular em diálise (44) (48) (102-113).

Uma das finalidades do presente estudo foi caracterizar o padrão inflamatório (PI) em indivíduos em HD. O que denominamos PI equivale ao que se conhece como anemia de doença crônica (20-22), e consiste na presença de ferro plasmático e capacidade ferropéxica baixos com ferritina elevada. Este padrão ocorre em diálise, acompanhado ou não de anemia. Como anemia pode não ocorrer, preferimos denominá-lo PI, ao invés de ADC.

O relatório do NKF-DOQI (6) considerou a porcentagem de saturação de transferrina igual ou menor do que 20% na caracterização do PI. Como transferrina e capacidade ferropéxica têm sido consideradas como marcadores de fase aguda negativos de inflamação, e têm sido sempre considerados no diagnóstico de ADC, para selecionar pacientes com PI, neste trabalho, escolheu-se capacidade ferropéxica ao invés da porcentagem de saturação de transferrina.

Na atualidade, a maioria dos casos de resistência à ação da EPO em diálise ocorre na vigência de inflamação (6-10) (15-19) (115) (116). Foram descritos casos associados com severa artrite gotosa e infecção do local de saída em CAPD (42), em portador de mal de Pott (92), pacientes em HD com perda do enxerto quando nefrectomia não foi realizada (117), em doentes com pericardite, artrite tuberculosa

ou submetidos à cirurgia (118), com osteomielite (119), abscesso peri-renal (120) ou doença periodôntica (35,36). Existem evidências de ativação dos reagentes de fase aguda em pacientes com insuficiência renal crônica evolutiva, seja em tratamento conservador, em HD ou CAPD, refletindo provável aumento de produção e depuração inadequada dos marcadores (121).

A literatura médica tem sido cautelosa em definir os limites normais para as determinações de PCR, especialmente em pacientes em diálise. A escolha do ponto de corte para o marcador de inflamação foi problema discutido. Os estudos publicados geralmente não revelam as médias e desvios-padrão de PCR, provavelmente porque a variabilidade amostral do método é grande, e a PCR pode apresentar importantes aumentos, mais de 1000 vezes, nas concentrações plasmáticas, em menos de 6 horas (44). Além disso, o teste apresenta alta sensibilidade, mas baixa especificidade (122,123). Owen examinou 1034 pacientes em HD, 35% tinham PCR maior do que 0,8 mg/dL, considerado o limite normal (40). Kato et al. dosaram PCR em HD, excluíram os com inflamação-infecção, e consideraram como normal o valor equivalente a 0,5 mg/dL (108). Park et al. verificaram que 37,6% dos pacientes com insuficiência renal pré-diálise tinham PCR > 0,4 mg/dL (124). Thomé considerou 0,6 mg/dL como ponto de corte para pacientes em HD (125). Mazza do Nascimento também examinou pacientes em HD (126), fez Curva ROC para PCR e seu ponto de referência foi 0,51 mg/dL, com sensibilidade de 63% e especificidade de 67%.

Apesar da baixa sensibilidade e especificidade encontrada com o teste (127), este valor - 0,51 mg/dL - foi o evidenciado em nosso meio, e escolhido para dividir inicialmente os pacientes do presente estudo com PI em 2 grupos: Grupo A (GA)-

PCR < 0,51 e Grupo B (GB)- PCR  $\geq$ 0,51mg/dL. A maioria dos indivíduos pertencia ao GB (74%). Neste grupo, cerca de 70% tinham infecção ou inflamação bem identificada e foram requeridos maior número de acessos venosos provisórios, com as complicações infecciosas e outras a eles atribuídas (128,129). A prevalência de hospitalizações foi significativamente maior no GB, grupo clinicamente mais doente, e que, portanto, hospitalizou mais. Aumentada concentração de PCR tem sido encontrada em pacientes em diálise hospitalizados (21). Yaqub et al. verificaram que pacientes em HD hospitalizados experimentaram significativa e prolongada diminuição dos níveis de Hgb, apesar do aumento da dose de EPO administrada (130). Ferro sérico no GB foi significativamente menor do que no GA, porque o bloqueio no S.R.E. é mais intenso nos indivíduos com inflamação ou infecção e, nestes pacientes, há defeito na liberação do ferro pelos macrófagos (60) (63).

Kaltwasser refere que a coexistência de PI com anemia por deficiência absoluta de ferro, em pacientes com insuficiência renal crônica, poderia ser problema diagnóstico porque ferritina (comportando-se como marcador de fase aguda positiva de infecção) - quando as 2 condições coexistem - poderia estar anormalmente alta (85). A determinação da porcentagem de saturação da transferrina solúvel na membrana celular dosada no plasma (RTfS) poderia fazer a distinção entre ambas as situações, pois RTfS é elevada na deficiência absoluta de ferro, e normal no PI. Logo, determinação de RTfS poderia ser ferramenta potencialmente capaz de distinguir deficiência absoluta de ferro do padrão ADC (ou PI), onde há deficiência relativa de ferro (74-78). O receptor de transferrina, inserido na superfície celular, é solúvel e detectável no plasma, onde seu nível é diretamente proporcional à concentração celular. Ainda não se dispõem de dados comparando os níveis de RTfS entre BIF e DFF. Em estudo local recentemente realizado RTfS



não foi capaz de distinguir as duas entidades (Anexo A).

O GB requereu maior uso de acessos venosos temporários e maior número de internações hospitalares. Os valores de HTC, HGB, ferro, e a porcentagem de saturação foram significativamente menores no GB, enquanto a necessidade de transfusões de sangue, bem como a mortalidade, foram maiores neste grupo. Analisando atentamente as características do GB, ele se comporta como os pacientes portadores de BIF (Bloqueio Inflamatório do Ferro), ao contrário dos pacientes do GA (Tabela 1), que têm comportamento semelhante à DFF (deficiência funcional do ferro), anteriormente definida.

A análise isolada do Grupo B ( $PCR \geq 0,51$ ;  $n=45$ ) permitiu notar que a maioria dos pacientes no GB tinha infecção ou inflamação bem definida (70%). Dividimos este grupo de 45 doentes em 2 subgrupos, de acordo com a ausência (GB1;  $N=13$ ) ou a presença (GB2;  $N=32$ ) de infecção ou inflamação detectada, e os comparamos entre si e com o GA ( $PCR < 0,51$ ) (Tabela 3).

Pacientes HCV e HbsAg reagentes não foram incluídos no grupo com infecção-inflamação, pois a presença destes marcadores virais parece não incitar reação inflamatória nos pacientes em diálise (125,126) (Anexo D).

O tempo em HD nos 3 grupos não foi diferente. Os indivíduos do GA e do GB1 não utilizavam acessos vasculares temporários, à época da coleta, diferentes do GB2. Os níveis de HTC e HGB no GA e no GB1 foram semelhantes entre si, mas significativamente mais elevados do que no GB2. Isto fez pensar que estes pacientes (GA e GB1) talvez pudessem pertencer a grupos com características similares. O ferro sérico também não foi diferente entre GA e GB1, mas

significativamente menor no GB2, quando comparado ao GA. Isto expressa maior bloqueio do ferro nos monócitos e macrófagos dos pacientes com inflamação inequívoca (59) (62). As dosagens de PCR no GB1 e no GB2 foram significativamente diferentes entre si. No GB1 - aparentemente isento de inflamações e infecções - PCR foi significativamente menor do que no GB2. Determinações plasmáticas de PCR podem ser mais elevadas em pacientes com insuficiência renal em evolução do que naqueles com função renal preservada (131,132). Pacientes em diálise também podem ter valores mais elevados de PCR (20). No entanto, verificou-se que todos os dados dos 13 pacientes do GB1 (PCR  $\geq$  0,51 mg/dL, sem infecção ou inflamação aparentes) foram colhidos em outubro de 2000, antes, portanto, da introdução da água ultrapura no Centro D, o que poderia explicar níveis aumentados de PCR sem evidências de inflamação-infecção, como descrito (34)(133). A média de PCR nos pacientes do GB1, antes da introdução da água ultrapura, foi de  $1,3 \pm 0,7$  mg/dL e após  $0,47 \pm 0,13$ , nestes mesmos indivíduos. Isto significa, possivelmente, que o fator mais importante na elevação do marcador neste grupo, foi a ausência de água ultrapura. As variáveis ferro e porcentagem de saturação aumentaram significativamente após o advento da AUP, o que significa que o ferro provavelmente foi desbloqueado com a diminuição do processo inflamatório (Tabela 4). PCR de alta sensibilidade havia sido anteriormente dosada em pacientes em HD, também sem evidências clínicas de inflamação, antes e após introdução de água ultrapura no Centro D. Antes, a média de PCR foi de  $1,05 \pm 0,74$  e após,  $0,48 \pm 0,23$  mg/dL(133), coincidindo esta última, aproximadamente, com os valores do GB1 após AUP, de Kato et al. e Mazza do Nascimento(108,126). Nenhum autor considerou o PI para análise nestes trabalhos, tendo sido considerados somente os níveis de PCR.

As determinações de EPO no soro e a quantificação das doses administradas, em unidades/Kg/semana não mostraram diferenças significativas entre os 3 grupos, avaliadas através de 2 maneiras distintas. Capacidade ferropéxica foi semelhante na comparação dos grupos: talvez fosse de esperar que estivesse diminuída no grupo inflamado, já que se comporta como marcador de fase aguda negativa de inflamação (63). Quando se excluíram pacientes com infecção-inflamação do estudo, transferrina sérica significativamente diminuída no grupo com PCR aumentada (108) (Anexo F). Besàrab relatou que transferrina diminuiu 1/3 em pacientes em diálise (93). No presente trabalho, transferrina não se alterou. Mesmo naqueles mais severamente infectados, a transferrina não diferiu dos isentos do processo. Isto talvez possa ter ocorrido porque todos estavam recebendo ferro terapêutico IV – seguindo o mesmo protocolo (6) - e transferrina diminuiu comprovadamente em pacientes submetidos a este tratamento (98). Ferritina sérica, por outro lado, deveria estar significativamente maior em vigência de processos inflamatórios (63), mas não foi o que ocorreu. Albumina também não mostrou discriminação satisfatória. Ferritina e albumina não mostraram diferenças na comparação entre os 3 grupos. Albumina não mostrou correlação inversa com PCR como descrito na literatura (104) (134). Albumina também é marcador menos sensível do que PCR, que pode estar aumentada em níveis associados a aumentado risco cardiovascular, sem acarretar nenhuma influência em sua determinação sérica. (104) (135). Talvez o número de casos neste trabalho tenha sido pequeno para mostrar estas diferenças.

Quando PTH foi comparado nos 3 grupos, não houve diferenças. Hiperparatireoidismo severo, com comprometimento da medula óssea por fibrose, pode ocasionar anemia refratária ao uso de EPO (11), mas comprometimento

menos importante não induz a este problema (12).

A quantidade de transfusões de glóbulos requerida foi significativamente maior no GB do que no GA, nos 3 meses que antecederam às determinações laboratoriais. Quando os pacientes foram divididos em 3 grupos, os do GB2 receberam mais transfusões do que os outros, e os níveis de HTC e HGB neste grupo foram menores, quando comparados ao GA e GB1, o que sugere resistência à EPO, como descrito (115).

O número de óbitos foi significativamente maior no GB2, comparado ao GA, durante o período de acompanhamento de 3 a 40 meses. Isto ocorreu porque os pacientes do GB2 apresentavam doenças e comorbidades mais graves, acompanhadas de infecção e inflamação bem diagnosticadas. PCR é marcador de inflamação associado a aumento de doença cardiovascular (105-113), desnutrição (40), inflamação e aterosclerose (Síndrome MIA) (25)(104), aumento de mortalidade (44) (48) (106-109) (113) (136), bem como de ocorrência de septicemia (137,138). Kato et al. também verificaram a ocorrência de aumento significativo de mortalidade no grupo com níveis de PCR aumentados (108).

Existe uma série de controvérsias na literatura, que dificultam a compreensão do diagnóstico diferencial entre BIF e DFF. Tarng et al. referem que “DFF pode ocorrer mesmo quando os níveis de ferritina estão elevados” (8). Deve-se comentar que, se os níveis de ferritina estiverem muito baixos, a DFF se transforma em deficiência absoluta de ferro. Mc Dougall (9) confunde BIF com DFF, quando afirma que “DFF significa que as reservas falharam em liberar ferro para suportar a atividade eritropoiética”: este conceito, para o NKF-DOQI, corresponde a BIF. Kaltwasser afirma que “DFF está freqüentemente associada com tratamento com

EPO, tanto na anemia de doença renal – o que é correto - como na anemia de doença crônica” - o que não parece correto -, pois, nesta situação, ocorre BIF (85). Stenvinkel (86) refere, em artigo de revisão, que “altas doses de EPO podem levar a DFF, em pacientes com inflamação crônica”. DFF pode ser decorrente do uso de EPO, mas não ocorre somente em pacientes com inflamação crônica, como afirma o autor. Pacientes não afetados por infecção ou inflamação apresentam DFF. Os afetados tendem a apresentar BIF. Richardson (89) fala em DFF sem defini-la, e implica-a como responsável por resposta hematológica inadequada à EPO. DFF pode ser conseqüente ao uso de EPO, mas não deve causar resposta inadequada, a não ser quando DFF se torna deficiência absoluta de ferro, por completa exaustão das reservas, ou se ocorre BIF. O próprio European Best Practices Guidelines for Management of Anaemia in Patients with Chronic Renal Failure, no guideline 14 (15) confunde o que o NKF-DOQI chama de deficiência funcional de ferro com bloqueio inflamatório do ferro, quando refere que “a causa mais comum de resposta incompleta à EPO é deficiência absoluta ou funcional de ferro”. Drüecke (92) confunde BIF com DFF quando cita o European Best Practices Guidelines, Guideline 14 para dizer que “DFF ocorre quando ferritina é normal, mas ferro está insuficiente para manter a eritropoiese e a HGB falha em aumentar como esperado com as doses usuais de EPO”. Este conceito está mais adequado para BIF, com ferro bloqueado e não disponível para a eritropoiese, do que para DFF. Besàrab (93) chama de DFF o que é BIF para o NKF-DOQI. Nissenson refere que “DFF consiste no bloqueio à liberação e utilização do ferro em estoque no S.R.E.” (94). Na DFF não há bloqueio, e sim aumento da utilização do ferro, por aumento do consumo. Gastaldello et al. referem que pacientes em HD com aumentadas reservas de ferro desenvolvem resistência à EPO devido a DFF (139). Além disso, quando se leva em

consideração os níveis de evidência, todos eles são decorrentes de opinião de especialistas, portanto nível V. Estas opiniões complicam a compreensão do assunto, particularmente no que se refere a DFF. Eschbach comenta em recente Editorial que, “infelizmente os autores não discutem DFF- condição que deve ocorrer em todos os pacientes tratados com EPO, a menos que recebam abundantes quantidades de ferro IV- nem tentam separar BIF de DFF. E isto é importante porque terapêutica com ferro IV é útil para a última entidade citada e ineficaz para BIF” (116) .

Possivelmente, a melhor maneira de explicitar o diagnóstico diferencial entre BIF e DFF fosse efetuar a determinação sérica da hepcidina, polipeptídeo antimicrobiano recentemente descoberto, e que talvez esteja implicado na gênese da ADC, promovendo diminuição da absorção intestinal e bloqueio do ferro no S.R.E. (67). Hecidina estaria aumentada no BIF. No entanto, a dosagem no soro não se correlaciona tão bem quanto à determinação urinária, o que torna o método inviável, no momento, para auxílio diagnóstico no PI, em pacientes portadores de insuficiência renal crônica terminal, pois em geral apresentam oligoanúria (69).

O que parece ter ocorrido nesta análise é que, os pacientes do GA – portadores do PI, mas com PCR menor do que 0,51 mg/dL - correspondem a DFF. Quando avaliados, os pacientes do GB - que também apresentam o PI, com PCR igual ou maior do que 0,51 mg/dL - encontrou-se o correspondente a BIF. No entanto, neste grupo B, encontrou-se um grupo menor, o GB1 - que apresentou PCR aumentada, sem evidências de infecção ou inflamação inequívocas - que apresentou características semelhantes às do BIF em alguns aspectos, e às da DFF em outros, e que parece, estiveram ligadas às condições da HD, como foi

observado, após a introdução da água ultrapura, quando houve normalização dos níveis séricos de PCR. Baseados nos dados do estudo, se HD é realizada observando-se a melhor qualidade do procedimento, deve-se esperar a ocorrência, nos pacientes com PI, de apenas dois padrões definidos: DFF ou BIF.

---

---

## 6 CONCLUSÕES

---



## 6 CONCLUSÕES

1) A prevalência do PI foi significativamente maior em Unidades de HD localizadas em hospitais de referência, universitários, e de maior complexidade.

2) Quando comparados 2 grupos de pacientes com PI e diferenciados pelo nível sérico de PCR, verificou-se que:

2.1) Nos indivíduos em HD, com PCR menor do que 0,51 mg/dL, não houve evidências de infecção ou inflamação, e não se utilizaram acessos venosos temporários. Estes hospitalizaram significativamente menos, possuíam níveis mais elevados de HTC, HGB e de ferro sérico. Necessitaram significativamente menos transfusões, e a mortalidade foi menor. Apresentaram características que sugerem diagnóstico de DFF.

2.2) Nos indivíduos em HD, com PCR igual ou maior do que 0,51 mg/dL, foi maior a prevalência de infecções, houve maior a quantidade de acessos venosos temporários e aumentada a prevalência de hospitalizações. Os níveis de Htc, Hgb e de Fe sérico foram significativamente menores neste grupo. As quantidades de transfusões e a prevalência de óbitos foram significativamente maiores. Apresentaram características que sugerem diagnóstico de BIF.

3) Nos indivíduos com padrão inflamatório, com PCR igual ou maior do que 0,51 mg/dL, mas sem evidências clínicas de infecção ou inflamação detectável,

verificou-se que todos realizaram HD no período em que água ultrapura não era disponível. Os níveis de ferro sérico e a porcentagem de saturação da transferrina aumentaram e a PCR diminuiu neste grupo após a introdução de água ultrapura para realização de HD.

---

---

## REFERÊNCIAS

---

---

## REFERÊNCIAS

1. De Wardener HE. The kidney. In: The kidney and erythropoiesis. Boston: Little, Brown; 1961. p. 89-91.
2. Evans RW, Rader B, Manninen DL. The quality of life of hemodialysis recipients treated with recombinant human erythropoietin. JAMA. 1990;263: 825- 30.
3. Collins AJ, Ma JZ, Ebben J. Impact of hematocrit in morbidity and mortality. Semin Nephrol. 2000;20:345- 9.
4. Mayer G, Thum J, Cada EM, Stummvoll HK, Graf H. Working capacity is increased following human erythropoietin treatment. Kidney Int.1988;34:525-8.
5. Mancini DM, Kunavarapu G. Effect of erythropoietin on exercise capacity in anemic patients with advanced heart failure. Kidney Int.2003;64:S48-S52.
6. NFK-DOQI clinical practice guidelines for the treatment of anemia of chronic renal failure. Am J Kidney Dis. 1997;30:S194-S239.
7. NKF-DOQI clinical practice guidelines for the management of anemia of chronic renal disease. New York, National Kidney Foundation,2001,pp 33-49.
8. Tarng D-C, Tung-Po H, Tzen Wen C, Yang WC. Erythropoietin hyporesponsivity: from iron deficiency to iron overload. Kidney Int.1999;55: S107-S118.
9. Mac Dougall IC. Intravenous administration of iron in erythropoietin- treated hemodialysis patients: which drugs, which regimens? Nephrol Dial Transplant.2000;15:1743-5.
10. Cendoroglo Neto M. Inflamação e Eritropoietina. J Bras Nefrol.2000;22: S-35.

11. Rao DS, Shih MS, Mohini R. Effect of serum parathyroid hormone and bone-marrow fibrosis on the response to erythropoietin in uremia. *N Engl J Med.*1993;328:171-5.
12. David S, Maggiore U, Santagostino- Barbone G, Cambi V. Moderate hyperparathyroidism is not a major cause of resistance to EPO therapy [abstract]. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15: A163.
13. Cronin RE, Heinrich NL. Manifestations of aluminum intoxication. UpToDate: Burton & Rose, 2001. [ 9.2 version].
14. Lima EM, Rocha OGF, Barros JRC. Intoxicação por alumínio na insuficiência renal crônica. *J Bras Nefrol.*2001;23:8-17.
15. European best practice guidelines for the management of anaemia in patients with chronic renal failure. Working Party for European Best Practice Guidelines for the Management of Anaemia in Patients with Chronic Renal Failure. *Nephrol Dial Transplant.* 1999;14 Suppl 5:25-7.
16. Danielson B. RHuEPO hyporesponsiveness: who and why? *Nephrol Dial Transplant.*1995; 10: S69-S73.
17. Gunnel J, Yeun JY, Depner TA, Kaysen GA. Acute-phase response predicts erythropoietin resistance in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis.*1999;33:63-72.
18. Bárány P. Inflammation, serum C-reactive protein, and EPO resistance. *Nephrol Dial Transplant.*2001;16:224-7.
19. de los Santos CA, Antonello ICF, Almeida N, Poli de Figueiredo CE. Inflammatory pattern is associated to anemia on dialysis [abstract]. *Nephrol Dial Transplant.*2001; 16:A6.
20. Weatherall DJ. Normochromic normocytic anaemia, Anaemia of Chronic

- Disorders (ACD). In: Weatherall DJ, Fedingham JGG, Warrell DA, editors. Oxford textbook of Medicine. 3<sup>rd</sup> .ed. Oxford: The University Press;1996. p.3482-3
21. Fitzsimmons EJ, Brock JH. The anaemia of chronic disease remains hard to distinguish from iron deficiency anaemia in some cases. *BMJ*. 2001;322: 811-2.
  22. Weiss G. Iron and anemia of chronic diseases. *Kidney Int*. 1999;55:S12-S17.
  23. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paulter F, Diczfaluzy U, Wang T, Berglund L, et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int*.1999;55:899-1911.
  24. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergström. Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). *J. Nephrol Dial Transplant*.2000;15:953-60.
  25. Pecoits-Filho R, Stenvinkel P, Lindholm B, Bergström J, Noronha I, Abensur H. Revisão: desnutrição, inflamação e aterosclerose (síndrome MIA) em pacientes portadores de insuficiência renal crônica. *J Bras Nefrol*.2002;24:136-46.
  26. Panichi V, Migliori M, De Pietro, Taccola D, Bianchi AM, Norpoth M, et al. The link of biocompatibility to cytokine production. *Kidney Int*. 2000;58:S96-S103.
  27. Pertosa G, Grandaliano G, Gesualdo L, Schenna FP. Clinical relevance of cytokine production in hemodialysis. *Kidney Int*. 2000;58:S104-S111.
  28. Schouten WE, Grootemann MP, van Haute AJ, Schoorl M, van Limbeek J, Nube MJ. Effects of dialyser and dialysate on acute phase reaction in clinical bicarbonate dialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15:379-84.
  29. Schindler R, Boenisch O, Fisher C. Effect of hemodialysis membrane on the inflammatory reaction in vivo. *Clin Nephrol*. 2000;53:452-9.
  30. Capelli G, Ballestri M, Perrone S, Ciuffreda A, Ingiaggiato P, Albertazzi A.

- Biofilms invade nephrology: effects in hemodialysis. *Blood Purif.* 2000;18:224-30.
31. Sitter T, Bergner A, Schiff H. Dialysate and cytokine induction and response to recombinant human erythropoietin in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15:1207-11.
32. Lonnemann G. The quality of dialysate: an integrated approach. *Kidney Int.* 2000;58:S112-S119.
33. Lonemann G. Chronic inflammation in hemodialysis: the role of contaminated dialysate. *Blood Purif.* 2000;18:214-23.
34. Schiff H, Lang SM, Stratakis D. Effects of ultrapure dialysis fluid on nutritional status and inflammatory parameters. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16:1863-9.
35. Craig RG, Spittle MA, Levin NW. Importance of periodontal disease in the kidney patient. *Blood Purif.* 2002;20:113-9.
36. Joshipura KJ, Wand HC, Merchant AT, Rimm EB. Periodontal disease and biomarkers related to cardiovascular disease. *J Dent Res.* 2004;83:151-5.
37. Don BR, Rosales LM, Levine N, Mitch W, Kaysen GA. Leptin is a negative acute phase protein in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2001;59:1114-20.
38. Wessels FJ, Moldawer LL. What are the causes and consequences of the chronic inflammatory state in chronic dialysis patients?. *Semin Dial.* 2000; 13:171-3.
39. Bárány P, Divino-Carolino Filho JC, Bergström J. High protein- C reactive is a strong predictor to erythropoietin resistance in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 1997;16:158-62.
40. Owen WF, Lowrie EG. C- reactive protein as an outcome predictor for maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1998; 54:627-36.
41. Vanzyl- Smit R. Diagnosis and management of iron deficiency in chronic

- hemodialysis patients. *Curr Opin Nephrol Hypertens*.2000; 9:669-74.
42. Chambers JK. Epoetin alfa: Focus on Inflammation and Infection: case Study of the anemic patient. *ANNA J*.1998;25:353-6.
43. Lowrie EG. Acute-phase inflammatory process contributes to malnutrition, anemia, and possibly other abnormalities in dialysis patients. *Am J Kidney Dis*.1998;S105-S112.
44. Arici M, Walls J. End-stage-renal-disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality: is C-reactive protein the missing link? *Kidney Int*. 2001;59:407-14.
45. Bergström J, Lindholm B. What are the causes and consequences of the chronic inflammatory state in chronic dialysis patients? *Semin Dial*.2000;13,163-4.
46. Glassock RJ. Chronic inflammatory state. *Semin Dial*.2000;13:167-9.
47. Panichi V, Migliori M, De Pietro. C- Reactive protein as a marker of chronic inflammation in uremic patients. *Blood Purif*. 2000;18:183-90.
48. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 1999;55:648-58.
49. Hirschfield GM, Pepys MB. C-reactive protein and cardiovascular disease: new insights from an old molecule. *QJM*.2003;96:793-807.
50. Liu Y, Eustace JÁ, Longenecker JC, Jaar B, Fink NE, Tracy RP, et al. Association between cholesterol level and mortality in dialysis patients: role of inflammation and malnutrition. *JAMA*. 2004;291:451-9.
51. Pereira AA, Sarnak MJ. Anemia as a risk factor for cardiovascular disease. *Kidney Int*.2003;64:S32-S39.
52. Danesh J, Wheeler G, Hirschfield GM, Shiniki E, Eiriksdottir G, Rummley A, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction



- of coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2004;350:1387-97.
53. Allan R. Toll. C-reactive protein reassessed. *N Engl J Med.* 2004;350:1450-2.
54. Iseki K, Tozawa M, Yoshi S, Fukiyama K. Serum CRP and risk of death in chronic dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 1999;14:1956-60.
55. Linker CA . Blood: anemia of chronic diseases. In: Tierney LM, McPhee SJ, Papadakis MA, editors. *Current medical diagnosis and treatment.* 43<sup>th</sup>.ed. New York: Lang Medical Books; 2004. p.464-5.
56. Jurado R. Iron, Infection, and anemia of inflammation. *Clin Infect Dis.*1997;25: 888-95.
57. Ahmed AEE. Acute-phase-proteins. In: Peter JB, Blum RA, editors. *Use and Interpretation of laboratory tests in nephrology.* Santa Monica: Specialty Laboratories; 1997. p 3-5.
58. Ridcker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med.* 2000;342:836-43.
59. Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield TC. C-reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross-sectional study. *BMJ.* 1996;312;1061-5.
60. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic response to inflammation. *N Engl J Med.* 1999;340:448-54.
61. Doherty M, Lanyon P. Clinical Investigation: blood tests for inflammation and systemic diseases. In: Warrell DA, Cox TM, Firth JD, Benz Jr EJ, editors. *Textbook of Medicine.* 4<sup>th</sup> ed. Oxford: The University Press; 2003.
62. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med.* 1999;34:1986-94.
63. Konijn AM, Hershko C. Ferritin synthesis in inflammation. *Br J Haematol.*

- 1977;37:7-16.
64. Cavill I. Iron status measured by serum ferritin: the marker and its limitations. *Am J Kidney Dis.* 1999;34:S12-S17.
65. Bistran BR, Khaodhlar L. The systemic inflammatory response and its impact on iron nutrition in end-stage-renal-disease. *Am J Kidney Dis.* 1999;34:S35-S39.
66. Weinstein D, Roy CN, Fleming MD, Loda MF, Wolfsdorf JI, Andrews N. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood.* 2002;100:3776-81.
67. Ganz T. The role of hepcidin in iron sequestration during infections and in the pathogenesis of anemia of chronic disease. *Isr Med Assoc J.* 2002;4:1043-5.
68. Leong WI, Lonnerdal B. Hepcidin, the recently identified peptide that appears to regulate iron absorption. *J Nutr.* 2004;134:1-4.
69. Dallaglio G, Fleury T, Means RT. Serum hepcidin in clinical specimens. *Br J Haematol.* 2003;22:996-1000.
70. Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int.* 2002;62:1524-38.
71. Kaysen GA. The microinflammatory state in uremia: causes and potential consequences. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12:1549-57.
72. de los Santos CA, Antonello ICF, Poli de Figueiredo CE. Decodificando o padrão "Anemia de Doença Crônica" em diálise: deficiência funcional ou bloqueio inflamatório de ferro ? In: Jenner Cruz, editor. *Atualidades em nefrologia.* S. Paulo: Sarvier; 2002. p.232-6.
73. Eschbach JW, Egrie JC, Downing MR, Downing MR, Browne JK, Adamson JW. Correction of the anemia of end-stage-renal-disease with recombinant human

- erythropoietin. *N Engl J Med.* 1987;316:73-8.
74. Ferguson BJ, Skikne BS, Simpson KM, Baynes RD, Cook JD. Serum transferrin receptor distinguishes the anemia of chronic diseases from iron deficiency anemia. *J Lab Clin Med.* 1992;119:385-90.
75. Petterson T, Kivivuori SM, Siimes MA. Is serum transferrin receptor useful for detecting iron-deficiency in anaemic patients with chronic inflammatory diseases? *Br J Rheumatol.* 1994;33:740-4.
76. Punnonen P, Punnonen K, Irjala K, Rajamäki A. Serum transferrin soluble receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency. *Blood.* 1997;89:1052-7.
77. Suominen P, Punnonen K, Rajamaki A, Irjala K. Serum transferrin receptor and transferrin receptor- ferritin index identify healthy subjects with subclinical iron defects. *Blood.* 1998;92:2934-9.
78. de los Santos CA, Antonello ICF, Poli de Figueiredo CE, d'Ávila DOL. Reviewing the diagnosis between iron deficiency and inflammatory pattern on dialysis [abstract]. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18:A-415.
79. Baillie FJ, Morrison AE, Fergus I. Soluble transferrin receptor: a discriminating essay for iron deficiency. *Clin Lab Haematol.* 2003;35:353-7.
80. Fishbane S. Review of issues relating to iron and infection. *Am J Kidney Dis.* 1999; 34:547-52.
81. Hoen B. Iron and infection: clinical experience. *Am J Kidney Dis.* 1999;34:S30-S34.
82. Sunder-Plassmann G, Patruta SI, Hörl WH. Pathobiology of the role of iron in infection. *Am J Kidney Dis.* 1999;34:S25-S29.
83. Patruta SI, Hörl WH. Iron and Infection. *Kidney Int.* 1999;55:S125-S130.

84. Eschach JW, Adamson JW. Iron overload in renal failure patients: changes since the introduction of EPO therapy. *Kidney Int.* 1999; 55:S35-S43.
85. Kaltwasser JP, Gottschalk KR. Erythropoietin and iron. *Kidney Int.* 1999;55:549-56.
86. Stenvinkel P. The role of inflammation in the anaemia of end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16:S36-S40.
87. Fishbane S. Iron treatment: impact of safety issues. *Am J Kidney Dis.* 1998;32:S152-S154.
88. Weinberg ED. Iron therapy and cancer. *Kidney Int.* 1999;55:S131- S134.
89. Feldman HI, Joffe M, Robinson B, Knauss J, Cizman B, Guo W, et al. Administration of parenteral iron and mortality among hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:1623-32.
90. Eschbach JW. Current concepts of anemia in chronic renal failure: impact of NKF-DOQI. *Semin Nephrol.* 2000;20:320-9.
91. Richardson D. Clinical factors influencing sensitivity and response to epoetin. *Nephrol Dial Transpl.* 2002;17:S53-S59.
92. Drüecke T. Hyporesponsiveness to RHuEPO. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16(Suppl 7):S25-S28.
93. Besarab A. Evaluating iron sufficiency: a clearer view. *Kidney Int.* 2001;60:2412-4.
94. Nissenson AR, Charitan C. Controversies in iron management. *Kidney Int.* 2003; S64-S71.
95. Rao M, Pereira BJG. Prospective trials on anemia of chronic diseases: the trial to reduce cardiovascular events with Aranesp® (TREAT). *Kidney Int.* 2003; 64:S512-S519.

96. Totto R. Anemia of chronic disease: past, present and future. *Kidney Int.* 2003;64:S20-S23.
97. Abramson JH, Galingher PM. Computer programs for epidemiologists; PEPI version 4.0, Sagenbrush Press. 2001; Salt Lake City.
98. Canavese C, Bergamo D, Ciccone G, Burdese M, Maddalena E, Barbieri S, et al. Low-dose continuous iron therapy leads to a positive iron balance and decreased transferrin levels. *Nephrol Dial Transplant.* 2004;19:1564-70.
99. Zalantar-Zadh K, McAllister C, Lehn RS, Lee GH, Nissenson AR, Kopple JD. Effect of malnutrition inflammation complex on EPO hyporesponsiveness in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2003;42:761-73.
100. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340:115-26.
101. Knight EL, Rimm EB, Pai JK, Rexrode KM, Cannuscio CC, Manson JE, et al. Kidney dysfunction, inflammation, and coronary events: a prospective study. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:1897-903.
102. Torres JL, Ridcker PM. Clinical use of high sensitivity C- reactive protein for the prediction of adverse cardiovascular events. *Curr Opin Cardiol.* 2003;18:471-8.
103. Rovainen M, Viik-Kajander M, Palosuo T, Tovainen P, Leinonen M, Saikku P, et al. Infections, inflammation, and the risk of coronary heart disease. *Circulation.* 2000;101:252-7.
104. Kalantar-Zadeh K, Rodrigues RA, Humphreys MH. Association between ferritin and measures of inflammation, nutrition and iron in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2004;19:141-9.
105. Bellomo G, Lippi G, Saronio P, Reboldi G, Verdura C, Timio F, et al. Inflammation, infection and cardiovascular events in chronic haemodialysis

- patients: a prospective study. *J Nephrol*. 2003;16:245-51.
106. Qureshi AR, Alvestrand A, Divino-Filho JC, Gutierrez A, Heibürger O, Lindholm B, et al. Inflammation, malnutrition, and cardiac disease as predictors of mortality in HD patients. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13:S28-S36.
107. Wanner C, Zimmermann J, Schwedler S, Metzger T. Inflammation and cardiovascular risk in dialysis patients. *Kidney Int*. 2002;61:S99-S102.
108. Kato A, Odamaki M, Takita T, Furuashi M, Maruyama Y, Ishida A. C-reactive protein as a predictor of short-term mortality in hemodialysis patients. *Am J Nephrol*. 2001;21:176-8.
109. deFilippi C, Wasserman S, Rosanio S, Tibblier E, Sperger H, Tocchi M, et al. Cardiac troponin T and C-reactive protein for predicting prognosis, coronary atherosclerosis, and cardiomyopathy in patients undergoing long-term hemodialysis. *JAMA*. 2003;290:353-9.
110. Rossenson RS, Koenig W. High sensitivity C-reactive protein and cardiovascular risk in patients with coronary heart disease. *Curr Opin Cardiol*. 2002;17:325-31.
111. Koenig W. Update on C-reactive protein as a risk marker in cardiovascular disease. *Kidney Int*. 2003; 63:S58-S66.
112. González MA, Selwin AP. Endothelial function, inflammation, and prognosis in cardiovascular disease. *Am J Med*. 2003;115:99S-106S.
113. Yeun JY, Levine RA, Mantadilock V, Kaysen GA. C-reactive protein predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 2000;35:469-76.
114. Stenvinkel P. Anaemia and inflammation: what are the implications for the nephrologist? *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(Suppl 8):viii7-viii22.

115. Zalantar-Zadeh K, McAllister CJ, Lehn RS, Lee GH, Nissenson AR, Kopple JD. Effect of malnutrition-inflammation complex syndrome on EPO hyporesponsiveness in maintenance HD patients. *Am J Kidney Dis.* 2003;42:761-3.
116. Eschbach JW. Anemia management in chronic kidney disease: role of factors affecting epoetin responsiveness. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13:1412-4.
117. Almond MK, Taylor D, Marsh FP, Raftery MJ, Cunningham J. Increased erythropoietin requirements in patients with failed transplants returning to a dialysis programme. *Nephrol Dial Transplant.* 1994;9:270-3.
118. Eschbach JW, Adamson JW: Recombinant human erythropoietin: implications for Nephrology. *Am J Kidney Dis.* 1998;11:203-9.
119. Azikawa T, Koshikawa S, Takaku F, Urabe A, Akiyama N, Nimura N, et al. Clinical effect of recombinant human erythropoietin on anemia associated with chronic renal failure. A multi-institutional study in Japan. *Int J Artif Organs.* 1988;11:343-50.
120. Muirhead N, Hodsman AB. Occult infection and resistance of anaemia to rHuEPO therapy in renal failure. *Nephrol Dial Transplant.* 1990;5:232-4.
- 121 . Pereira BJJ, Shapiro L, King AJ, Falagas ME, Strom JÁ, Dinarello CA. Plasma levels of IL-beta, TNF-alfa and their specific inhibitors in undialysed CRF, CAPD and HD patients. *Kidney Int.* 1994;45:890-6.
122. Rifai N, Buring JE, Lee IM, Manson JE, Riedcker PM. Is C-reactive protein specific for vascular disease in women? *Ann Intern Med.* 2002;136:529-33.
123. Koenig W. CRP risk prediction: low specificity and high sensitivity. *Ann Intern Med.* 2002;136:550-2.
124. Park CW, Shin YS, Kim CM, Lee SY, Yu SE, Kim SY, et al. Increased C-

- reactive protein following hemodialysis predicts cardiac hypertrophy in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2002;40:1230-9.
125. Thomé FS. Efeito do tratamento da água por osmose reversa ou deionização sobre a atividade inflamatória e o estresse oxidativo de pacientes urêmicos em hemodiálise [tese]. Porto Alegre (RS): UFRGS;2003.
126. Nascimento MM. Estudo da atividade inflamatória e do estresse oxidativo nos pacientes em hemodiálise crônica [tese]. Porto Alegre (RS): UFRGS; 2003.
127. Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH. Diagnóstico. In: *Epidemiologia clínica.* 3<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 1996. p.52-83.
128. Butterly DW, Schwab SJ. Indwelling catheters have the highest rate of infection and are often associated with more serious metastatic complications in dialysis vascular access infections. *Curr Op Nephrol Hypertens.* 2000;9:631-5.
129. Oliver JD, Callery SM, Thorpe KE, Schwab SJ, Churchill DN. Risk of bacteremia from temporary hemodialysis catheter by site of insertion and duration of use: a prospective study. *Kidney Int.* 2000;58:2543-5.
130. Yaqub MS, Leiser J, Molitoris BA. EPO requirements increase following hospitalization in end-stage-renal- disease. *Am J Nephrol.* 2001;21:390-6.
131. Oberg BP, Mc Menamin E, Lucas F L, McMonagle E, Morrow J, Kissler TA, et al. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney diseases. *Kidney Int.* 2004;65:1009-16.
132. Eustace JA, Astor B, Muntner PM, Azickler TA, Coresh J. Prevalence of acidosis and inflammation and their association with low serum albumin in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2004;65:1031-40. 133.
133. de los Santos CA, Antonello ICF, Poli de Figueiredo CE. Evidences that ultrapure water decreases inflammation [abstract]. *Nephrol Dial Transplant.*



- 2002;17:A122-A123.
134. Memolli B, Minutolo R, Bisesti V, Postiglione L, Conti A, Marzano I, et al. Changes of serum albumin and CRP are related to changes of interleukin-6 release by peripheral blood nuclear cells in hemodialysis patients treated with different membranes. *Am J Kidney Dis.* 2002;39:266-73.
135. Kaysen GA, Greene T, Daugirdas JT, Kimmel PL, Schulmann GW, Toto RD, et al. Longitudinal and cross-sectional effects of C-reactive protein, equilibrated normalized protein catabolic rate, and serum bicarbonate on creatinine and albumin levels in dialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2003;42:1200-11.
136. Bayés B, Pastor MC, Bonal J, Juncà J, Hernando JM, Riutort N, et al. Homocysteine, C-reactive protein, lipid peroxidation and mortality in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18:106-12.
137. Póvoa P, Almeida E, Moreira P, Fernandes A, Mealha R, Aragao A, et al. C-reactive protein as an indicator of sepsis. *Intensive Care Med.* 1998;24:1052-6.
138. Yentis SM, Soni N, Sheldon J. C-reactive protein as an indicator of resolution of sepsis in the intensive Care Unit. *Intensive Care Med.* 1995;21:602-5.
139. Gastaldello K, Vereestraeten A, Nzame-Nze T, Wanherweghem JL, Tielemans C. Resistance to erythropoietin in iron- overloaded hemodialysis patients can be overcome by ascorbic acid administration. *Nephrol Dial Transplant.* 1995;10 (Suppl 6):44-7.

---

---

**ANEXOS**

---

## ANEXO A -

### **An attempt to distinguish iron blockade from functional iron deficiency in dialysis by using the soluble transferrin cell receptor test**

(dados não publicados)

**Introduction:** the aim of this study was to observe the ability of some laboratory tests, particularly *soluble serum transferrin cell receptor (STf)*, in *distinguishing* the two varieties of inflammatory pattern seen in patients submitted to chronic dialysis on a tertiary care university hospital - based dialysis unit. The *inflammatory pattern*, e.g., the finding of a serum iron < 60 µg/dL, of a total iron binding capacity (TIBC) < 250 and of a serum ferritin > 100 ng/mL has long been recognised as a paradigm of inflammation, occurring frequently associated with the anaemia of chronic diseases. However, this inflammatory pattern may basically correspond to 2 distinct entities in patients on dialysis: 1) inflammatory iron blockade (IIB), frequently associated with infection and inflammation and 2) functional iron deficiency (FID), frequently seen with erythropoietin use and rarely associated with inflammation-infection. Differential diagnosis is sometimes difficult.

**Patients and Methods:** Ninety-five individuals - 60 on HD and 35 in CAPD - were examined: 37 had a *pattern* compatible with inflammation (serum iron < 60 µg/dL, TIBC < 250 and Ferritin > 100). Of these, 23 had a C-Reactive Protein (CRP) >1.0 mg/dL and were considered to have IIB while 14 had a CRP ≤ 1.0 mg/dL, being considered with FID. Anemia (Haemoglobin, Hgb < 10) occurred in 16/23 (70%) individuals in IIB and in 8/14 (57%) with FID. In IIB 8/23 had a detected infection; in FID only 2. Three in IIB had a well identified inflammation, none in FID. Positive HCV occurred in 1 patient with IIB and in 2 with FID. Reagent HBsAg and Anti-HIV did not occur.

Measured values for body mass index, haematocrit-haemoglobin (HGB), total iron binding capacity (TIBC), % transferrin saturation, plasma albumin and serum erythropoietin determinations were not significantly different when the groups were compared.

**Results:****Table 1**

	Age year	HGB g/dL	Serum iron μg/dL	Ferritin ng/dL	Albumin	Soluble Transferrin	BloodUn/pt/3 month
<b>IIB N=23</b>	60.±15	9.0±1.1	39±10	273±180	3.9±0.4	23,8±11,7	35/23/3:0.58
<b>FID N=14</b>	61±12	10.0±2	50±11	294±181	3.9±0.5	22.0±12.0	6/14/3:0.11
<b>P&lt;</b>	0.5	0.08	0.01	0.177	0.60	0.693	0.007*

\*Odds-ratio 7.1 < 1.31 < OR <42.57, Chi-square 7.3, p= .007

**Conclusions:** in patients submitted to dialysis presenting with the inflammatory pattern the only laboratory test able to distinguish IIB from FID was serum iron. The need for blood transfusions was significantly increased in IIB when compared to FID. The percentage of soluble transferrin saturation wasn't able to make the differential diagnosis between both entities.

## ANEXO B – Protocolo de Pesquisa

### Perfil “Anemia da Inflamação em Diálise”

(Fe <60; TIBC < 250 e Ferritina > 100)

Nome: Idade: Gênero: D.Básica Centro

Hemodiálise Início Hemodialisador CAPD Início

FAV  Shilley  (no momento) Tenckhoff  Prótese (PTFE, etc.)

INFECÇÃO, tipo e local:

HCV (+/-): HBsAg (+/-): HIV (+/-):

#### Laboratório

Ferro: Capacidade Ferropéxica: % Saturação Transferrina:

(<60) (<250)

Htc: Hgb: VCM: CHCM: Proteína-C reativa:

Ferritina sérica: Albumina: PTH:

(≥ 100) EPO:

---

Medicações, doses Transfusões ÚLTIMOS 3 MESES: Datas e Quantidades

---

NORIPURUM: datas e quantidades

EPO (Unidades/Kg/semana)

## **ANEXO C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

### **Termo de Consentimento Pós Informação**

Projeto de Pesquisa: **“ANEMIA ASSOCIADA A INFLAMAÇÃO EM DIÁLISE”**.

#### Justificativa e Objetivos

Cerca de 1/3 dos pacientes em diálise têm anemia, que é uma deficiência na quantidade de sangue, devido à diminuição na produção de glóbulos vermelhos, mesmo quando usam eritropoietina (rEPO) (hormônio que estimula a produção destes glóbulos, têm nomes comerciais de Eprex, Hemax, Tinax, etc.). Resistência à ação do hormônio pode ocorrer mesmo se o paciente tiver boas reservas de ferro. Estas pessoas têm um padrão semelhante ao que se chama “anemia de doença crônica” ou “anemia da inflamação”: o organismo dispõe de ferro em quantidades adequadas, mas este mineral fica bloqueado na medula óssea (“tutano”), não permitindo a formação de glóbulos vermelhos. A causa desta alteração não é muito bem conhecida. Na verdade parece haver 2 diferentes grupos de pacientes que apresentam padrão de reservas de ferro normais (medidas pela ferritina), mas com ferro no sangue baixo, dificultando a produção de glóbulos vermelhos: 1. Os com “bloqueio inflamatório do ferro” (BIF), geralmente associado a inflamação-infecção, sejam elas identificadas ou não; 2. Os com “deficiência funcional de ferro” (DFF), o que ocorre especialmente em pacientes que usam eritropoietina, a qual “gasta” muito ferro em sua ação de estimular a medula óssea para a produção de glóbulos.

A diferença entre os 2 grupos é importante. Achamos que os com BIF têm mais anemia, que é de difícil tratamento, e recebem mais transfusões de sangue. Têm exames que marcam a presença de inflamação alterados. Os com DFF parecem ter menos anemia, seu tratamento é mais fácil, e exigem menos transfusões. Os marcadores de inflamação neste grupo se aproximariam dos normais.

Procedimentos a serem utilizados:

A. Coletas de sangue: a maioria das coletas faz parte da **rotina da diálise**:

hemograma, creatinina, albumina, ferro, transferrina, % saturação da transferrina, ferritina, PTH, HbsAg, anti-HCV e anti-HIV. Acrescentaremos a estas a dosagem de **proteína-C reativa** (3 ml), que **não faz parte da rotina** em diálise.

B. Feito o diagnóstico de anemia de doença crônica (após análise dos exames laboratoriais: **ferro < 60 mcg/dL, transferrina < 250 e ferritina > 100 ng/ dL**), os pacientes serão divididos em **anêmicos (Hgb <10) e não anêmicos (Hgb > 10)**, e serão comparados. As injeções de ferro IV e EPO (de rotina) deverão ser suspensas 2 semanas antes de iniciar o estudo, desde que haja possibilidades clínicas para tal. Os que receberam transfusões de sangue nas últimas 2 semanas não serão incluídos. Os que apresentarem sangramento também serão excluídos.

#### Avaliação do Risco x Benefício Potencial:

Riscos: quase todos os exames laboratoriais são rotineiros, exceto proteína-C reativa e eritropoetina sérica. Para a dosagem deste exame será necessário colher 3 ml de sangue em heparina ou EDTA.

Risco potencial devido à suspensão da EPO e ferro IV: se piorar a anemia sei que se deverá reiniciar a terapêutica que me estava sendo administrada, imediatamente.

Benefícios: tentar identificar, fazer o diagnóstico diferencial, distinguir, entre os pacientes em diálise que apresentam padrão compatível com “bloqueio inflamatório do ferro” daqueles com “deficiência funcional de ferro”.

Ao paciente será garantida resposta a qualquer dúvida sobre o estudo. Ele terá autonomia para abandoná-lo sem nenhum prejuízo para si próprio disso decorrente. Por outro lado, fica bem claro que o paciente terá direito plenamente assegurado à privacidade, i.é, seu nome não será vinculado à pesquisa.

Eu,....., fui informado dos objetivos acima e da justificativa da pesquisa, de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas sobre cada procedimento nos quais estarei envolvido, dos desconfortos ou riscos previstos, tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, sei que novas informações, obtidas durante o estudo, me serão fornecidas, e que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa, baseado nessas informações.

O(A)....., certificou-me de que as informações por





## ANEXO D -

### Influência das Hepatites Virais nos Marcadores de Inflamação em Pacientes em Diálise.

(dados não publicados)

**Objetivo** - Verificar se a presença de marcadores virais para hepatites B e C poderia modificar os reagentes de fase aguda de inflamação em pacientes em diálise.

**Pacientes e Métodos** - Estudamos 94 pacientes: 59 em HD e 35 em CAPD\*. Destes, 15 tinham marcadores de hepatite reagentes: 12 eram HCV e 3 HBsAg positivos. Os restantes 79 eram não reagentes (Tabela 1).

Quando comparados os dados dos 15 indivíduos hepatite reagentes, verificamos que 6 tinham infecção bacteriana associada (Grupo 1, G1): prostatite aguda, broncopneumonia, sinusite purulenta, septicemia, celulite MID e infecção urinária, e 9 não as portavam (Grupo 2, G2) (Tabela 2). No G1 havia 5 HCV e 1 HbsAg; o G2 apresentou 7 HCV e 2 HbsAg. \*(Dados do HSL- PUCRS: outubro de 2000).

**Tabela 1** – Comparação entre pacientes HCV- HBsAg reagentes com os não reagentes.

Results	Tempo HD m	Htc	Hgb	Fe	C.F.	% Sat	PCR	Ferritina	Albumin
Hepatites (N=15)	72,5±65	30±4,6	9,6±1,5	78,4±37	220±23	34,6±16	1,2±1,9	628 ± 1188	3,9±0,3
Hep Não Reagente (N=79)	27,5±31	30±5	9,6±1,6	65±31	217±38	28,5±11	1,5±1,6	324 ± 296	3,9±0,45
P=	0,0001	0,960	0,997	0,142	0,786	0,08	0,610	0,05	0,732

**Tabela 2** - Comparação entre pacientes HCV- HBsAg reagentes, com ( n=6) e sem infecção (n=9) bacteriana.

Results	T HD m	Htc	Hgb	Ferro	C.F.	% Sat	PCR	Ferritina	Albumin
Hepatit Com infec G1	64±33,6	29,5±6,1	9,4±2	71±40	210±18	31±14,7	2,53±2,5	452 ± 576	3,9±0,2
Hepatit Sem infec G2	78±79	30,4±3,3	9,8±16	83±35	226±23	37,1±15	0,4±0,2	744± 1448	3,9±0,3
P=	0,693	0,725	0,655	0,571	0,457	0,489	0,03	0,666	0,898

**Conclusões** - Tempo em diálise e ferritina foram as únicas variáveis que se demonstraram diferentes quando se compararam os grupos hepatites virais reagentes e os não reagentes. Quando se compararam os pacientes hepatite reagentes *com e sem infecção bacteriana* associadas, verificamos que a média de PCR nos com infecção bacteriana era significativamente maior do que nos outros. Os dados sugerem que a presença de marcadores de hepatite reagentes em pacientes em diálise, quando não associada a infecções bacterianas, não é capaz de expressar reação inflamatória, medida por PCR, ferritina ou albumina.

**ANEXO E -**  
**DECODING THE "ANEMIA OF CHRONIC DISEASE" PATTERN ON DIALYSIS:**  
**FUNCTIONAL IRON DEFICIENCY OR INFLAMMATORY IRON BLOCKADE? –**

(texto encaminhado para publicação)

Carlos Abaeté de los Santos, Ivan Carlos Ferreira Antonello

Programa de Pós-graduação em Clínica Médica e Ciências da Saúde - Nefrologia -  
Faculdade de Medicina/HSL/IPB - PUCRS.

Running title: Anemia of chronic disease on dialysis

Corresponding author: Carlos Abaeté de los Santos

Centro Clínico PUCRS Conj 414, Av. Ipiranga 6690

Porto Alegre, RS, CEP 90610.000, Brazil

Phone and Fax: ++ 51 33367700

E-mail:abaeté@pucrs.br

Keywords: C-reactive protein, erythropoietin, hemodialysis, and inflammation renal failure, uremia

## **INTRODUCTION**

Decreased production of erythropoietin (EPO) is the main cause of anemia in chronic renal failure. The use of recombinant human EPO has had a dramatic impact in anemia control, inducing better quality of life (1), reducing morbidity and mortality (2) and improving physical performance in patients on dialysis (3). However, occasionally, response to EPO may be inadequate. Iron deficiency is the commonest cause of decreased responsiveness, even though its occurrence has been diminishing since NKF-DOQI recommended the use of IV iron (4,5). Currently, presence of acute or chronic inflammation, with adequate iron store, is a frequent finding in EPO resistant anemia on dialysis (6-11). This pattern has been called anemia of inflammation, or anemia of chronic disease (ACD) (12): erythrocytes are normochromic and normocytic, with associated *decrease in the serum levels of iron and transferrin (total iron binding capacity, TIBC), and normal or elevated serum ferritin*. It is frequently associated with some evidence of inflammation, infection, liver disease, cancer, or dialysis.

## ACD ON DIALYSIS

The ACD pattern occurred in 44% of hemodialysis (HD) and 31% of continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) patients (13). However, anemia is *not necessarily present in these patients*. This pattern, *on dialysis*, may represent two different pathophysiological conditions: **1) Inflammatory Iron Blockade (IIB)** or **2) Functional Iron Deficiency (FID)** (7-9,14,15). Differential diagnosis between both situations may be difficult, because hematological findings are similar. The aim of this paper is to discuss differences between IIB and FID, which have not yet been clearly defined.

*Definite* inflammatory or infectious processes - acute or chronic - are frequently diagnosed in patients on dialysis. However, a *non-specific* inflammatory reaction may also occur. Interaction between blood and dialyzer may activate the immune system (16-19). Bacteria, lipopolysaccharide fragments and development of a biofilm in the internal or external surface of dialyzers can trigger the inflammatory reaction (20). Use of ultra pure water for HD reduces generation of inflammatory mediators, improves EPO response, decreases protein catabolism, improves nutritional state, and, may reduce the rate of atherosclerosis progression (21-24).

**Role of acute phase reagents** - Inflammation or infection increases serum levels of *positive* acute phase reagent proteins [C-reactive protein (CRP), amyloid A and serum ferritin], and decreases *negative* acute phase reagents [transferrin, albumin and leptin (25)]. Inflammation, suggested by persistently elevated levels of CRP (10), is associated to several pathological manifestations: EPO resistant anemia (7-11,26-29), malnutrition (30), atherosclerosis (31), and risk of cardiovascular disease (32-34). CRP has also been considered a predictive factor to increase risk of death on dialysis (35,36). One of the most important problems accompanying inflammation is anemia and EPO resistance. Patients with elevated CRP may present a laboratory pattern compatible with ACD (37). High levels of ferritin may also be associated with inflammation (13,14,37).

## PATHOPHYSIOLOGY

Inflammation, infection, or tissue lesions are induced by cytokines activation, particularly IL1-beta and TNF-alpha, produced by monocytes and macrophages. These factors stimulate the production of other cytokines - particularly IL6 - which induces acute phase protein synthesis by the liver (16).

**Inflammatory Iron Blockade** - Iron sequestration in the reticuloendothelial system (RES), rendering it unavailable for erythropoiesis, must be strongly considered when serum levels of iron and transferrin (TIBC) are diminished and levels of serum ferritin are increased. This specific pattern is compatible with ACD. Inflammatory iron blockade occurs associated with inflammation or infection - acute or chronic - well identified or not. Iron stores measured by ferritin (or bone marrow aspiration) are adequate, but levels of serum iron and transferrin (TIBC) reduced (37). Iron is not readily available for erythropoiesis in IIB, since it is blocked in the RES. Inflammatory markers are useful in these cases. Serum ferritin levels may be also elevated (13). It seems that, *on dialysis, IIB represents the true ACD*.

**Functional Iron Deficiency** - FID means low biological availability of iron for erythropoiesis with adequate stores. This frequently occurs in patients treated with EPO. The drug promotes greater consumption of iron (6,8), reducing the serum pool and, thereafter, the iron stores. FID is not usually associated with inflammation. Inflammatory markers are usually within the normal limits. These patients usually have less severe anemia, compared to IIB (13). Patients using EPO need administration of larger doses of IV iron to support erythropoiesis and maintain adequate iron stores.

**Deleterious effects of iron excess** - Iron sequestration in RES seem to be an important mechanism to control microorganisms proliferation in the host (38). There are evidences suggesting that iron in excess decreases neutrophils chemotactic and phagocytic properties, reducing their ability to oppose invading pathogens (39). Use of high doses of iron may be harmful, increasing incidence and severity of infections (40,41), inducing hemosiderosis, augmenting generation of oxygen free radicals (42) and, eventually, enhancing malignancy (43).

Determination of the percentage of saturation of the receptor of soluble transferrin in cell membranes (sTrf) helps distinguishing absolute iron deficiency from ACD (when deficiency is relative) (44-46). Transferrin receptor, in cell surface, is soluble and detectable in plasma, circulating levels being proportional to its cell concentration. In absolute iron deficiency, sTrf is increased. In ACD it is normal or decreased. There are no data comparing sTrf serum concentration between IIB and FID.

## **TREATMENT**

No specific treatment for ACD on dialysis is available. Separating IIB from FID is important. When FID is presumed, stores must be monitored and IV iron administration ordered. Although absolute iron deficiency is not present, administration of IV iron may

increase hematocrit and hemoglobin in FID (4). It is necessary to emphasize that FID may occur without anemia or EPO resistance. Functional iron deficiency is induced by EPO that avidly uses serum iron, before reducing iron stores. On the other hand, if IIB is present, identifying and treat inflammation or infection is mandatory. Surgical procedures, even minor, as creation of an AV fistula, can provoke inflammatory reaction on dialysis. Use of bio-incompatible membranes must be avoided (18,19), as well as contamination of dialysis fluid (20-24). It is important to remember that inflammatory reaction on dialysis can present without clinic evidence. The administration of EPO, in patients with IIB must be increased to higher levels than in patients with no inflammation. In cases of resistance to the hormone action, administered dose should be increased to above 300 mg/Kg/week subcutaneously (4). While differential diagnosis between IIB or FID is entertained, use of IV iron 50-100 mg/week in 10 doses can be proposed, since serum ferritin is not above 500 mg/dL (47). If, after IV iron administration, the response is not adequate, it is most likely that IIB is present. Response to IV reposition in FID is better. Use of IV vitamin C has been proposed and sometimes augments Htc-Hgb in individuals with adequate iron stores (48,49). Dialyzers internally covered by vitamin E have been used and seem to decrease oxidative stress and, perhaps, the incidence of atherosclerosis (50-52). It is not mentioned whether or not ACD pattern occurs in these patients. Blood transfusion requirements are increased in IIB compared to FID (13) and must be ordered according previously published protocol (4).

## CONCLUSIONS

ACD is one of the most important forms of anemia and EPO resistance on dialysis patients. It is induced by inflammatory mediators producing RES iron blockade, resulting in low serum iron and transferrin levels with normal or increased serum ferritin. However, this pattern - compatible with ACD - may appear, on dialysis patients, representing two distinct situations: IIB or FID. IIB occurs with clinically silent or overt inflammation or infection, either acute or chronic. Acute phase proteins are elevated in IIB. This pattern must represent the true ACD on dialysis. Laboratory profile similar to ACD with no CRP elevation levels occurs in patients with FID, and it is, frequently, induced by EPO use. Patients with FID may not present anemia neither resistance to EPO. There is no known specific treatment for ACD on dialysis. Differential diagnosis between IIB and FID has to be done. Control of iron stores and IV iron administration is necessary. EPO dose must be, almost always, increased. In IIB, it is necessary to identify and treat associated inflammatory processes. Use of IV Vitamin C after dialysis or Vitamin E covered dialyzers deserve further studies. Blood transfusions may be necessary to correct symptomatic anemia, more frequently found in IIB than in FID.

## REFERENCES

1. Evans RW, Rader B, Manninen DL. The quality of life of hemodialysis recipients treated with recombinant human erythropoietin. *JAMA* 1990; 262: 825-830.
2. Collins AJ, Ma JZ, Ebben J. Impact of hematocrit on morbidity and mortality. *Sem Nephrol* 2000; 20 (4): 345- 349.
3. Mayer G, Thim J, Cada EM et al. Working capacity is increased following recombinant human erythropoietin treatment. *Kidney Int* 1998; 34: 525-528.
4. Eschbach JW, DeOreo P, Adamson J et al. NFK-DOQI clinical practices guidelines for the treatment of anemia of chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 1997; 30 [4 Suppl 2]: S192-S239.
5. Targ DC, Huang TP, Chn TW et al. Erythropoietin hyporesponsiveness: from iron deficiency to iron overload. *Kidney Int* 1999; 55 [Suppl 69]: S107- S118.
6. Working party for European best practice guidelines for management of anemia in patients with chronic renal failure. Guideline 14. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14[Suppl 5]:25-27.
7. Danielson B. RHuEPO hyporesponsiveness – who and why? *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10 [Suppl 2]: 69-73.
8. Gunnell J, Yeun JY, Depner TA et al. Acute-phase response predicts erythropoietin resistance in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1999; 33 (1): 63-72.
9. Bárány P. Inflammation, serum C-reactive protein, and erythropoietin resistance. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 224-227.
10. Stenvinkel P. The role of inflammation in the anemia of end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16 [Suppl 7] 36-40.
11. Drüeke T. Hyporesponsiveness to recombinant human erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16 [Suppl 7] 25- 28.
12. Weatherall DJ. Normochromic, normocytic anaemia. In: Weatherall DJ, Ledingham JGG, Warrell DA, ed. *Oxford Textbook of Medicine*. Oxford University Press, Oxford: 1996; 3482-3483.
13. de los Santos CA, Antonello IC, Almeida N et al. Inflammatory pattern is associated to anemia on dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16(6):A134 (abstract).
14. Cavill I. Iron status as measured by serum ferritin: the marker and its limitations. *Am J Kidney Dis* 1999; 34 [4, Suppl 2]:S12-S17.
15. Bistran BR, Khaodhiar L. The systemic inflammatory response and its impact on iron nutriture in end- stage- renal- disease. *Am J Kidney Dis* 1999; 34 [4 Suppl 2]:S35-S39.

16. Panichi V, Migliori M, De Pietro S et al. The link of biocompatibility to cytokine production *Kidney Int* 2000; 58[Suppl 76]:S96-S103.
17. Pertosa G, Grandaliano G, Gesualdo L et al. Clinical relevance of cytokine production in hemodialysis. *Kidney Int* 2000; 58[Suppl 76]:S-104-S-111.
18. Schouten WE, Grootemann MP, van Haute AJ et al. Effects of dialyser and dialysate on acute phase reaction in clinical bicarbonate dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(3):79-84.
19. Schindler R, Boenisch O, Fisher C et al. Effect of hemodialysis membrane on the inflammatory reaction in vivo. *Clin Nephrol* 2000; 53(6):452-459.
20. Capelli G, Ballestri M, Perrone S et al: Biofilms invade Nephrology: effects in hemodialysis. *Blood Purif* 2000; 18(3):224-230.
21. Sitter T, Bergner A, Schiff H. Dialysate related cytokine induction and response to recombinant human erythropoietin in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(8): 1207-1211.
22. Lonnemann G. The quality of dialysate: an integrated approach. *Kidney Int* 2000; 58 [Suppl 76]:S112-S119.
23. Lonemann G. Chronic inflammation in hemodialysis: the role of contaminated dialysate. *Blood Purif* 2000; 18(3):214-233, 2000.
24. Schiff H, Lang SM, Stratakis D. Effects of ultrapure dialysis fluid on nutritional status and inflammatory parameters. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16:1863-1869.
25. Don BR, Rosales LM, Levine NW et al. Leptin is a negative acute phase protein in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 2001; 59:1114-1120.
26. Bárány P, Divino Carolino Filho JC, Bergström J. High protein- C reactive is a strong predictor to erythropoietin resistance in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1997; 29:565-568.
27. Owen WF, Lowrie EG. C- reactive protein as an outcome predictor for maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998; 54(2):627-636.
28. Vanzyl- Smit R. Diagnosis and management of iron deficiency in chronic hemodialysis patients. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000; 9:669-674.
29. Chambers JK. Epoetin alfa: Focus on Inflammation and Infection: Case Study of the anemic patient. *ANNA J* 1998; 25:353-356.
30. Lowrie EG. Acute-phase inflammatory process contributes to malnutrition, anemia, and possibly other abnormalities in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998; 32 [6 Suppl 4]:S105-S112.
31. Arici M, Walls J. End-stage-renal-disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality: is C-reactive protein the missing link ? *Kidney Int* 2001; 59:407-414.
32. Bergström J, Lindholm B. What are the causes and consequences of the chronic



- inflammatory state in chronic dialysis patients ? *Semin Dial* 2000; 13(3):163-164.
33. Glasscock RJ. Chronic inflammatory state. *Semin Dial* 2000; 13(3):167-169.
  34. Panichi V, Migliori M, De Pietro S et al. C- Reactive protein as a marker of chronic inflammation in uremic patients. *Blood Purif* 2000; 18:183-190.
  35. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A et al. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999; 55:648-658.
  36. Iseki K. Serum CRP and risk of death in chronic dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14(8):1956-1960.
  37. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999; 341(26):1986-1994.
  38. Fishbane S. Review of issues relating to iron and infection. *Am J Kidney Dis* 1999; 34(4):547-552.
  39. Hoen B. Iron and Infection: clinical experience. *Am J Kidney Dis* 1999; 34 [4 Suppl 2]: S-30-S-34.
  40. Sunder- Plassmann G, Patruta SI, Hörl WH. Pathobiology of the role of iron in infection. *Amer J Kidney Dis* 34 [4 Suppl 2]: S-25-S-29.
  41. Patruta SI, Hörl WH. Iron and Infection. *Kidney Intern* 1999; 55[Suppl 69]:S125-S130.
  42. Eschbach JW, Adamsom JW. Iron overload in renal failure patients: changes since the introduction of erythropoietin therapy. *Kidney Int* 1999; 55 [Suppl 69]: S-35-S-43.
  43. Weinberg ED. Iron therapy and cancer. *Kidney Int* 1999; 55 [Suppl 69]:S131-S134.
  44. Ferguson BJ, Skikne BS, Simpson KM et al. Serum transferrin receptor distinguishes the anemia of chronic diseases from iron deficiency anemia. *J Lab Clin Med* 1992;119:385-90.
  45. Petterson T, Kivivuori SM, Siimes MA. Is serum transferrin receptor useful for detecting iron- deficiency in anaemic patients with chronic inflammatory diseases? *Br J Rheumatol* 1994; 33:740-744.
  46. Punnonen K, Irjala K, Rajamäki A. Serum transferrin soluble receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency. *Blood* 1997; 89(3):1052-1057.
  47. Fishbane S. Iron treatment: impact of safety issues. *Am J Kidney Dis* 1998; 32[6 Suppl 4]:S-152-S-154.
  48. Gastaldello K, Vereestraeten A, Nzame- Nze T, et al. Resistance to erythropoietin in iron- overloaded hemodialysis patients can be overcome by ascorbic acid administration. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10[Suppl 6]:44-47.
  49. Targ DC, Wey YH, Huang TP. IV ascorbic acid as an adjuvant therapy for recombinant EPO in hemodialysis patients with hyperferritinemia. *Kidney Int* 1999; 55:2477-2486.
  50. Mune M, Yukawas S, Kishino M, et al. Effect of vitamin E on lipid metabolism and atherosclerosis in ESRD. *Kidney Int* 1999; 56[Suppl 71]: S126-S129.
  51. Satoh M, Yamasaki Y, Nagake Y, et al. Oxidative stress is reduced by long term use of

- Vit. E- coated dialysis filters. *Kidney Int* 2001; 59:1943-1950.
52. Mydlyk M, Derzsiová K, Rácz O, et al. A modified dialyser with vit- E and antioxidant parameters. *Kidney Int* 2001; 59[Suppl 78]:S144-S147.

**ANEXO F -**  
**ULTRAPURE WATER DECREASES INFLAMMATION IN HEMODIALYSIS**

(texto encaminhado para publicação)

Carlos Abaeté de los Santos, MD

**Curso de Pós-Graduação em Medicina, Pontifícia Universidade Católica School of Medicine, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.**

**Running title: "UPW decreases inflammation in HD."**

Corresponding author: C. Abaeté de los Santos

Address: Av. Ipiranga, 6690. Porto Alegre, RS

CEP: 90610-000

Phone- Fax: 55.51.33367700

e- mail: abaete@pucrs.br

Key Words: Anaemia, C-Reactive Protein, Erythropoietin Resistance, Inflammation, Malnutrition.

**ABSTRACT**

Background - Use of non-biocompatible membranes and exposure to contaminated haemodialysis (HD) fluid may increase C-reactive protein (CRP). In this study, of a single group of individuals on HD, the use of ultrapure water (UPW) was associated with decreased signs of inflammation when CRP was compared before and after UPW introduction.

**Patients and Methods** - N high sensitivity CRP levels were measured in the same 31 HD patients before (T1) and after (T2) UPW introduction. Parameters, including episodes of chills (unassociated with infections), serum iron levels, and blood transfusions, were compared for 3 months preceding T1 and T2. Polysulphone dialysers were exclusively used. Statistical analysis was compiled using t test for paired samples, Wilcoxon signed-rank test and odds ratio.

**Results** - The incidence of chills was 42 in 1178 HD sessions in the 3 months preceding T1 and 2 episodes occurred in 1178 sessions 3 months after the introduction of UPW ( $p=0,0001$ ). Haemoglobin (Hgb) increased from  $9.6\pm 1.8$  g/dL in T1 to  $10.4\pm 1.6$  in T2 ( $p=0,007$ ). There was a reduction in blood transfusions from 0.193 to 0.096 units/pt/ month in T1 and in T2 respectively. CRP dropped from  $1.05\pm 0.74$  to  $0.48\pm 0.23$  mg/dL in the same time period ( $p=0,0001$ ).

**Conclusions** - The analysis demonstrated significant reduction in CRP levels with marked decrease in the episodes of chills, pointing to a diminished inflammatory process. The increase in Hgb is reflected in the decrease in blood transfusions. This would indeed suggest that UPW decreases inflammatory response concerning HD.

## INTRODUCTION

High serum levels of C Reactive Protein (CRP) are associated with inflammation, anemia, erythropoietin (EPO) resistance (1,2) and malnutrition (3,4) in patients on dialysis, in addition to being considered a risk factor for cardiovascular disease (5,6) and a positive predictive index of mortality (7-9). The use of non-biocompatible membranes (10,11) or contaminated hemodialysis (HD) fluid may well induce production of cytokines thereby increasing the positive, and decreasing the negative inflammatory markers (12-14). The use of UPW in HD appears to decrease CRP, thus improving the patients' nutritional status (15), anemia and EPO response (13). The production of biofilms in the hydraulic system and in HD capillary filter walls may considerably decrease after UPW use (16) reducing inflammatory reaction and, plausibly, its consequences (17).

This paper will compare clinical and laboratory parameters, including serum levels of CRP, in a single group of individuals in HD, examined before and after the introduction of UPW.

## SUBJECTS AND METHODS

**Study design** - This is an observational, longitudinal and self-controlled study. A patients' cohort on HD were submitted to laboratory analysis in October 2000 (T1) and in October 2001 [3 months after UPW introduction (T2)]. Incidence of chills and blood transfusions administered were analysed in July, August and September, prior to T1 and T2 laboratory analysis.

**Patient characteristics** - Fifty-nine chronic HD patients were initially enrolled in the study; 28 were dropped when they no longer met the study criteria. Among the excluded in the final analysis were those 13 with infection [prostate gland infection, chronic obstructive pulmonary disease, infectious endocarditis, HbsAg (2) and anti-HCV reagent (8)], 3 had inflammation and 2 cancer. Those receiving a kidney transplant (6), allocated to CAPD (1) or which expired (3) within the study period were also excluded. Of the remaining 31 patients, 12 were female and 19 male ranging in age from 42 to 82 years. Causes of end- stage-

renal-disease (ESRD) were: 10 with hypertension, 8 by means of diabetes, 4 suffered chronic interstitial nephritis, polycystic kidney disease accounted for 3, another 3 being diagnosed with glomerulonephritis, and 3 with ESRD from an unknown etiology. All patients were dialysed using an AV fistula for vascular access. Blood samples were drawn immediately prior to HD sessions.

**Treatment characteristics** - Patients were dialysed for 4-5 hours per day, 3 times per week, a mean of 38 HD sessions per patient during the 3 month study period. Single proportioning machines with sodium monitoring control and a bicarbonate buffer were utilized. Polysulphone dialysers were exclusively used. All patients were placed on a medical regimen of IV iron and subcutaneous EPO, as recommended (18); vitamins B6- B12, folic acid, calcium carbonate, oral vitamin D3, as well as a 10% oral sodium citrate solution were also given. IV iron was discontinued 2 weeks before blood for laboratory determinations were drawn. Statins and angiotensin-converting-enzymes inhibitors (ACE) were not administered during the study.

**Study parameters** - All laboratory analysis performed in T2 were identical to those performed initially in T1. N high sensitivity CRP levels were determined through enhanced nephelometry, using Dade Behring® kit, Marburg, GmbH, Germany; serum iron and iron binding capacity were measured by a Merck® KgaA, Darmstadt kit, Germany; serum ferritin by Immulite 2000 Ferritin, DPC® Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA. Assays of endotoxin levels were made by using the Pyrogen® LAL Gel Clot Assay from BioWhittaker, Annapolis, MD, USA, with a 0.03 EU/ mL sensitivity kit. Water cultures were processed with a Colilert® kit, from Iddex Co, GmbH, Wörstadt, Germany. EPO serum determinations were made by Immulite® DPC Diagnostic Products Co, USA. Other parameters monitored included the number of episodes of chills, the total number of HD sessions, and units of packed red blood cells (PRBC) administered in the period 3 months before and after UPW introduction.

**Water characteristics** - Prior to the improvement of the hydraulic circuit with reverse osmosis (RO) and implementation of ultra-filters in the dialysate lines testing showed our water supply culture to be negative; the dialysate water tested 40 CFU/ml. In the individual consoles counts varied from 80 to 600 CFU/ml and endotoxin levels reached 0.4 mcg/ dl. After installation of the improved filtration system (Figure 1) all cultures were negative and endotoxin levels were reduced to < 0.03 EU/ml in the machines. RO system was provided by Osmonics™, Minnetonka, MN, USA. The ultra-filters, with sequential decreasing pore size diameters, were from the Polyester Betapure brand, CUNO Co. Fluid Purification™, Meriden, CT, USA.

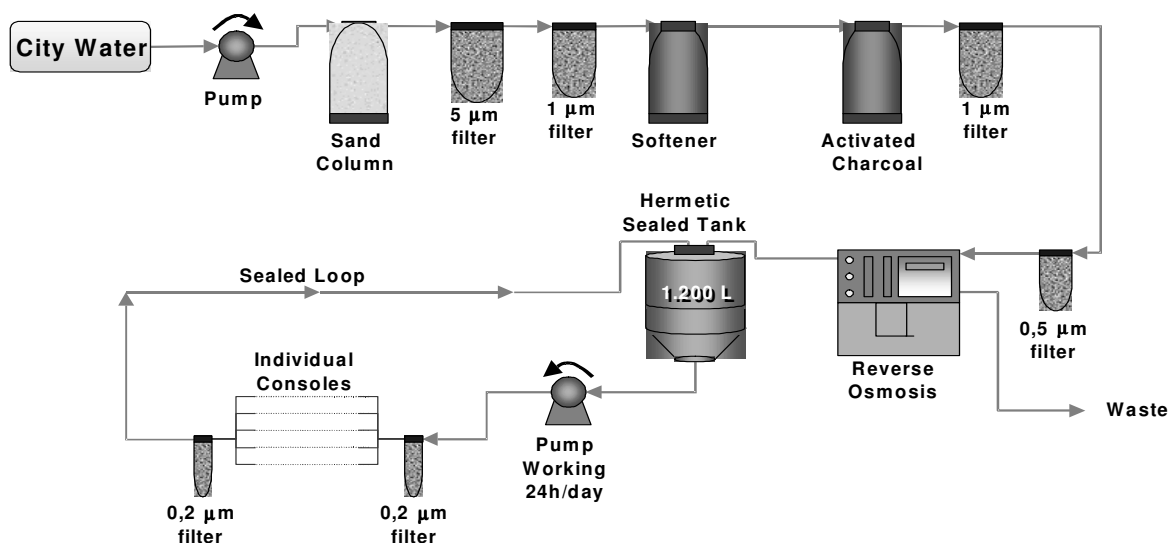


Fig. 1. UPW basic schematics. Note decreasing micro-filters pore disposition.

**Statistic analysis** - As the study was self-controlled, generating paired-samples, for normally distributed data a parametric paired t sample test was used. For the non-normally distributed data a non-parametric, the Wilcoxon signed-rank test was utilized. Odds ratio was employed to calculate the PRBC requirements. Data was processed using an SPSS computer program with reports presented as mean  $\pm$  SD and a  $p \leq 0.05$  being considered significant.

## RESULTS

The comparison of laboratory determinations for normally distributed data can be found in Table 1. Serum ferritin levels (mean  $\pm$ SD) were  $435 \pm 848$  ng/ml and  $429 \pm 790$ , PTH  $189 \pm 362$  pg/ml and  $160 \pm 333$ , while CRP was  $1,05 \pm 0,74$  mg/l and  $0,48 \pm 0,23$  in T1 and T2, respectively. EPO serum levels were  $18.4 \pm 14.0$  in T1 and  $25.0 \pm 12.0$  mU/ml ( $p=0.07$ ). Other non-normally distributed paired samples are demonstrated in Table 2.

Patients required 18 units of PRBC in the 3 months preceding T1 determinations and 9 units after UPW introduction [CI 95%, Odds ratio: 3.4 ( $1.05 < OR < 11.2$ ); Chi- square  $p = 0.02$ ].

**Table 1** - Comparison of laboratory analysis before (T1) and after (T2) UPW introduction

Paired samples	T1 (mean $\pm$ SD)	T2 (mean $\pm$ SD)	P=
Htc (%)	30.0 $\pm$ 5.4	32.4 $\pm$ 4.9	0.01
Hgb (g/dL)	9.6 $\pm$ 1.8	10.4 $\pm$ 1.6	0.007
Serum Iron( $\mu$ g/dL)	65.4 $\pm$ 31.6	70.1 $\pm$ 27.4	0.433
TIBC ( $\mu$ g/dL)	207.4 $\pm$ 27.0	181.6 $\pm$ 40.3	0.0001
Iron Sat. (%)	30.5 $\pm$ 14.2	40.1 $\pm$ 11.5	0.003
S. Albumin (g/dL)	4.0 $\pm$ 0.3	3.9 $\pm$ 0.3	0.075
Kt/ V	1.1 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.3	0.637

Parametric paired-sample t test for normally distributed data.

**Table 2** - Comparison of data before (T1) and after (T2) UPW introduction.

		N	Mean Rank	Sum of Ranks	Z	Asymp. Sig. (2- tailed)
FERRIT 1- FERRIT 2 (ng/dL)	Negative Ranks	11	18.82	207.00		
	Positive Ranks	20	14.45	289.00		
	Ties	0				
	Total	31			-0.803	0.422
PTH 1- PTH 2 (pg/dL)	Negative Ranks	14	14.54	203.50		
	Positive Ranks	16	16.34	261.50		
	Ties	1				
	Total	31			-0.597	0.551
CRP 1- CRP 2 (mg/L)	Negative Ranks	26	16.92	440.00		
	Positive Ranks	5	11.20	56.00		
	Ties	0				
	Total	31			-3.763	0.0001
Chills 1- Chills 2	Negative Ranks	19	10.00	190.00		
	Positive Ranks	0	0.00	0.00		
	Ties	12				
	Total	31			-3.898	0.0001

Wilcoxon- signed rank test for non-normally distributed paired samples.

Ferrit: ferritin; PTH: parathyroid hormone; CRP: C-reactive protein; IV iron: intravenous iron.

## DISCUSSION

After installation of the new purification system the water supply met the criteria to be considered ultrapure with a bacterial count below 0.1 UFC/ml and endotoxin levels lower

than 0.03 EU/ml, in the individual consoles, as measured by Limulus Amebocyte Lysate assay (LAL) (19). Contaminated HD water and use of non biocompatible membranes have been known to induce to an inflammatory state, by stimulating production of IL1, TNF- $\alpha$  and IL6, through activation of monocytes and macrophages which, in turn, stimulate the liver to release positive inflammatory markers (CRP, beta-2 microglobulin, haptoglobin and ferritin ) and decrease the negative indicators (albumin, transferrin) (14).

Increased interleukin levels have been implicated in the genesis of fever and chills - unassociated with infections - during HD (12). A strikingly significant reduction of these symptoms occurred after UPW introduction.

Another confirmation in the reduction of the inflammatory process was a significant drop in CRP levels, reaching normal limits in almost all individuals. Htc and Hgb were significantly augmented. Previous publications reported decreased EPO resistance and improvement in malnutrition associated with decreased inflammation. Sitter et al, comparing contaminated water with UPW, on a blind, randomised study, verified that CRP and IL6 levels decreased and a better response to EPO became apparent (13). Schiffel et al also encountered diminished CRP and IL6 serum levels with evidence of improved nutritional status using UPW. However, the authors did not mention improvement in the hematological indicators (15). Schouten and Schindler stated that the type of membrane, rather than bacteriological quality of the dialysate, was the most important factor determining changes of the inflammatory pattern in HD patients (10, 11). In this study use of UPW was the only variable introduced. Identical biocompatible membranes were used and laboratory determinations were made in the same period of the year in the same individuals. EPO serum levels were not significantly different. This leads us to believe that, the most important single factor responsible for the decreased inflammation was the improved quality of water dispensed. All patients were dialysed exclusively through AV fistulas, as prosthetic devices are prone to promote inflammation (20). Statins were not included in the medication regimen since this class of drugs is known for its CRP-lowering properties (21).

The effects of increased IV iron supplementation in the medical regimen were threefold: 1) ferritin did not increase proportionally to inflammation, acting more as an iron storage protein than as an inflammatory marker (22); 2) A decrease in TIBC levels occurred and 3) an increase in the percentage of transferrin saturation took place, since transferrin production (TIBC) is inhibited when iron is increasingly offered.

Blood transfusion requirements decreased after UPW was implemented. Within the scope of this study long-term clinical importance of decreased inflammatory process in HD



due to UPW implementation is a presumption and still has to be proven through further studies, as recently emphasized by Pontoriero et al (23).

## CONCLUSION

With UPW introduction into patient's treatment regimen chill episodes and CRP levels decreased significantly, pointing to a diminished inflammatory process. Reduced TIBC, increased saturation of transferrin and a stable ferritin occurred. Htc and Hgb also increased and were mirrored in the considerable decrease in the need for blood transfusion.

## REFERENCES

1. Bárány P. Inflammation, serum C-reactive protein, and EPO resistance. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 224- 227.
2. Drüecke T. Hyporesponsiveness to recombinant human erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16 (Suppl 7), 25-28.
3. Lowrie EG. Acute-phase inflammatory process contributes to malnutrition, anemia, and possibly other abnormalities in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998; Suppl 4, S 105-S 112.
4. Stenvinkel P. The role of inflammation in the anaemia of end stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16 (Suppl 7), 36-40.
5. Arici M, Walls J. End-stage-renal-disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality: is C-reactive protein the missing link ? *Kidney Int* 2001; 59, 407-414.
6. Bergström J, Lindholm B. What are the causes and consequences of the chronic inflammatory state in chronic dialysis patients? *Semin Dial* 2000; 13,3,163-164.
7. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A et al. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999; 55, 648-658.
8. Iseki K. Serum CRP and risk of death in chronic dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14,8, 1956-60.
9. Yeun JY, Levine RA, Mantadi LDK. C- reactive protein predicts all cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2000; 35,3, 469- 476.
10. Schouten WE, Grootemann MP, van Haute AJ et al. Effects of dialyser and dialysate on acute phase reaction in clinical bicarbonate dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15, 3, 79-84.
11. Schindler R, Boenisch O, Fischer C, Frei U. Effects of hemodialysis membrane in the inflammatory reaction in vivo. *Clin Nephrol* 2000; 53, 6, 452-459.

12. Pertosa Grandaliano G, Gesualdo L et al. Clinical relevance of cytokine production in hemodialysis. *Kidney Int* 2000; 58, (Suppl 76), S-104- S-111.
13. Sitter T, Bergner A, Schiff H. Dialysate and cytokine induction and response to recombinant human erythropoietin in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15, 8, 1207-1211.
14. Lonemann G. Chronic inflammation in hemodialysis: the role of contaminated dialysate. *Blood Purif* 2000; 18:214-223.
15. Schiff H, Lang SM, Stratakis D. Effects of ultrapure dialysis fluid on nutritional status and inflammatory parameters. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 1863- 1869.
16. Penders C, Kooman JP, Stobberingh EE, van Der Sande FM, Frederick PM, Levnissen KM. Does ultrapure dialysate prevent the development biofilm in dialysis therapy? *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16,7,1522-1524.
17. Capelli G, Ballestri M, Perrone S et al: Biofilms invade Nephrology: Effects in Hemodialysis. *Blood Purif* 2000; 18, 3, 224- 230.
18. ERA- EDTA. European best practice guidelines for management of anaemia in patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14; (Suppl 5), guidelines 6-8.
19. Canaud B, Bosc JY, Leray H, Morena M, Stec F. Microbiologic purity of dialysate: rational and technical aspects. *Blood Purif* 2000;183, 200-214.
20. Goicoechea M, Caramelo C, Rodriguez P et al. Role of type of vascular access in erythropoietin and intravenous iron requirements in haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2188- 2193.
21. Albert MA, Danielson E, Rifai N, et al. Effects of statin therapy on C-reactive protein levels. The pravastatin inflammatory/ CRP elevation (PRINCE): a randomized trial and cohort study. *JAMA* 2001; 286,1, 64- 70.
22. Kaltwasser JP, Gottschalk KR. Erythropoietin and iron. *Kidney Int* 1999; 55, (Suppl 69), S-49- S-56.
23. Pontoriero G, Pozzoni P, Andrulli S, Locatelli F. The quality of dialysis water. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18 , (Suppl 7), S-21-S25.

## **ANEXO G - Trabalhos Apresentados em Congressos e Publicados**

1. de los Santos CA, Antonello ICF, Figueiredo CEP, d'Avila DOL. Diagnóstico diferencial entre deficiência de ferro e padrão inflamatório em diálise: determinação do receptor celular de transferrina solúvel in Jornada Gaúcha de Nefrologia, Gramado, Anais da Sociedade Gaúcha de Nefrologia, 21-21, 2003.
2. de los Santos CA, Antonello ICF, Poli de Figueiredo CE, d'Avila DOL. Reviewing the diagnosis between iron deficiency and inflammatory pattern on dialysis, World Congress of Nephrology XL Congress of EDTA, Berlin, Ge, 2003; Nephrol Dial Transplant, Oxford Un Press, Gbr, 18,4,415, 2003.
3. de los Santos CA, Antonello ICF, Poli de Figueiredo CE. Decodificando o padrão "Anemia de Doença Crônica" em Diálise: deficiência funcional ou bloqueio inflamatório do ferro? in Cruz J Ed, Sarvier Ed (SP) Atualidades em Nefrologia,7, 232-236, 2002.
4. de los Santos CA, Antonello ICF, Poli de Figueiredo CE. Evidências de que o uso de água ultrapura em diálise diminui inflamação. XXI Congresso Brasileiro de Nefrologia, 2002, Brasília, publicado no J Bras Nefrol, SP, SBN Ed (SP), 24, 38-38, 2002.
5. de los Santos CA, Antonello ICF, Poli de Figueiredo CE. Anemia associada a padrão inflamatório em diálise. XXI Congresso Brasileiro de Nefrologia, Brasília, DF, publicado e J Bras Nefrologia, 24, Supl 2, 112-112, 2002.
6. de los Santos CA, Antonello ICF, Poli de Figueiredo CE. Evidences that ultrapure water in dialysis decreases inflammation. XXXIX Congress of EDTA, Copenhagen, 2002, Nephrol Dial Transpl, Oxford Un Press, GBr, 17,1,122-122, 2002.
7. de los Santos CA, Antonello ICF. Anemia associada com padrão inflamatório em diálise. VIII Jornada Gaúcha de Nefrologia, Caxias do Sul, Anais da Jornada, 15, 16, 2001.
8. de los Santos CA, Antonello, Poli de Figueiredo CE. Inflammatory pattern is associated to anaemia on dialysis, 2001, XXXVIII Congress of the European Dialysis & Transplant Association, Viena, Áustria, Annals, 206-206, 2001

9. de los Santos CA, Antonello ICF, Poli de Figueiredo CE. Inflammatory pattern is associated to anaemia on dialysis. *Nephrol Dial Transplant*, Oxford, GBr, 16,6,134-134, 2001.
10. Tettamanzy FM, de los Santos CA. Prevalência do perfil “anemia de doença crônica” em diálise. IX Jornada dos Médicos Residentes da PUCRS, P. Alegre, *Revista Méd. PUCRS*, 10, 4, 368, 2000.