

**FLÁVIO JOSÉ DUTRA DE MOURA**

**EFEITOS DA HEMODIAFILTRAÇÃO (HDF) NA RESPOSTA IMUNITÁRIA  
DE INDIVÍDUOS RENAIIS CRÔNICOS**

Brasília, Distrito Federal

2023

**FLÁVIO JOSÉ DUTRA DE MOURA**

**EFEITOS DA HEMODIAFILTRAÇÃO (HDF) NA RESPOSTA IMUNITÁRIA  
DE INDIVÍDUOS RENAI CRÔNICOS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade de Brasília, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup>. Dra. Selma Aparecida Souza Kückelhaus

Brasília, Distrito Federal

2023

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

MN929e Moura, Flavio  
Efeitos da Hemodiafiltração (HDF) na resposta imune de  
indivíduos renais crônicos / Flavio Moura; orientador Selma  
Kuckelhaus; co-orientador Joel Veiga. -- Brasília, 2023.  
81 p.

Tese(Doutorado em Ciências Médicas) -- Universidade de  
Brasília, 2023.

1. Eritropoiese. 2. Marcadores de metabolismo. 3.  
Marcadores inflamatórios.. 4. Marcadores iônicos. 5.  
Marcadores nutricionais. I. Kuckelhaus, Selma, orient. II.  
Veiga, Joel, co-orient. III. Título.

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**FLÁVIO JOSÉ DUTRA DE MOURA**

### **EFEITOS DA HEMODIAFILTRAÇÃO (HDF) NA RESPOSTA IMUNITÁRIA DE INDIVÍDUOS RENAIIS CRÔNICOS**

Tese aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de doutor no curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina na Universidade de Brasília, pela seguinte banca examinadora

Orientadora: Profa. Dra. Selma Aparecida Souza Kückelhaus  
Universidade de Brasília

Dr. José Carlos de Almeida  
Secretaria de Saúde do Distrito Federal

Dra. Renata Oliveira Soares  
Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde

Profa. Dra. Maria Alice de Vilhena Toledo  
Universidade de Brasília

Prof. Dr. Amilcar Sabino Damazo  
Universidade de Brasília

Brasília, 26 de maio de 2023

## **DEDICATÓRIA**

Ao meu filho Guilherme, meus pais Pedro e Maria, irmã Flávia, sobrinho Thiago e esposa Fabiane que são inspirações e amores eternos.

## **AGRADECIMENTOS**

Obstáculos difíceis de serem superados são os que mais demandam tempo, paciência e persistência. Nenhum obstáculo é impossível de ser vencido. É tudo uma questão de força de vontade (Alex Verly). Somente com a contribuição de muitos coautores foi possível a transformação deste sonho de vida em realidade.

Meus agradecimentos se iniciam a minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Dra. Selma Aparecida Souza Kückelhaus e ao meu coorientador Prof. Dr. Joel Paulo Russomano Veiga que sempre estiveram à frente me conduzindo na longa estrada para lograr o êxito deste momento sempre com sábias palavras e liderança pelo exemplo.

Aos meus colegas e supervisores de docência e aos discentes da Faculdade de Medicina da UnB; direcionando ao Dr. Eduardo Vaz Corrêa agradeço a todos os membros do serviço de nefrologia do HUB que sempre me acolheram ao longo da atividade profissional contribuindo diariamente no meu crescimento e desenvolvimento profissional.

Em agradecimento aos nefrologistas da Nephron Brasília Serviços Médicos: Dr. Enzo Galvão Diniz Torreão Braz e Dr. Raimundo Nonato do Ferro do Lago Filho que estiveram sempre dando apoio a este projeto, estendendo a todo corpo clínico, colaboradores e aos nossos pacientes; bem como aos profissionais do Nupmia-FM/UnB.

A minha esposa Fabiane Amais junto a família que sempre incentivaram para a conclusão deste trabalho.

Ao meu pai Pedro Gonçalves de Moura Filho, minha mãe Maria Dutra de Moura e minha irmã Flavia Maria Dutra de Moura que sempre se doaram ao longo da minha formação acadêmica e profissional sem medir sacrifícios para que alcançássemos juntos este momento. Ao meu sobrinho Thiago Kling de Moura e meu filho Guilherme Gonçalves de Moura frutos de inspiração para transpor todos os obstáculos que a vida nos proporciona, no intuito de vivenciar sempre o melhor que a vida nos apresenta e a todos os familiares que lograram para este momento.

Ao Pai Criador e Nossa Senhora Aparecida que foram e são fontes de sustentação para alimentação da fé presentes a cada instante da nossa existência.

## RESUMO

**Introdução:** A doença renal crônica (DRC) caracteriza-se pelo baixo índice de filtração glomerular, proteinúria, dano tecidual nos rins e tempo de manifestação clínica. Para o diagnóstico considera-se os critérios anatômico/estrutural, funcional e o tempo de manifestação dos sintomas. Uma vez diagnosticado, impõem-se aos portadores da DRC as terapias renais substitutivas como a hemodiálise (HD) e a hemodiafiltração (HDF). A HD remove moléculas de baixo peso molecular, enquanto a HDF depura moléculas pequenas e médias favorecendo a redução do estresse oxidativo, da hospitalização e da mortalidade. **Objetivos:** Esse estudo avaliou a resposta imunológica de indivíduos com a Doença Renal Crônica DRC submetidos à Hemodiálise (HD) e posteriormente convertidos para o método dialítico Hemodiafiltração (HDF). **Material e Métodos:** Trata-se de um estudo transversal descritivo e comparativo, realizado com 25 indivíduos ( $66 \pm 10$  anos) tratados com HD e posteriormente convertidos para HDF (amostra de conveniência). Os parâmetros hematológicos, bioquímicos e imunitários foram analisados em amostras de sangue (células e soro) obtidas dos indivíduos. **Resultados:** as etiologias mais prevalentes da DRC observadas no estudo foram DM tipo II (48%) e HAS (32%), o tempo de médio de HD dos pacientes foi de  $4,7 \pm 4,9$  anos, o tipo de acesso venoso predominantemente foi a fistula arteriovenosa (60%), cateter de longa duração (36%) e prótese de politetrafluoroetileno (4%). O peso seco (PS) médio dos indivíduos ao final da HD foi de  $70,8 \pm 17,1$  Kg, com  $\Delta PS$  de  $0,0 \pm 1,4$  Kg. Houve correlação negativa entre o tempo de HD e as idades. **Células e marcadores séricos:** A HDF reduziu a dose prescrita da eritropoietina (EPO), glicose, Aspartato aminotransferase,  $\beta 2$ -Microglobulina e índice de resistência à EPO, aumentou a fosfatase alcalina e proteína C reativa; a HDF não alterou a Alanina aminotransferase, triglicerídeos, lipoproteínas (baixa e alta densidade), íons ( $HCO_3^-$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $PO_4^{3-}$ ,  $Ca^{2+}$ ), vitamina D, albumina, ferritina e paratormônio. Além disso, a HDF aumentou o hematócrito e a hemoglobina (Hb) nos diabéticos, reduziu a Hb nos hipertensos e não alterou a leucometria, o leucograma, o volume corpuscular médio, a hemoglobina corpuscular média ou a amplitude de distribuição dos eritrócitos nos indivíduos com HAS ou DM-II. **Marcadores imunológicos:** HDF normalizou o índice fagocítico em PMP ou fagocitose mediada por opsonina com 5 ou 20 leveduras/célula ( $C > HD < HDF$ ), bem como normalizou o índice corpuscular estimulado ( $C > HD < HDF$ ), mas aumentou TNF e produção de IL-4, quando comparada à HD. Além disso, HDF normalizou a produção basal de  $O_2^{\bullet-}$ , bem como, normalizou sua produção na ausência de fagocitose, mas quando comparada a HD, HDF aumentou a produção de  $O_2^{\bullet-}$ , na presença ou ausência de ingestão de levedura. **Conclusão:** O conjunto dos resultados indicam que a HDF é segura, viável e eficaz para melhorar os marcadores bioquímicos e inflamatórios dos indivíduos com DRC. Considerando que essa técnica é pouco utilizada no Brasil, sendo restrita aos órgãos privados, sugere-se a continuidade dos estudos para aprimorar os parâmetros técnicos da HDF e assim, promover maior visibilidade e aceitação dos pacientes e da comunidade médica, visando a sua futura implantação no sistema único de saúde país.

**Palavras-chave:** Eritropoiese. Marcadores de metabolismo. Marcadores iônicos. Marcadores nutricionais. Marcadores de toxicidade. Marcadores inflamatórios.

## ABSTRACT

**Introduction:** Chronic kidney disease (CKD) is characterized by low glomerular filtration rate, proteinuria, tissue damage in the kidneys and time of clinical manifestation. For the diagnosis, the anatomical/structural and functional criteria are considered, as well as the time of symptom manifestation. Once diagnosed, DRC patients are required to undergo renal replacement therapies such as hemodialysis (HD) and hemodiafiltration (HDF). HD removes low molecular weight molecules, while HDH purifies small and large molecules, favoring a reduction in oxidative stress, hospitalization, and mortality. **Objectives:** This study evaluated the immune response of individuals with Chronic Kidney Disease CKD undergoing Hemodialysis (HD) and subsequently converted to the dialytic method Hemodiafiltration (HDF). **Material and Methods:** This was a descriptive and comparative cross-sectional study conducted with 25 individuals ( $66\pm 10$  years) treated with HD and subsequently converted to HDF (convenience sample). Hematological, biochemical and immune parameters were analyzed in blood samples (cells and serum) obtained from the individuals. **Results:** the most prevalent etiologies of CKD observed in the study were type II DM (48%) and SAH (32%), the average HD time of patients was  $4.7\pm 4.9$  years, the type of venous access was predominantly arteriovenous fistula (60%), long-term catheter (36%) and polytetrafluoroethylene prosthesis (4%). The average dry weight (DP) of the individuals at the end of the HD was  $70.8\pm 17.1$  Kg, with  $\Delta PS$  of  $0.0\pm 1.4$  Kg. There was a negative correlation between HD time and ages. **Cells and serum markers:** HDF reduced the prescribed dose of erythropoietin (EPO), glucose, Aspartate aminotransferase,  $\beta 2$ -Microglobulin and EPO resistance index, increased alkaline phosphatase and C-reactive protein; HDF did not alter alanine aminotransferase, triglycerides, lipoproteins (low and high density), ions ( $HCO_3^-$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $PO_4^{3-}$ ,  $Ca^{2+}$ ), vitamin D, albumin, ferritin, and parathormone. Furthermore, HDF increased hematocrit and hemoglobin (Hb) in diabetics, reduced Hb in hypertensives, and did not alter WBC, WBC, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, or red cell distribution amplitude in subjects with SAH or DM-II. **Immunological markers:** HDF normalized the phagocytic index in PMP or opsonin-mediated phagocytosis with 5 or 20 yeast/cell ( $C > HD < HDF$ ), as well as normalized the stimulated corpuscular index ( $C > HD < HDF$ ), but increased TNF and IL-4 production compared to HD. Furthermore, HDF normalized basal  $O_2^{\bullet -}$  production, as well as normalized its production in the absence of phagocytosis, but when compared to HD, HDF increased  $O_2^{\bullet -}$  production, in the presence or absence of yeast ingestion. **Conclusion:** The set of results indicates that the HDF is safe, feasible and effective to improve the biochemical and inflammatory markers of individuals with CKD. Considering that this technique is little used in Brazil, being restricted to private organizations, it is suggested the continuity of studies to improve the technical parameters of HDF and thus promote greater visibility and acceptance of patients and the medical community, aiming its future deployment in the single health system country.

**Keywords:** Erythropoiesis. Metabolism markers. Ionic markers. Nutritional markers. Toxicity markers. Inflammatory markers



## SUMÁRIO

-	<b>RESUMO</b>	vii
-	<b>ABSTRACT</b>	viii
1.	<b>INTRODUÇÃO</b>	1
1.1.	Doença Renal Crônica (DRC)	2
1.2.	Tratamentos para a DRC	3
1.2.1.	Diálise Peritoneal (DP)	4
1.2.2.	Hemodiálise (HD)	5
1.2.3.	Hemodiafiltração (HDF)	6
1.3.	Resposta inflamatória na DRC	8
1.4.	Justificativa do estudo	13
2.	<b>OBJETIVOS</b>	14
2.1.	Objetivo geral	15
2.2.	Objetivos específicos	15
3.	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	16
3.1.	Delineamento experimental	17
3.2.	Tipo de estudo	18
3.3.	Indivíduos e normas éticas	18
3.4.	Critérios de inclusão e exclusão	18
3.5.	Parâmetros de tratamento dialítico	19
3.6.	Grupos de estudo	19
3.7.	Indivíduos e coletas de dados	19
3.8.	Obtenção do perfil epidemiológico dos indivíduos	20
3.9.	Obtenção das amostras	21
3.10.	Determinação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos	21
3.11.	Avaliação da função fagocitária	21
3.12.	Avaliação da produção de radical superóxido	22
3.13.	Determinação dos corpúsculos lipídicos	23
3.14.	Quantificação das citocinas	23
3.15.	Análise estatística	24
4.	<b>RESULTADOS</b>	25
4.1.	Perfil epidemiológico	26
4.2.	Avaliação dos parâmetros hematológicos	28
4.2.1.	Eritrócitos	28
4.2.2.	Leucócitos e plaquetas	30

4.2.3.	Eritropoetina	32
4.3.	Avaliação dos marcadores do metabolismo	33
4.4.	Avaliação dos marcadores iônicos e nutricionais	33
4.5.	Avaliação dos marcadores de toxicidade	34
4.6.	Avaliação dos marcadores inflamatórios	34
4.7.	Avaliação da capacidade fagocitária dos monócitos	35
4.8.	Avaliação da produção de radical superóxido por monócitos	37
4.9.	Quantificação dos corpúsculos lipídicos em monócitos/macrófagos	38
4.10.	Quantificação das citocinas	40
4.11.	Sumário dos resultados	43
<b>5.</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	44
5.1.	Considerações sobre os indivíduos	45
5.2.	Considerações sobre os parâmetros hematológicos	46
5.3.	Considerações sobre os parâmetros bioquímicos e inflamatórios	47
5.4.	Considerações sobre a função fagocitária	50
5.5.	Considerações sobre a produção do radical superóxido	51
5.6.	Considerações sobre a produção de corpúsculos lipídicos	51
5.7.	Considerações sobre a produção de citocinas e efeitos inflamatórios na HDF	51
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	53
<b>7.</b>	<b>LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS</b>	56
<b>8.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	69
<b>9.</b>	<b>ANEXOS</b>	70
9.1.	Parecer do comitê de ética	71
9.2.	Fluxograma do estudo clínico	72
9.3.	Comprovante da publicação	73

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

<b>Figura 1</b>	Representação do processo de difusão pela diálise peritoneal	4
<b>Figura 2</b>	Representação esquemática dos métodos dialíticos	5
<b>Figura 3</b>	Esquema de purificação do preparo do dialisado	7
<b>Figura 4</b>	Esquema do papel das citocinas	11
<b>Figura 5</b>	Esquema da barreira intestinal na DRC	12
<b>Figura 6</b>	Fluxograma experimental do estudo	17
<b>Figura 7</b>	Avaliação dos parâmetros hematológicos dos eritrócitos	28
<b>Figura 8</b>	Avaliação dos parâmetros hematológicos na DM ou HAS	29
<b>Figura 9</b>	Avaliação quantitativa dos leucócitos e plaquetas	30
<b>Figura 10</b>	Avaliação quantitativa dos leucócitos e plaquetas	31
<b>Figura 11</b>	Avaliação quantitativa da EPO, ferritina, ER/EPO e IS/ferritina	32
<b>Figura 12</b>	Quantificação dos marcadores do metabolismo	33
<b>Figura 13</b>	Quantificação dos marcadores iônicos e nutricionais	33
<b>Figura 14</b>	Quantificação dos marcadores de toxicidade	34
<b>Figura 15</b>	Quantificação dos marcadores inflamatórios	35
<b>Figura 16</b>	Fagocitose de leveduras mediada por PMP ou opsoninas	36
<b>Figura 17</b>	Fotomicrografias de fagócitos submetidos ao método de redução do NBT	37
<b>Figura 18</b>	Percentual de células que reduziram o NBT	39
<b>Figura 19</b>	Produção de citocinas – múltiplas comparações	41
<b>Figura 20</b>	Produção de citocinas – análise pareada	42
<b>Tabela 1</b>	Definição dos estágios de DRC	2
<b>Tabela 2</b>	Tipos de citocina, origem e suas funções no sistema imunológico	10
<b>Tabela 3</b>	Perfil epidemiológico dos indivíduos do sexo feminino	27
<b>Tabela 4</b>	Perfil epidemiológico dos indivíduos do sexo masculino	27
<b>Tabela 5</b>	Produção de corpúsculos lipídicos por monócitos/macrófagos	40
<b>Tabela 6</b>	Resumo dos resultados do estudo	43

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

APC	Célula apresentadora de antígeno
BCR	Receptor de célula B
CLP	Cateter de longa permanência
CVC	Cateter venoso central
DC	Célula dendrítica
dL	Decilitro
DM	Diabetes Mellitus
DP	Diálise peritoneal
DRC	Doença renal crônica
EPO	Eritropoietina
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FAL	Fosfatase alcalina
FAV	Fístula arteriovenosa
FBS	Fluxo de bomba de sangue
FDA	<i>US Food and Drug Administration</i>
FNT	Fator de necrose tumoral
GLDH	Glutamato desidrogenase
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HCM	Hematócrito corpuscular médio
HD	Hemodiálise
HDF	Hemodiafiltração
IF	Índice fagocitário
IL	Interleucina
INF	Interferon
IRC	Insuficiência renal crônica
KDOQI	<i>Kidney disease outcome quality initiative</i>
m <sup>2</sup>	Metro quadrado
mL	Mililitro
NBT	Azul de nitrotetrazólio
NK	<i>Natural Killer</i> (linfócito citotóxico da imunidade inata)
PCR	Proteína C-Reativa
PNAD	Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios
PNS	Pesquisa Nacional de Saúde
PTH	Paratormônio

---

RDW	<i>Red cell distribution width</i> (amplitude de distribuição dos eritrócitos)
RNA	Ácido ribonucleico
TCR	Receptor de célula T
TFG	Taxa de filtração glomerular
TGF	<i>Transforming growth factor</i> (fator de transformação do crescimento)
TGO	Transaminase glutâmica oxalacética
TGP	Transaminase glutâmica pirúvica
TLR	<i>Toll-like receptor</i>
TRS	Terapias renais substitutivas
UFC	Unidade formadora de colônia
VCM	Volume de hematócrito corpuscular médio

---

## 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Doença Renal Crônica (DRC)

A função renal é primordial para o homem, visto que é nesse órgão que há a depuração dos subprodutos do metabolismo celular até serem eliminados na urina. A lenta e progressiva perda da função dos rins (insuficiência renal crônica - IRC) de forma permanente e irreversível é caracterizada como doença renal crônica (DRC). A DRC está associada a altos índices de mortalidade, tornando-se um desafio para os sistemas de saúde públicos e privados mundial (Aguiar et al. 2020).

No Brasil, até a implantação da Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) em 2013, as informações referentes a epidemiologia das doenças crônicas não transmissíveis eram obtidas apenas por meio da Pesquisa Nacional por Amostras de Domicílios (PNAD) (Aguiar et al. 2020). No caso da DRC, os dados obtidos da PNS revelam que 1,42% da população se autodeclarou portadora da doença, o que representa aproximadamente dois milhões de indivíduos no país (Cherchilglia et al. 2010). Segundo uma diretriz publicada pela Kidney Disease Outcome Quality Initiative (KDOQI) em 2002 e adotada mundialmente, a DRC deve ser diagnosticada com base em três princípios: 1) anatômico ou estrutural (marcadores de dano renal), 2) funcional (taxa de filtração glomerular - TFG) e 3) temporal (tempo mínimo de observação dos sintomas nos pacientes).

De acordo com Bastos e Kirsztajn (2011) e baseando-se na diretriz da KDOQI de 2002, um paciente se enquadraria no diagnóstico clínico de DRC caso apresentasse TFG menor do que 60 mL/min/1,73m<sup>2</sup> ou maior do que 60 mL/min/1,73m<sup>2</sup>, desde que associado a um marcador de dano renal parenquimatoso, como por exemplo, a proteinúria. Em acréscimo, esses sintomas devem estar presentes por no mínimo 3 meses.

Tendo em vista os valores referenciais de TFGs, na presença ou não de marcadores de dano renal, como a proteinúria, categorizou-se 5 (cinco) estágios de DRC, conforme a tabela 1.

**Tabela 1.** Definição dos estágios de DRC (Adaptada de Bastos e Kirsztajn 2011).

Estágios da DRC	TFG (mL/min/1,73m)	Proteinúria
1	≥90	Presente
2	60-89	Presente
3	30-59	Presente ou Ausente
4	15-29	Presente ou Ausente
5	<15	Presente ou Ausente

## 1.2. Tratamentos para a DRC

Segundo Bastos e Kirsztajn (2011), os três pilares fundamentais para os cuidados com os pacientes com DRC são o diagnóstico precoce da doença, o encaminhamento tempestivo para tratamento com médico especialista e a implementação de medidas para preservação da função renal.

Como os estágios iniciais da DRC são em sobremaneira assintomáticos, Aguiar et al. (2020) trouxeram à tona a importância da correlação da doença com fatores socioeconômicos, como a renda, a escolaridade e o tratamento via plano de saúde. Um paciente que possua maior instrução escolar, aliada à renda superior que permita acesso ao sistema privado de saúde pode receber diagnóstico precoce da doença, evitando assim que ela atinja os seus níveis mais graves. Dessa forma, a proatividade do indivíduo ao buscar exames de rotina sem sintomas aparentes, aliada a facilidade de acesso a exames e consultas, levam a esse possível diagnóstico precoce.

Na prática clínica, a avaliação da TFG do indivíduo ainda é a melhor maneira de iniciar uma investigação para DRC. Os principais marcadores laboratoriais utilizados para o diagnóstico precoce da doença são níveis de creatinina sérica (Bastos e Bastos 2005) e a proteinúria (Ruggenti et al. 1998), bem como indicadores de hipercalemia, hipocalcemia, hiperfosfatemia, acidose metabólica, anemia e distúrbios no sódio sérico (Bastos e Kirsztajn 2011).

Tendo seu diagnóstico confirmado, é fundamental que o paciente seja encaminhado ao médico nefrologista, o que constitui o segundo pilar dos cuidados ao indivíduo com DRC. O especialista poderá avaliar o estágio da doença e com isso, indicar medidas terapêuticas que possam preservar as funções renais ainda não comprometidas, bem como tratar dos efeitos e reações já apresentados pelo paciente, melhorando sua qualidade de vida.

Aos casos mais agudos da doença impõem-se as terapias renais substitutivas (TRS) (Fernandes et al. 2010), isso decorre geralmente do diagnóstico tardio da DRC, bem como de situações clínicas de pericardite urêmica com sobrecarga de volume não responsiva ao uso de diuréticos, e cuja evolução natural é o óbito. As três principais TRS utilizadas no tratamento de doentes renais crônicos são a diálise peritoneal, HD e a HDF.

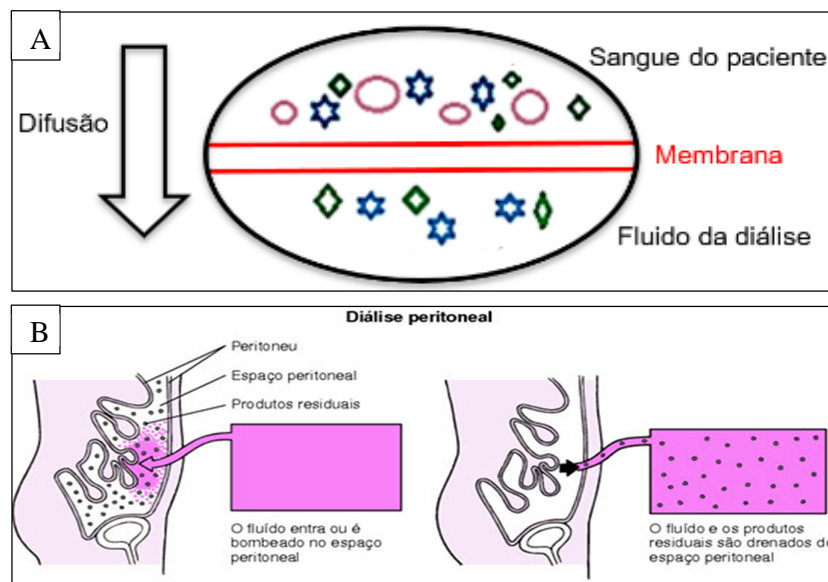


### 1.2.1. Diálise Peritoneal (DP)

Em 1923 foi registrado o primeiro caso de tratamento de DRC por DP, que ocorreu na Universidade de Wurzburg (Teschner et al. 2004). Desde então, estima-se em média que 10 a 15% dos pacientes portadores de DRC no mundo utilizem este método para seu tratamento (Oreopoulos et al. 2008). Este dado, no entanto, pode variar significativamente a depender do país analisado. A DP pode ser realizada na própria residência do paciente, sendo também uma técnica de baixo custo (Oreopoulos et al. 2008).

A DP se baseia no princípio da difusão e osmose (passagem de moléculas num soluto de uma maior para menor concentração) para a separação dos solutos do sangue para a solução de diálise peritoneal, conforme ilustrado na Figura 1A. O sangue a ser filtrado é separado da solução de diálise peritoneal por uma membrana biológica, o peritônio, uma estrutura altamente vascularizada que reveste toda a cavidade abdominal.

A DP consolidou-se, portanto, desde o início do século XX, como uma técnica de baixo custo e risco médio abaixo para o paciente, podendo melhorar sobremaneira a qualidade de vida e as condições do portador de DRC. Um esquema mais detalhado de como funciona a DP pode ser visualizado na Figura 1B.



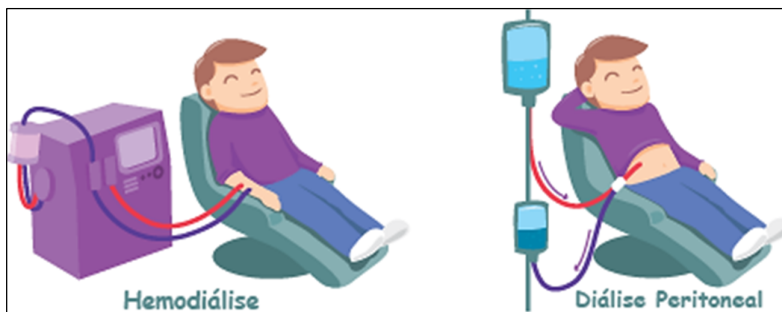
**Figura 1.** Representação esquemática do processo de difusão pela Diálise Peritoneal. (A) elaborado pelo autor; (B) Fonte: <https://www.sbn.org.br/orientacoes-e-tratamentos/tratamentos/dialise-peritoneal/> em 01 de dezembro de 2020.

Para a realização da DP é necessário que seja implantado um cateter permanente na cavidade abdominal do paciente para infusão e drenagem e da solução peritoneal. Segundo Mendes et al. (2017), este método pode ser bastante útil e eficiente para tratamento inicial ou urgente de pacientes recém diagnosticados e que precisem de intervenção imediata. Como estes pacientes ainda não possuem Cateter Venoso Central (CVC), ou Fístula Arteriovenosa (FAV), a DP pode ser um método indicado, justamente pelo acesso mais simples. Entretanto, apesar dos pontos positivos, esta técnica não tem sido a primeira escolha de TRS dos pacientes pelos nefrologistas. Alguns pontos que os fazem preferir a técnica seriam: riscos de infecções abdominais (peritonite) e uma baixa depuração dos solutos de menor peso molecular na diálise, seja em pacientes com função renal mais comprometida ou aqueles de maior peso ou tamanho (Chaudary et al. 2011).

### 1.2.2. Hemodiálise (HD)

A primeira HD foi realizada em um cão por Abel, Rowntree e Turner em 1913 (Hampers & Schupak 1970). Mais de três décadas depois, o procedimento foi realizado em uma mulher que sobreviveu por mais 7 anos (Drukker 1989). No Brasil, dados estimados do Censo da SBN de 2022 mostram que 153.831 pacientes estavam em tratamento de HD. Este número pode ser ainda maior, visto que apenas 27,9% dos centros de diálise responderam ao questionário utilizado como base para a pesquisa.

Baseado no princípio da difusão mostrado na figura 1, porém com o uso de membranas sintéticas, a TRS mais aplicada mundialmente aos pacientes com DRC é a HD (Chaudary et al. 2011); ambos os métodos partilham os mesmos princípios básicos gerais.



**Figura 2.** Representação dos métodos dialíticos, HD (esquerda) e DP (direita). Fonte: <https://www.medicodosrins.com.br/preparacao-para-dialise/> em 01 de dezembro de 2020.

A técnica da HD consiste na passagem do sangue e da solução dialítica em fluxo por um dialisador. Ambos os fluxos são separados por uma membrana sintética semipermeável (capilares), que permite a depuração das toxinas e da água em excesso do organismo. Dessa forma, as moléculas de baixo peso molecular passam para a solução dialítica, enquanto as maiores (como elementos figurados do sangue, por exemplo) são retidas pela membrana, permanecendo no sangue. Segundo Maduell et al. (2013), o uso de membranas mais permeáveis (membranas de alto fluxo) seria uma alternativa para a filtração de moléculas de maior peso molecular.

Não há um consenso na literatura que justifique a preferência pela HD no tratamento dos pacientes com DRC. No entanto, um estudo brasileiro sugere que a escolha pela HD não é randômica, sendo influenciada inclusive por fatores econômicos como maior reembolso do tratamento, grande participação do sistema privado (que também atua em conjunto com o SUS) no fornecimento de equipamentos e insumos para HD e alocação de recursos dos governos estaduais (Andrade et al. 2010). Este mesmo estudo mostra que no Brasil, por exemplo, diferentemente do que é adotado em outros países, a HD é indicada como tratamento inicial inclusive nos pacientes mais jovens, fato que provavelmente está relacionado à exclusividade de disponibilização deste tratamento pelo SUS.

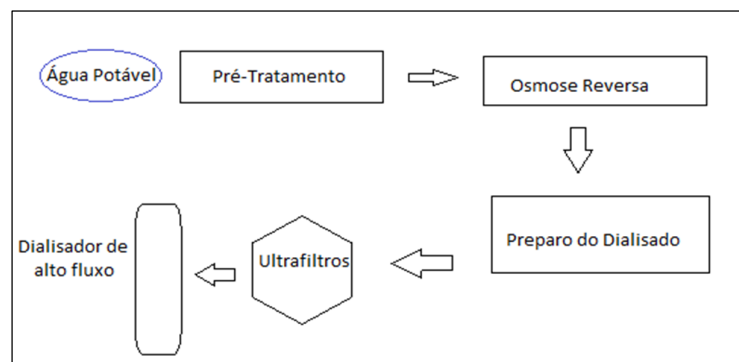
Outro ponto fortemente levantado na literatura é o índice de mortalidade e infecções nos pacientes submetidos à HD, que pode variar de 15 a 25% quando comparado à população normal (Maduell et al. 2011, Rayner et al. 2004; Nordio et al. 2012). As principais causas de mortalidade nos pacientes submetidos à HD são as doenças cardiovasculares (Jirka et al. 2006), seguidas das doenças infecciosas. De fato, grande parte das internações dos indivíduos em tratamento por HD é decorrente de infecções relacionadas, por exemplo, ao acesso venoso (Khan & Catto 1993) ou a outras complicações demonstradas pelas alterações significativas nos marcadores de resposta inflamatória dos pacientes (Carracedo et al. 2006; Maduell et al. 1999; Varella & Forte 2001; Pecoits-Filho 2020).

### **1.2.3. Hemodiafiltração (HDF)**

Uma nova TRS atualmente estudada e aplicada especialmente na Europa e Canadá, mas ainda fase de regulação para uso clínico nos Estados Unidos, é a

HDF (Ward et al. 2018). Essa técnica foi estabelecida nos anos 80 visando a solucionar a limitação da depuração de moléculas de médio peso molecular e com baixo fluxo da HD (Canaud et al. 2018). Na HD, a remoção dos solutos ocorre pelo princípio da difusão, e como o coeficiente de difusão cai rapidamente com o aumento do peso molecular, a depuração de toxinas com maior peso molecular é bem modesta. Na HDF, com os princípios da difusão e da convecção combinados no mesmo aparelho de alto fluxo, há uma depuração tanto de pequenas moléculas (como ocorre na HD) como de moléculas maiores, por meio da hemofiltração. Por isso o nome da técnica foi definido como HDF, ou seja, uma junção da HD e hemofiltração.

Tal como nas máquinas de diálise, as máquinas de HDF possuem um módulo de preparo de dialisado a partir da água de diálise e concentrados. Este dialisado, por sua vez, passa por um processo capaz de produzir um fluido de substituição estéril e não pirogênico para infusão imediata no sangue. As máquinas de HDF mais modernas utilizam uma série de ultrafiltros para esta finalidade, como esquematizado na Figura 3.



**Figura 3.** Representação esquemática da cascata de purificação do preparo do dialisado e do fluido de substituição na HDF, por osmose reversa e ultrafiltros esterilizadores. O dialisador de alto fluxo possui membranas polissulfonas que adsorvem endotoxinas e promove maior segurança microbiológica da técnica (Adaptado de Canaud et al. 2018).

A depender do volume do fluido de substituição usado na HDF e no seu modo de preparo, é possível subdividir a técnica em 3 categorias: HDF de baixo, médio e alto volume (Ward et al. 2018). Na HDF de baixo volume, o volume de convecção (volume total de fluido filtrado durante o tratamento, que inclui tanto o fluido de substituição quanto o excesso de fluido removido para retornar ao

paciente) é de no máximo 12 L. Nos tipos de médio e alto volume, pode-se obter um volume de convecção de até 25 L, por exemplo (Martins et al. 2009). Na HDF, portanto, a utilização do princípio de convecção aumenta significativamente o volume de água filtrado comparado ao da HD, sendo que no processo as moléculas maiores são removidas por arrastamento através da membrana de alto fluxo.

A HDF não é utilizada no Sistema Único de Saúde do Brasil, mas diversos estudos comparam esse método com a HD, evidenciando diversas alterações benéficas aos pacientes submetidos a HDF. Dentre os benefícios destacam-se melhorias nos parâmetros hematológicos, bioquímicos e na resposta imunológica, além da própria percepção individual do paciente de melhoras em seu estado geral (Pecoits-Filho et al. 2020; Klouche et al. 2017; Maduell et al. 2013; Maduell et al. 1999; Carracedo et al. 2006; Canaud et al. 2006). Dessa forma, apesar de não estar disponível na rede pública de atendimento brasileira, diversas clínicas e hospitais particulares no país tem utilizado a técnica embasados nas pesquisas e dados consistentes em favor da HDF.

### **1.3. Resposta inflamatória na DRC**

Não obstante os estudos comparativos ressaltarem os benefícios da HDF, a resposta inflamatória dos indivíduos com DRC e submetidos a HDF ainda é desconhecido. Sabe-se que o sistema imunológico combina as células, moléculas e mecanismos que, de forma interativa, atuam de maneira eficaz no combate a patógenos, tumores e fatores externos que levam à perda da homeostasia. Em geral, a resposta imunitária ocorre de forma inata que não demanda o reconhecimento antigênico e, posteriormente, a adaptativa e específica (Catron et al. 2004, Barbuto et al. 2009, Cruvinel et al. 2010).

O processo inflamatório decorre de algum tipo de lesão celular ou tecidual, sendo mediado por várias substâncias que criam uma cascata de comunicação envolvendo as células lesadas e o sistema imune. Na DRC, o agravamento da inflamação resulta em uma perda da sensibilidade do próprio tecido, que é identificado como antigênico. Dessa forma, se instala uma degradação tecidual mais significativa, levando a perda de função dos néfrons e ao consequente agravamento da patologia (Vianna et al. 2011).

É consenso na literatura que a DRC altera os níveis de diversos marcadores imunológicos, especialmente fatores pró-inflamatórios, levando à piora do estado geral dos pacientes com maiores níveis de internação, surgimento de comorbidades associadas (problemas cardíacos, diabetes, infecções decorrentes dos tratamentos) e óbito (Jirka et al. 2006; Carracedo et al. 2006; Sayed-Ahmed e Naraymanan, 2019; Guzzi et al. 2019; Nongnuch et al. 2020). De forma sistêmica, a baixa depuração de toxinas, associada a disfunções na produção de eritropoietina (EPO) e nutrição inadequada agravam os processos inflamatórios no indivíduo e com isso, perpetuando a condição de desregulação do sistema imunológico dos indivíduos com DRC (Carracedo et al. 2006; Nordio et al. 2012, Sayed-Ahmed e Naraymanan, 2019).

A DRC promove o recrutamento de diversos mecanismos de defesa mediados por receptores de células específicas, como DC (Syed-Ahmed e Narayanan, 2019; Joffre et al. 2009), neutrófilos (Syed-Ahmed e Narayanan, 2019; Liew e Kubes, 2019), macrófagos, monócitos e células NK (Syed-Ahmed e Narayanan, 2019). Em acréscimo, observa-se alterações em vários marcadores inflamatórios como o aumento dos níveis de lectina ligada a manose (Satomura et al. 2001), aumento dos níveis de receptores *scavenger*, responsáveis pela ativação de monócitos (Ando et al. 1997) e diminuição dos níveis de expressão do receptor TL-4 (Ando et al. 2006). Os receptores TLR são fundamentais nos processos inflamatórios, promovendo a fagocitose e conseqüentemente o aumento da produção de citocinas, ativação do complemento e maturação das células dendríticas, responsáveis pela ativação dos linfócitos T (Syed-Ahmed e Narayanan, 2019; Joffre et al. 2009; Ando et al. 2006). Além disso, observam-se a redução do número de LT circulantes, seja pela baixa proliferação dos mesmos, seja pelo aumento da suscetibilidade ou da indução dos mecanismos de apoptose celular, afetando-se com isso a produção de uma série de citocinas, como IL-10, IL-6 e TNF- $\alpha$  (Syed-Ahmed e Narayanan, 2019; Stenvinkel et al. 2005).

Stenvinkel et al. (2005) mostraram o papel inflamatório da TNF- $\alpha$ , IL-6 e anti-inflamatório da IL-10, enquanto o aumento da produção de IL-6 e TNF- $\alpha$  nos processos inflamatórios da DRC foi reportado por outros autores (Carracedo et al. 2006; Klouche et al. 2017; Maduell et al. 1999; Varella e Forte 2001). A tabela 2 e

figura 4 mostram a variedade de citocinas responsáveis por mediar as respostas inflamatórias, em especial na DRC.

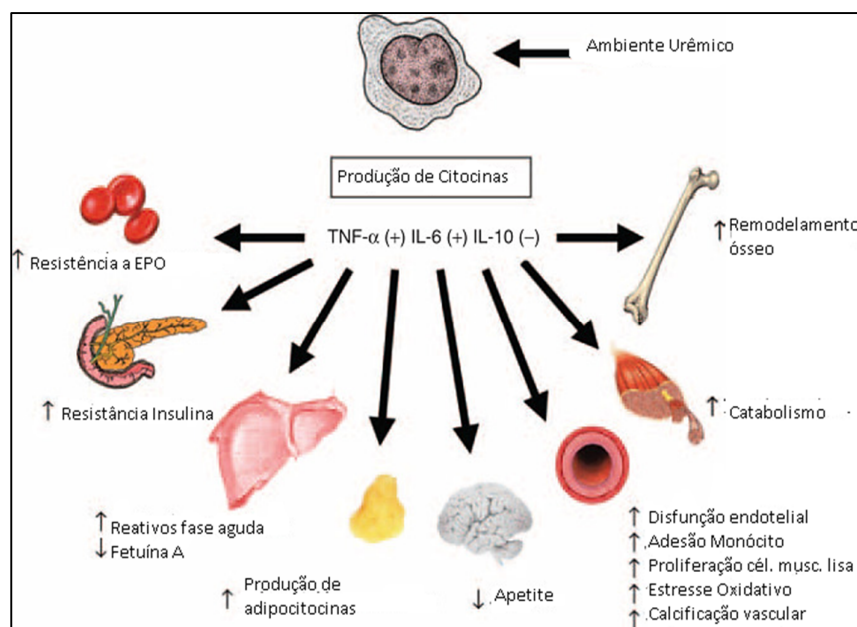
**Tabela 2.** Tipos de citocinas, origem e respectivas funções no sistema imunitário (Adaptada de Barbuto et al. 2009).

Citocinas	Origem	Funções
IL-1	Macrófagos, fibroblastos	Aumenta LT e LB, induz moléculas de adesão (neutrófilo, endotélio) e proteínas de fase aguda. Liberação de IL-6 e GM-CSF,
IL-2	LT	Aumento de LT e LB ativados, ativa células NK
IL-3	LT, Mastócitos	Aumento e diferenciação das células hematopoéticas
IL-4	LTCD4+, mastócitos	Proliferação de LB ativados, switch para IgE, suprime LTh1
IL-5	LTCD4+, mastócitos	Aumento LB, eosinófilos, produção de IgM e IgA, receptor para IL-2
IL-6	LTCD4+, mastócitos	Induz proteínas de fase aguda, aumento e diferenciação de LB e LT
IL-7	Medula óssea	Proliferação de células pré-B e T imaturas
IL-8	Monócitos	Estimula a quimiotaxia e ativação de neutrófilos
IL-9	LT	Induz aumento e proliferação de LT, estimula mastócitos
IL-10	LTCD4+, LB, mastócitos	Inibe secreção de IFN- $\gamma$ , funções de macrófagos. Anti inflamatória.
IL-11	Medula óssea	Indução de proteínas de fase aguda
IL-12	Monócitos, macrófagos	Induz a diferenciação de linfócitos Th1, ativa células NK
IL-13	LT	Inibe inflamação por fagócitos mononucleares
IL-16	LT, mastócitos	Quimiotaxia LT CD4+, monócitos e eosinófilos
IL-17	LT	Ativa Mac, fibroblastos, induz IL-6, IL-8, IL-11, G-CSF, prostagl. e ON
IL-18	MEE, fig. pulmão, rim,	Induz produção de IFN- $\gamma$
IL-21	LT ativados	Induz a proliferação de células T e B e ativa células NK
IL-22	LT e mastócitos	Induz respostas de fase aguda
IL-23	Céls. dendríticas	Proliferação e manutenção de células Th17
IL-25	LTCD4 de memória	Induz a produção de IL-4, IL-5, IL-13 e eotaxina
IL-26	LT ativadas/herpesvírus	Induz IL-10 e IL-8 e expressão de CD54 por células epiteliais
IL-27	Céls. apres. antígenos	Regula LT e LB, estimula a produção de IFN- $\gamma$
IL-28, IL-29	Céls. mononucleares	Induzem resposta antiviral
IL-30, L-31	LTh2	Associadas a processos inflamatórios da pele
IL-33	Musc. liso, Ep. brônquico	Estimula Th2 a produzir citocinas
IL-34	Baço, pele, cérebro	Proliferação de monócitos
IFN- $\alpha$	Leucócitos, fibroblastos	Ação antiviral e inflamatória, favorece expressão de MHC classe I
IFN- $\beta$	Leucócitos, fibroblastos	Ação antiviral, favorece expressão de MHC classe II
IFN- $\gamma$	LT	Ativa macrófagos, induz expressão de MHC I e II, antagonista IL-4
TNF- $\alpha$	Macrófagos, LT	Toxicidade tumoral, choque tóxico, prot. fase aguda, ativa fagócitos

As terapias dialíticas, difusiva e convectiva, podem ter diferentes efeitos sobre o estado inflamatório. De modo especial, na doença renal em estágio terminal, ocorre aumento da concentração sistêmica tanto de citocinas pró, quanto anti-inflamatórias, devido a maior produção que decorre dos processos

inflamatórios descritos previamente e decorrente da baixa taxa de depuração desses solutos pelos rins (Stenvinkel et al. 2005, Carracedo et al. 2006; Klouche et al. 2017).

Um marcador plasmático bastante utilizado para diagnóstico e predição de inflamação sistêmica, do risco cardiovascular e de mortalidade é a proteína C reativa (PCR) (Heidari 2013). Dados na literatura sugerem que este marcador, em pacientes que são submetidos a HDF, é significativamente reduzido (Vilar et al. 2009; Vaslaki et al. 2006; Filipoulos et al. 2008). Outros marcadores que são significativamente melhorados em pacientes submetidos a HDF são instabilidade hemodinâmica durante o procedimento, resposta dos agentes estimuladores da EPO, marcadores da inflamação crônica e de depósito de substância amilóide (Carracedo et al. 2006; Vilar et al. 2009; Jirka et al. 2006; Canaud et al. 2018).

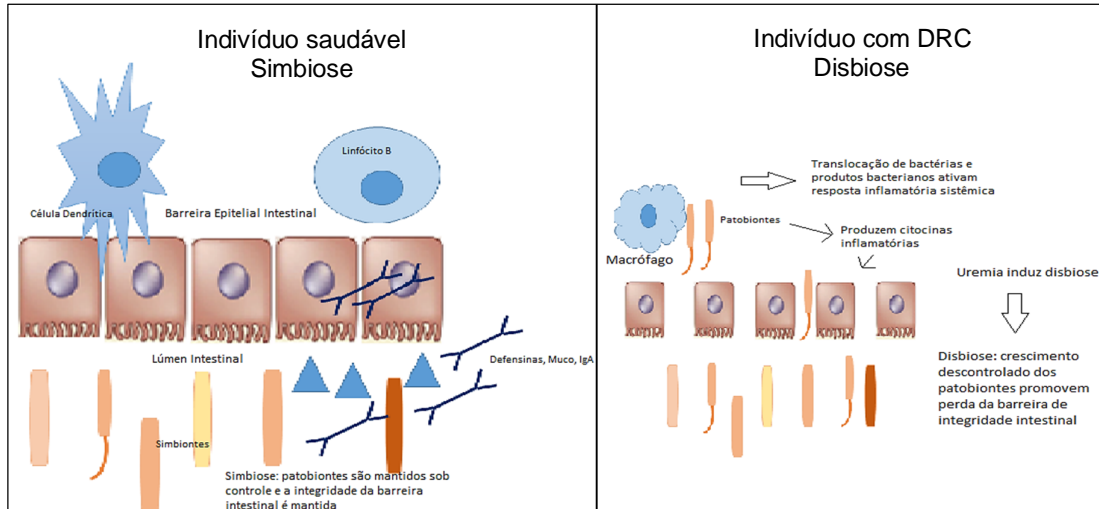


**Figura 4.** Representação esquemática do papel das citocinas TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10 em condições de uremia (Adaptado de Stenvinkel et al. 2005).

Além das alterações observadas no sistema imunitário dos indivíduos com DRC, outros aspectos da disfunção renal podem implicar no desequilíbrio da resposta imunitária, como por exemplo as alterações na microbiota intestinal (Syed-Ahmed & Narayanan 2019). Em condições de uremia, há uma indução da disbiose, ou seja, crescimento exagerado de microrganismos da microbiota intestinal com potencial patogênico em detrimento aos microrganismos regulares; aliado a isso,



ocorre a perda da barreira intestinal, causando a translocação dos microrganismos com consequente ativação da resposta inflamatória (Figura 5).



**Figura 5.** Ilustração esquemática da barreira intestinal de um indivíduo saudável (esquerda) e com DRC (direita). Adaptado de Ayed-Ahmed e Narayanan (2019).

Associado à inflamação, o estresse oxidativo é muito prevalente em pacientes com DRC. O estresse oxidativo é um mecanismo da injúria renal não específica e da falência renal progressiva, podendo estar relacionado às altas taxas de mortalidade e doença cardiovascular (Locatelli et al. 2011). O estresse oxidativo observado na DRC pode ser tanto causa quanto consequência do processo inflamatório e resulta na alteração na expressão de citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão celular (Syed-Ahmed & Narayanan 2019; Marks et al. 2018; Klouche et al. 2017). Além de afetar os níveis séricos de marcadores inflamatórios, o estresse oxidativo promove um aumento na produção de toxinas urêmicas como, os produtos da glicação avançada (AGEs) que indicam risco cardiovascular aumentado (França et al. 2017), os produtos da peroxidação lipídica e do metabolismo de nucleotídeos e proteínas (Morena et al. 2002).

O estresse oxidativo e a inflamação são eventos cruciais para a defesa do organismo nas infecções, mas como estão desregulados na DRC, acarretam inúmeros efeitos deletérios. Como um *loop*, o aumento das moléculas e toxinas urêmicas não depuradas em indivíduos com DRC, mas que permanecem retidas no organismo, causa o estresse oxidativo que ativa a produção de mais toxinas e citocinas (Syed-Ahmed & Narayanan 2019; Klouche et al 2017). Em acréscimo,

Morena et al. (2002) reportaram que os sistemas antioxidantes do indivíduo com DRC são extremamente prejudicados, piorando progressivamente com a evolução dos estágios da doença. Apesar desses achados, o desequilíbrio entre os mecanismos antioxidantes e a produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio (EROs), espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e compostos clorados não são conhecidos nos indivíduos com DRC.

Outro marcador metabólico da DRC que afeta indiretamente o funcionamento do sistema imunológico é o hormônio eritropoietina (EPO), que é uma glicoproteína secretada pelo rim em resposta à hipóxia celular e é responsável por estimular a produção de hemácias na medula óssea. Em pacientes com DRC e IR os níveis deste hormônio são extremamente baixos, sendo necessária complementação hormonal exógena (Syed-Ahmed & Narayanan 2019). O processo inflamatório crônico mediado por diversas citocinas pró-inflamatórias na DRC causa resistência ao tratamento com EPO recombinante acarretando severa deficiência de ferro (Macdougall & Cooper 2002). Além disso, identificou-se que este hormônio também atua na diferenciação de células dendríticas (Rocchetta et al. 2011).

#### **1.4. Justificativa do estudo**

A HDF tem sido amplamente utilizada na Europa e Japão (Canaud et al. 2018) e sua importância é discutida nos EUA, com ampla discussão para aprovação dos parâmetros de tratamento pelo FDA (Ward et al. 2018). Dessa forma, este tratamento não se encontra na fase experimental, mas de forma segura e sustentável é utilizado na terapia de indivíduos com DRC. Um ponto altamente positivo são estudos como de Maduell et al. (2013), que mostraram redução de 35% na mortalidade dos pacientes da amostra analisada. Nesse sentido, é indiscutível a importância de se aprofundar o conhecimento do papel da HDF em contribuir de forma positiva para o equilíbrio da resposta imunológica dos pacientes com DRC. Logo, considerando os benefícios desse método dialítico e os poucos conhecimentos acerca do seu efeito na resposta imunitária dos indivíduos com DRC, é fundamental ampliar os estudos, inclusive quando a doença está associada a comorbidades, como Diabetes Mellitus e a Hipertensão Arterial Sistêmica.

## **2. OBJETIVOS**

## **2.1. Objetivo geral**

O objetivo geral deste estudo foi avaliar a resposta imunológica de indivíduos com a Doença Renal Crônica DRC submetidos à Hemodiálise (HD) e posteriormente convertidos para o método dialítico Hemodiafiltração (HDF).

## **2.2. Objetivos específicos**

- Determinar o perfil dos indivíduos com DRC, relativo à etiologia, idade, peso, tempo de tratamento e tipo de aceso vascular.
- Quantificar e avaliar os parâmetros hematológicos relativos aos eritrócitos (hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e amplitude de distribuição dos eritrócitos) e eritropoietina.
- Quantificar e avaliar os parâmetros hematológicos relativos aos leucócitos (total de leucócitos, segmentados, linfócitos e monócitos) e plaquetas (total de plaquetas).
- Quantificar e avaliar os marcadores do metabolismo (glicose, triglicerídeos, colesterol, HDL, LDL, NLDL).
- Quantificar e avaliar os marcadores iônicos ( $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) e nutricionais (vitamina D e albumina).
- Quantificar e avaliar os marcadores séricos de toxicidade (TGO e TGP).
- Quantificar e avaliar os marcadores inflamatórios (fosfatase alcalina, proteína C reativa,  $\beta_2$ -microglobulina, ferritina e paratormônio).
- Determinar a capacidade fagocitária dos monócitos do sangue periférico.
- Avaliar qualitativamente a produção do radical superóxido.
- Determinar o índice de produção de corpúsculos lipídicos.
- Quantificar e avaliar a produção de citocinas (IL-2, IL-6, IL-17A, TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-10 e INF- $\gamma$ ).

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### 3.1. Delineamento experimental

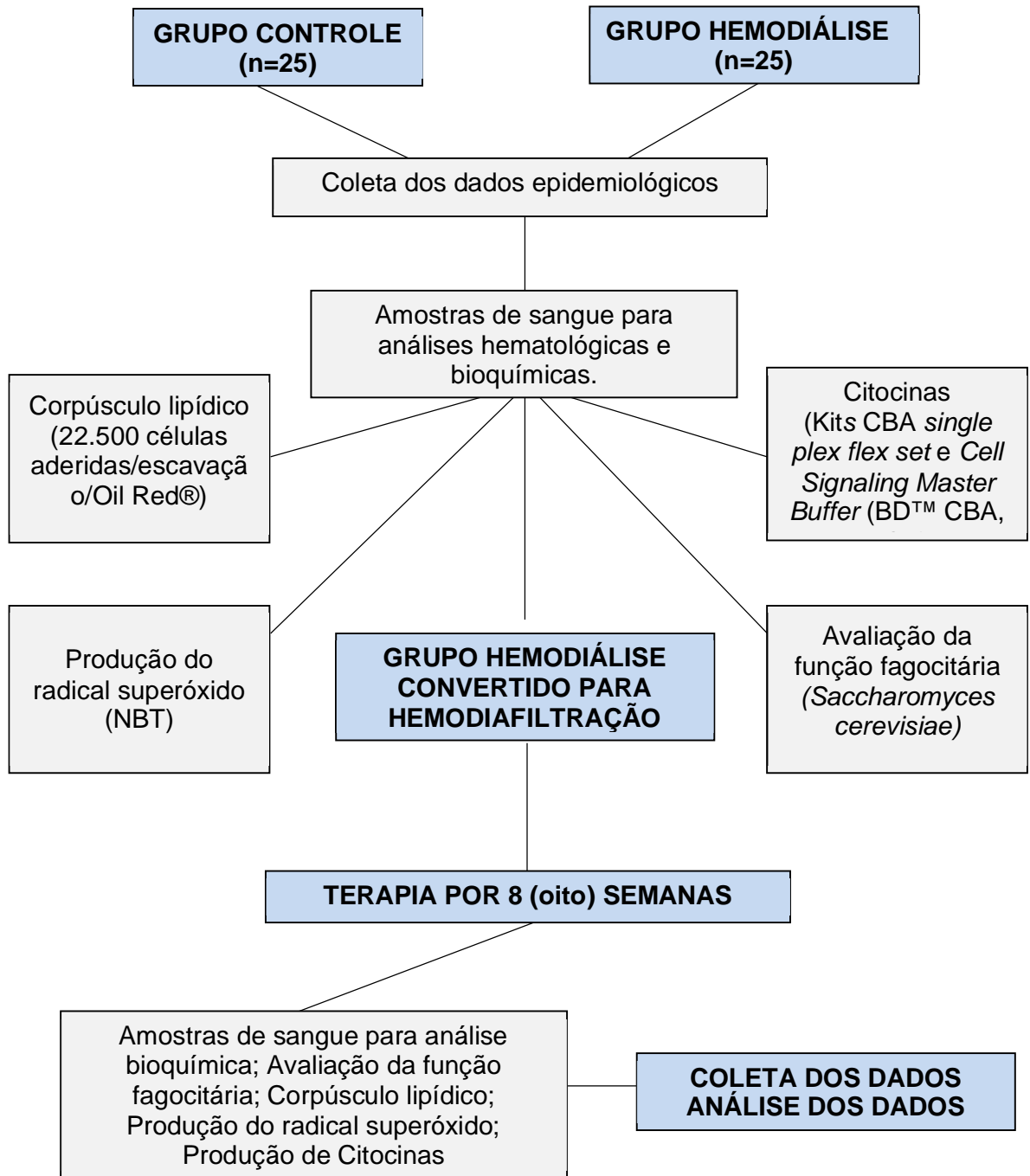


Figura 6. Fluxograma do estudo

### **3.2. Tipo de estudo**

Trata-se de um estudo descritivo e comparativo, experimental pareado e não pareado e de caráter transversal, para avaliação dos efeitos da HDF nos parâmetros hematológicos e bioquímicos no sangue periférico e na função dos fagócitos obtidos do sangue de indivíduos portadores da IRC. No estudo **não pareado** serão comparados indivíduos com IRC e submetidos à HD ou HDF com o grupo controle normal. No estudo **pareado** serão comparados os mesmos indivíduos portadores de IRC submetidos à HD convencional por 2 meses e posteriormente encaminhados para o método dialítico da HDF.

### **3.3. Indivíduos e normas éticas**

Os indivíduos deste estudo são adultos e idosos atendidos na Clínica Nephron em Brasília, Distrito Federal, com idades variando entre 51 e 88 anos, selecionados aleatoriamente dentro de uma amostra de conveniência. As normas éticas que regulamentam os estudos com seres humanos foram rigorosamente cumpridas durante a coleta dos dados e em concordância com a Declaração de Helsinki (WMA 2008).

O início do estudo ocorreu somente após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina e posteriormente à assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos participantes (Protocolo de submissão nº 02/2011, aprovado em 06/02/2014). Desse modo, a coleta de amostras teve início em meados de 2014.

### **3.4. Critérios de Inclusão e exclusão**

No estudo foram incluídos pacientes com IRC do estágio V submetidos ao programa de HD por mais de três meses, com acesso vascular definitivo e que apresentaram fluxo de bomba de sangue (FBS)  $\geq 400$  mL/min. Era necessário que o paciente expressasse formalmente sua aceitação em converter o método dialítico de seu tratamento de HD para HDF para inclusão no estudo.

Os critérios de exclusão foram a não aceitação em participar do estudo, bem como indivíduos com acesso vascular provisório ou aqueles que apresentaram FBS  $\leq 399$  mL/minuto

### **3.5. Parâmetros do tratamento dialítico**

Os parâmetros adotados para HD ou HDF dos indivíduos foram semelhantes. Utilizou-se os dialisadores de alto fluxo FX60 e as máquinas 4008S (Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Alemanha) com água ultrapura definida como 0,1 UFC/ mL, volume de substituição pós-capilar de 100 mL/min e a composição do dialisado com sódio (138 a 140 mg/ dL), potássio (1,5 a 2,0 mg/ dL), cálcio 2,5 a 3,0 mg/ dL, bicarbonato de 44 mg/ dL e glicose 100 mg/ dL.

Na HD são aplicados os princípios da difusão e ultrafiltração, enquanto a HDF associa ainda o princípio da convecção, a fim de que haja melhor depuração das moléculas de peso molecular médio. Para a realização da convecção há a reposição do volume de substituição através da água ultrapura associada à composição da solução dialítica. As membranas utilizadas tanto para a realização da HD quanto da HDF foram as FX60, visto serem de alto fluxo, diâmetro dos poros e tamanho da área de superfície. As máquinas 4008S da Fresenius foram utilizadas em ambas as modalidades, sendo necessária apenas a adaptação do módulo HDF ao equipamento para a realização desta técnica. Todos os procedimentos foram realizados com sessões de 2:30 horas 5 vezes por semana.

### **3.6. Grupos de estudo**

Para o cálculo do número de indivíduos utilizou-se o método de Fleiss da Coleção OpenEpi de calculadoras Epidemiológicas (Openepi 2016), considerando um intervalo de confiança de 95% e porcentagem de não expostos de 99,9%, determinando-se em 21 o número para o estudo. Dessa forma, os grupos de estudo foram definidos como demonstrado abaixo:

Grupo controle: indivíduos normais;

Grupo HD: indivíduos portadores de IRC submetidos ao tratamento com HD convencional por 2 meses;

Grupo HDF: indivíduos portadores de IRC previamente submetidos à HD e que aceitaram a conversão para a HDF por 30 dias.

### **3.7. Indivíduos e coleta dos dados**

Trata-se de um estudo de caráter transversal, descritivo, comparativo e experimental que utilizou amostras de sangue periférico obtidas de indivíduos portadores de IRC (n = 25). O grupo controle foi formado por indivíduos saudáveis



(n = 7). No estudo pareado foram comparados os resultados do mesmo paciente enquanto este estava submetido à HD por no mínimo 3 meses e posteriormente quando à HDF por 2 meses. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina e a obtenção das amostras teve início mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos participantes.

Pacientes com acesso vascular definitivo e FBS  $\geq$  400 mL/min foram incluídos no estudo e excluídos aqueles com acesso vascular provisório ou FBS  $\leq$  399 mL/min e que expressaram formalmente sua aceitação em converter o método dialítico da HD para a modalidade HDF. Todos foram tratados na Clínica Nephron Mix Park em Brasília – Distrito Federal.

As informações de cada indivíduo foram coletadas a partir da revisão de prontuários médicos dos pacientes que concordaram explicitamente em participar do estudo. Os dados do peso seco dos indivíduos foram obtidos pela bioimpedância (BCM) que permite avaliação do estado de hidratação por avaliação espectroscópica de bioimpedância da composição corporal, a partir do qual, o nível de hiperhidratação pode ser identificado determinando de forma rápida e fiável o volume de distribuição da uréia para o cálculo da dose de diálise (Kt/V).

### **3.8. Obtenção do perfil epidemiológico dos indivíduos**

Depois de tabulados, os dados (idade, sexo, peso ao início do tratamento, causa da nefropatia, comorbidades associadas, tempo em que foi submetido à HD, tipo de acesso vascular e Kt/Ve) foram agrupados conforme a etiologia da IRC e pelo sexo, masculino (Doenças metabólicas, Diabetes Mellitus tipo II, Hipertensão Arterial Sistêmica, Imunopatogenia e Doença Obstrutiva de Vias Urinárias com PCR) e feminino (Diabetes Mellitus tipo II, Imunopatogenia, Genética, Hipertensão Arterial Sistêmica) e o peso seco.

### **3.9. Obtenção das amostras**

Para a avaliação dos parâmetros bioquímicos e imunológicos, foram coletados 20 mL de sangue venoso periférico de cada indivíduo (2 frascos heparinizados de 10 mL cada). Foram realizadas duas coletas para cada paciente: uma no início da sessão de HD e a outra após 8 semanas de conversão do tratamento para HDF. Amostras de sangue também foram obtidas de indivíduos normais para controle.

Um frasco foi encaminhado para as análises bioquímicas no laboratório Sabin (Brasília - DF), que gentilmente colaborou com a realização de diversas etapas experimentais deste projeto, enquanto o outro foi encaminhado para o Laboratório de Imunologia Celular da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília para os ensaios imunológicos.

### **3.10. Determinação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos**

Os parâmetros hematológicos (hemograma, leucograma e leucometria) foram analisados por citometria de fluxo fluorescente e impedância "XN10-Sysmex". A dosagem de colesterol total foi realizada pelo método de esterase/oxidase; a uréia pela metodologia da urease com GLDH (glutamato desidrogenase); a creatinina pelo amidinohidrolase/oxidase; a albumina pelo método Verde de Bromocresol e o PTH (paratormônio) pela eletroquimioluminescência no Cobas 8000 dosados no laboratório Sabin.

### **3.11. Avaliação da função fagocitária**

A função fagocitária das células obtidas do sangue periférico foi avaliada pelo método da aderência celular em lâmina de vidro previamente demarcada com caneta hidrofóbica (1 cm de diâmetro) e incubada com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Para o ensaio, 40 µL do sangue ( $\cong$  12.000 células aderidas) foram depositados nos poços em duplicata. As células foram incubadas por 45 minutos em câmara úmida a 37°C e lavadas delicadamente com STF (37°C) para a remoção das hemácias e das células não aderentes. A seguir, foram acrescentados à cada poço 40 µL de uma suspensão em meio Hanks-triz contendo 5 ou 20 leveduras/célula, previamente sensibilizadas com 10% do soro do próprio indivíduo (fagocitose por opsoninas) ou com soro fetal bovino – SFB (fagocitose por padrões

moleculares). Nas mesmas condições anteriores, estes cultivos foram incubados por mais 30 minutos. Depois, as células foram lavadas delicadamente com STF (37 °C) para remover as leveduras não ingeridas.

Então, adicionou-se aos poços uma gota de Hanks-triz com 40% de SFB. Eles foram secados com ar quente, fixados com metanol por 1 min, secados novamente e então corados com solução de Giemsa a 10% por 10 minutos. As análises foram realizadas por um único observador ao microscópio óptico, por meio de contagem aleatória. Utilizou-se 200 neutrófilos, monócitos ou eosinófilos de cada poço. No microscópio foi utilizada uma objetiva de imersão (1000x). Os resultados foram expressos pelo Índice Fagocitário (IF) (média de leveduras ingeridas x percentual de células envolvidas na fagocitose).

### **3.12. Avaliação da produção de radical superóxido**

A avaliação da produção de radicais livres foi realizada por meio do teste do NBT (Nitro blue tetrazolium) que é uma substância incolor, mas que na presença de radical superóxido é reduzida, adquirindo uma cor azulada. Para o ensaio, 40 µL de sangue foram depositados em duplicata nas escavações previamente demarcadas das lâminas para microscopia e incubados a 37°C por 45 minutos para aderência das células. As escavações eram, então, lavadas com STF a 37 °C para remover as hemácias e as células não aderidas. Em seguida, 20 µL de uma solução de NBT em meio Hanks-triz foi acrescentada às escavações, na presença ou ausência de uma suspensão contendo 20 leveduras/célula (estímulo à produção do radical superóxido).

As células foram incubadas por 20 minutos em câmara úmida a 37 °C para redução do NBT. Depois, uma gota de Hanks-triz com 40% de SFB era adicionada sobre todas as escavações, secas com ar quente, fixadas com metanol por um minuto, novamente secas e coradas com uma solução de safranina a 2,5g por 5 minutos. As análises foram realizadas por um único observador ao microscópio óptico pela quantificação de 200 células. Os resultados da análise em estado basal (sem adição de leveduras) foram expressos em percentual de células que reduziram ou não o NBT. Os resultados da análise com estímulo (presença de leveduras) foram apresentados em porcentagem de da seguinte maneira:

1) células que reduziram o NBT e fagocitaram leveduras;

- 2) células que reduziram, mas não fagocitaram;
- 3) células que não reduziram, mas fagocitaram e;
- 4) células que não reduziram nem fagocitaram.

### **3.13. Determinação dos corpúsculos lipídicos**

Para o ensaio, 75  $\mu$ L do sangue foi depositado em duplicata para obter 22.500 células aderidas/escavação e, então, as células eram incubadas por 2 h em câmara úmida a 37 °C e lavadas delicadamente com STF (37 °C) para a remoção das hemácias e das células não aderidas. A seguir, acrescentou-se à cada escavação 75  $\mu$ L da suspensão de leveduras (5 lev/célula) previamente sensibilizadas com 10% do soro do próprio indivíduo para nova incubação por mais 30 minutos. Posteriormente, as escavações foram lavadas delicadamente com STF (37 °C) para remover as leveduras não ingeridas. A seguir as células foram fixadas com paraformaldeído 4% por 15, lavadas 2x com STF, 1x com 0,5 mL de álcool isopropílico a 60% e 2x com água destilada. A seguir, as células foram coradas com 300  $\mu$ L/escavação de Oil Red® de uso por 15 min, lavadas 2x com água destilada, novamente coradas com 300  $\mu$ L/escavação de Hematoxilina de Harris por 5 min, lavadas 2x com água destilada e protegidas com lamínulas em meio gelatinoso. As análises foram realizadas por microscopia (1000x), por um único observador e os resultados expressos pelo índice corpuscular (IC), que é o produto da média de corpúsculos lipídicos pelo percentual de células com corpúsculos.

### **3.14. Quantificação das citocinas**

Para quantificar as citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias foi obtido e mantido sob congelação (- 80 °C) o soro de cada indivíduo até o momento das análises. Utilizou-se os Kits CBA *single plex flex set* e *Cell Signaling Master Buffer* (BD™ CBA, USA) conforme as especificações do fabricante. O soro dos indivíduos foi descongelado à temperatura ambiente e então 25  $\mu$ L foram transferidos, em triplicata, para criotubos âmbar para fotoproteção. Criou-se uma curva de calibração das citocinas conforme instruções do fabricante. Os *beads* de captura foram diluídos em solução específica, sob fotoproteção, na proporção de 0,5  $\mu$ L/amostra e mantidos a 4°C ao abrigo da luz, antes do uso. Para a pré-análise das

amostras foram adicionados a cada frasco âmbar 25 µL do soro dos indivíduos e 25 µL da solução dos *beads* de captura.

Após homogeneização, os mesmos foram incubados por 60 minutos à temperatura ambiente. Depois de adicionar 500 µL do tampão de lavagem, homogeneizar em vótex, centrifugar a 200 x g por 5 minutos à temperatura ambiente, desprezar 450 µL do sobrenadante, adicionar 25 µL da solução de *beads* de detecção, as amostras foram homogeneizadas e mantidas sob fotoproteção por 2 h à temperatura ambiente. Em seguida, repetiu-se a lavagem nas mesmas condições e depois de desprezar 450 µL do sobrenadante, adicionou-se e homogeneizou-se 150 µL do tampão para reconstituir o volume final. Então, uma alíquota de 50 µL de cada amostra foi distribuída na placa para a leitura no citômetro de fluxo LSRFortessa™ (BD™, USA) de acordo com as recomendações do fabricante. Os dados obtidos das análises foram convertidos para concentração no programa *FCAP Array™ Software Version 3.0* (BD™, USA) e os resultados expressos em pg/mL.

### **3.15. Análise estatística**

Para a aplicação dos testes estatísticos avaliou-se os seguintes parâmetros: a normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e a variabilidade pelo teste de Bartlett. Para analisar as múltiplas comparações foram utilizados o teste de ANOVA ou Kruskal-Wallis para dados paramétricos ou não paramétricos, respectivamente. Para comparação de duas amostras independentes utilizou-se o teste t-Student ou Mann-Whitney para os dados paramétricos ou não paramétricos, respectivamente. Para comparação de duas amostras dependentes utilizou-se os testes t-pareado ou Wilcoxon, para dados com distribuição paramétrica ou não paramétrica, respectivamente. As diferenças entre as variáveis são consideradas significativas quando a probabilidade bicaudal da sua ocorrência devida ao acaso (erro tipo I) for menor que 5% ( $p < 0,05$ ). Os dados qualitativos foram analisados pelo teste de Qui-quadrado ou Fisher para dados paramétricos ou não paramétricos, respectivamente. Para os estudos de correlação foram utilizados os testes Pearson ou Spearman para dados paramétricos ou não paramétricos, respectivamente. Para as análises e representação gráfica dos resultados, utilizou-se o programa Prism 5® software package (GraphPad, USA).

#### **4. RESULTADOS**

#### 4.1. Perfil epidemiológico

Com relação ao gênero, 48% dos pacientes eram do sexo feminino e 52% do sexo masculino. A faixa etária média das mulheres foi de  $68\pm 11$  anos, enquanto a dos homens foi de  $64\pm 9$  anos. Quanto à etiologia, a principal doença causadora da DRC foi DM tipo II em 11 indivíduos (44%), seguida pela HAS (8 indivíduos, 32%). As demais causas foram as imunopatogenias (8%), doenças metabólicas (8%), genéticas (4%), doença obstrutiva de vias urinárias com pielonefrite crônica de repetição (4%) (Tabelas 3 e 4).

O tempo de hemodiálise foi maior para as mulheres ( $5\pm 6$  anos) do que para os homens ( $4\pm 4$  anos). Quanto ao tipo de acesso, 54% dos homens apresentaram a FAV (Fístula arteriovenosa), 31% deles com CLP (cateter de longa permanência) e 8% apresentaram prótese vascular (PTFE); dentre as mulheres, 42% apresentam acesso vascular como FAV e 58% CLP.

O peso seco médio ao final da HDF foi de  $66\pm 15$  Kg para as mulheres e de  $75\pm 19$  Kg para os homens, sendo este um percentual 13% maior que o da média feminina. A diferença média da variação do peso seco antes e depois das sessões de HD foi de  $0,1\pm 1,6$  Kg.

As análises comparativas mostraram que não houve diferenças entre os grupos de homens e mulheres quanto faixa etária (Teste t,  $p > 0,05$ ), peso seco (Teste t,  $p > 0,05$ ), variação do peso seco (Mann-Whitney,  $p > 0,05$ ) e tempo de HD (Mann-Whitney,  $p > 0,05$ ).

Quando foi avaliada a proporção de homens ou mulheres para as principais causas da DRC (DM e HAS), os resultados mostraram similaridade entre os sexos (Fisher,  $p > 0,05$ ), ou seja, embora a principal causa da DRC no grupo de mulheres ter sido o DM (7 mulheres) não houve diferenças para o grupo de homens (4 indivíduos); o mesmo resultado foi observado para a HAS (3 mulheres; 5 homens) (Fisher,  $p > 0,05$ ). As demais causas da DRC estavam presentes em poucos indivíduos, sendo as imunopatogenias em 1 indivíduo de cada sexo, as doenças metabólicas em 2 homens, genética em 1 mulher e a Doença obstrutiva de vias urinárias com pielonefrite crônica em 1 homem.

Quanto ao tipo de acesso, os resultados mostraram menor proporção de mulheres com acesso por FAV em que as doenças metabólicas eram a causa da DRC (Fisher,  $p < 0,05$ ). Não houve correlação entre o tipo de acesso e o tempo de HD em ambos os grupos (homens e mulheres) (Fisher,  $p > 0,05$ )

**Tabela 3.** Perfil epidemiológico dos indivíduos do sexo feminino.

N	Indivíduo	Idade (Anos)	Peso seco (Kg) (final da HD)	Δ peso seco (Kg) (final da HDF)	Tempo de HD (anos)	Acesso vascular	Etiologia
1	AAARP	60	80.0	0.0	7	CLP	Diabetes Mellitus tipo II
2	LDO	80	53.0	0.0	2	CLP	
3	MAP	67	81.5	+2.5	10	FAV	
4	MACR	73	69.0	+0.5	0	FAV	
5	MADN	67	57.0	+1.0	2	CLP	
6	MDSN	84	54.0	0.0	0	CLP	
7	TDCS	79	100.5	+1.5	1	CLP	
8	BGCL	47	67.0	-2.0	5	FAV	Imunopatogenia
9	EPDCM	65	53.0	0.0	12	FAV	Genética
10	ALCG	53	54.5	+0.5	20	FAV	Hipertensão arterial sistêmica
11	FMC	78	68.3	-2.2	1	FAV	
12	MAS	63	57.0	-1.7	1	FAV	
		<b>68±11</b>	<b>66±15</b>	<b>0,0±1,1</b>	<b>5,0±6,2</b>	-	-

FAV = Fístula arteriovenosa; CLP = Cateter de longa permanência

**Tabela 4.** Perfil epidemiológico dos indivíduos do sexo masculino.

N	Indivíduo	Idade (Anos)	Peso seco (Kg) (final da HD)	Δ peso seco (Kg) (final da HDF)	Tempo de HD (anos)	Acesso vascular	Etiologia
1	AVS	66	74.5	0.0	2	PTFE	Doenças metabólicas
2	EES	80	68.5	+0.5	3	FAV	
3	BBO	55	59.0	0.0	4	FAV	Diabetes Mellitus tipo II
4	JJG	63	84.0	+3.0	7	FAV	
5	JLP	71	90.5	-3.5	2	CLP	
6	JNS	61	78.0	0.0	11	CLP	Hipertensão arterial sistêmica
7	DA	62	49.0	0.0	8	CLP	
8	FVV	73	55.0	0.0	4	FAV	
9	IRA	62	66.0	-0.5	0	FAV	
10	SFS	68	99.5	0.0	1	FAV	
11	OLS	66	69.0	-1.0	4	FAV	
12	MVC	42	115.7	+2.6	1	CLP	
13	WWS	73	67.0	0.0	11	FAV	DOVU/PC*
		<b>64±9</b>	<b>75±19</b>	<b>0,1±1,6</b>	<b>4±4</b>	-	

\*DOVU/PC = Doença obstrutiva de vias urinárias com pielonefrite crônica; FAV = Fístula arteriovenosa; CLP = Cateter de longa permanência; PTFE = Prótese de politetrafluoroetileno

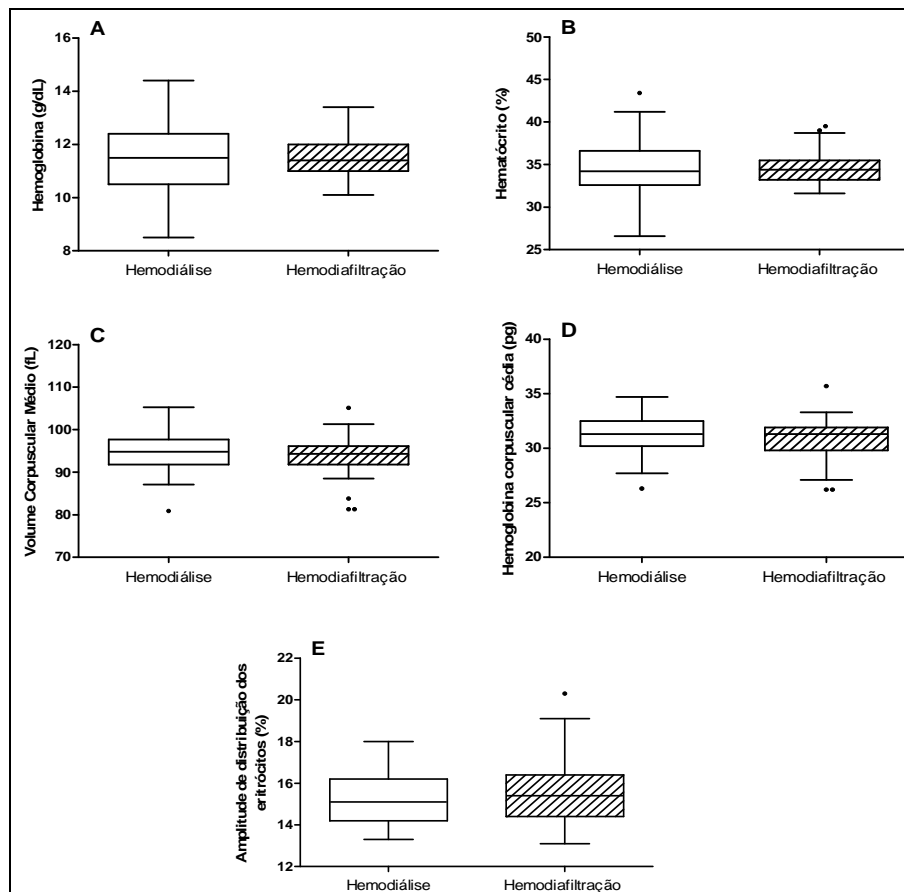


## 4.2. Avaliação dos parâmetros hematológicos

### 4.2.1. Eritrócitos

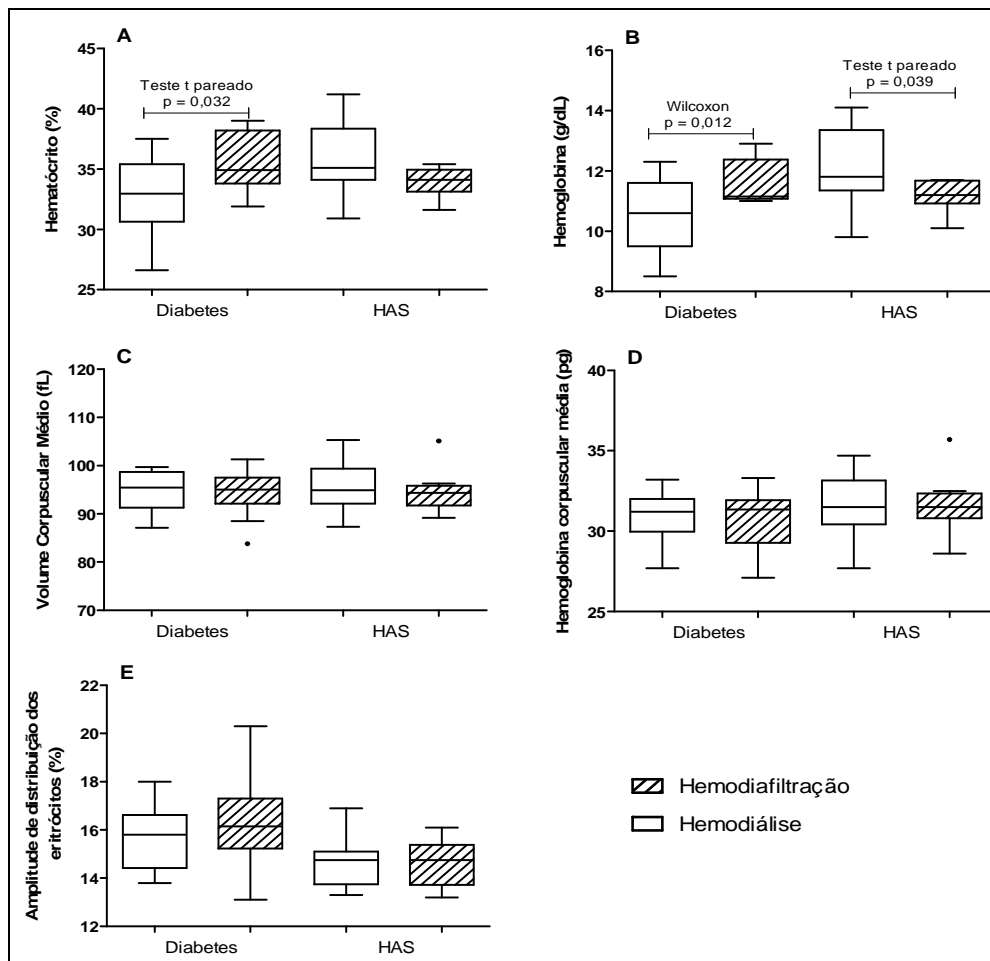
Os parâmetros relativos ao hematócrito (HC), hemoglobina (HG), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e amplitude de distribuição dos eritrócitos (ADE) foram avaliados nos indivíduos portadores de DRC (homens e mulheres) ou quando classificados para a hipertensão arterial sistêmica (HAS) ou diabetes mellitus (DM).

Os resultados das análises pareadas para os parâmetros eritrocitários de hemoglobina, hematócrito, VCM, HCM e ADE dos indivíduos (homens e mulheres) tratados com a HD e posteriormente convertidos para a HDF mostraram não haver diferenças no tratamento ( $p > 0,05$ ) (Figura 7).



**Figura 7.** Avaliação dos parâmetros hematológicos dos eritrócitos em portadores de insuficiência renal crônica (homens e mulheres), submetidos à hemodiálise e posteriormente convertidos para a hemodiafiltração. Os resultados, analisados pelo teste t pareado ou Wilcoxon, mostraram que os grupos não diferem entre si para a hemoglobina (A), hematócrito (B), VCM (C), HCM (D) e ADE (E) ( $p > 0,05$ ). Estão mostradas as medianas, quartis, valores máximos e mínimos.

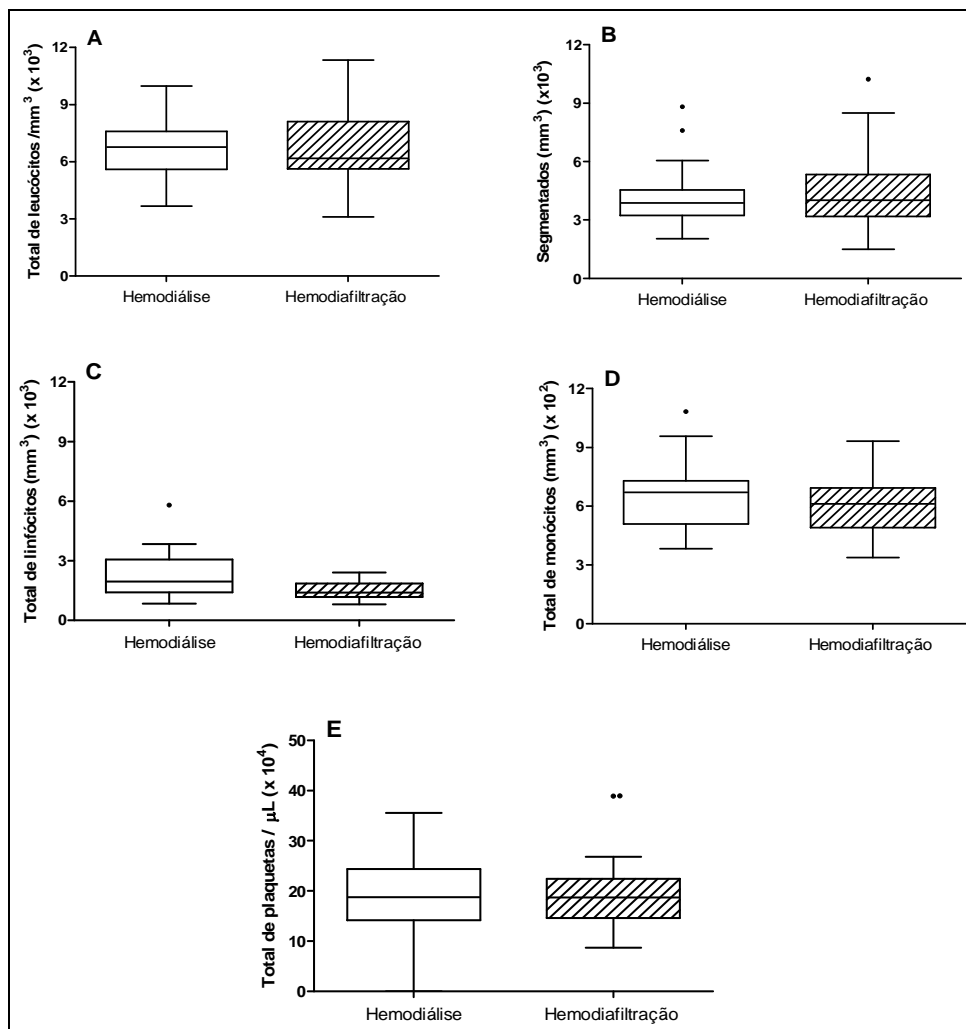
Quando analisamos os indivíduos em relação às comorbidades, os resultados, analisados pelo teste t pareado ou Wilcoxon, mostraram que os valores obtidos para VCM, HCM e ADE não diferiram entre os tratamentos (HD ou HDF) ( $p > 0,05$ ) (Figura 8 CDE). Para os indivíduos com diabetes e tratados com a HDF houve aumento no hematócrito (Teste t pareado;  $p = 0,032$ ) e nos níveis de hemoglobina (Wilcoxon;  $p = 0,012$ ), na comparação quando submetidos à HD (Figura 2 AB). Nos portadores de HAS houve redução nos níveis de hemoglobina quando tratados com a HDF, na comparação com a HD (Teste t pareado;  $p = 0,039$ ) (Figura 8 B).



**Figura 8.** Avaliação dos parâmetros hematológicos dos eritrócitos de portadores de IRC com DM ou HAS, submetidos à hemodiálise e posteriormente à hemodiafiltração. Os resultados, analisados pelo teste t pareado ou Wilcoxon, mostraram que os grupos não diferem entre si para VCM (C), HCM (D) e ADE (E) ( $p > 0,05$ ). Para os indivíduos com diabetes tratados com a HDF houve aumento no hematócrito e nos níveis de hemoglobina, na comparação quando submetidos à hemodiálise ( $p < 0,05$ ). Nos portadores de HAS houve redução nos níveis de hemoglobina quando tratados com a HDF, na comparação com a HD. Estão mostradas as medianas, quartis, valores máximos e mínimos.

#### 4.2.2. Leucócitos e plaquetas

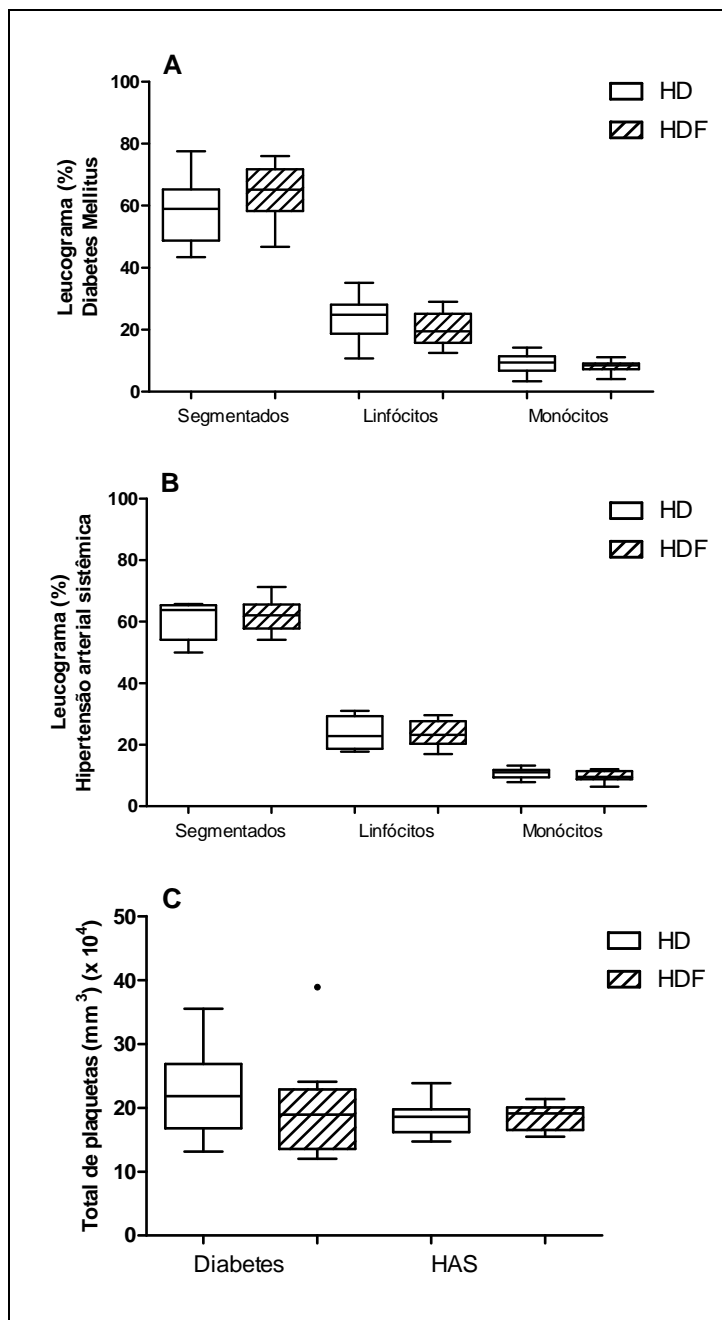
Os resultados das análises pareadas para os leucócitos (total de leucócitos, segmentados, linfócitos e monócitos) e plaquetas dos indivíduos (homens e mulheres) tratados com a HD e posteriormente convertidos para a HDF mostraram não haver diferenças entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ) (Figura 9).



**Figura 9.** Avaliação quantitativa dos leucócitos e plaquetas dos indivíduos portadores de insuficiência renal crônica, submetidos à hemodiálise e posteriormente convertidos para a hemodiafiltração. Os resultados, analisados pelo teste t pareado ou Wilcoxon, mostraram não haver diferenças entre os tratamentos para o total de leucócitos (A), segmentados (B), linfócitos (C), monócitos (D) ou plaquetas (E). Estão mostradas as medianas, quartis, valores máximos e mínimos.

Na avaliação qualitativa dos leucócitos (segmentados, linfócitos e monócitos) e quantitativa das plaquetas dos indivíduos portadores de insuficiência renal crônica e de comorbidades (Diabetes e HAS), submetidos à hemodiálise e

posteriormente convertidos para a hemodiafiltração os resultados, analisados pelo teste t pareado ou Wilcoxon, mostraram não haver diferenças entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ) (Figura 10).

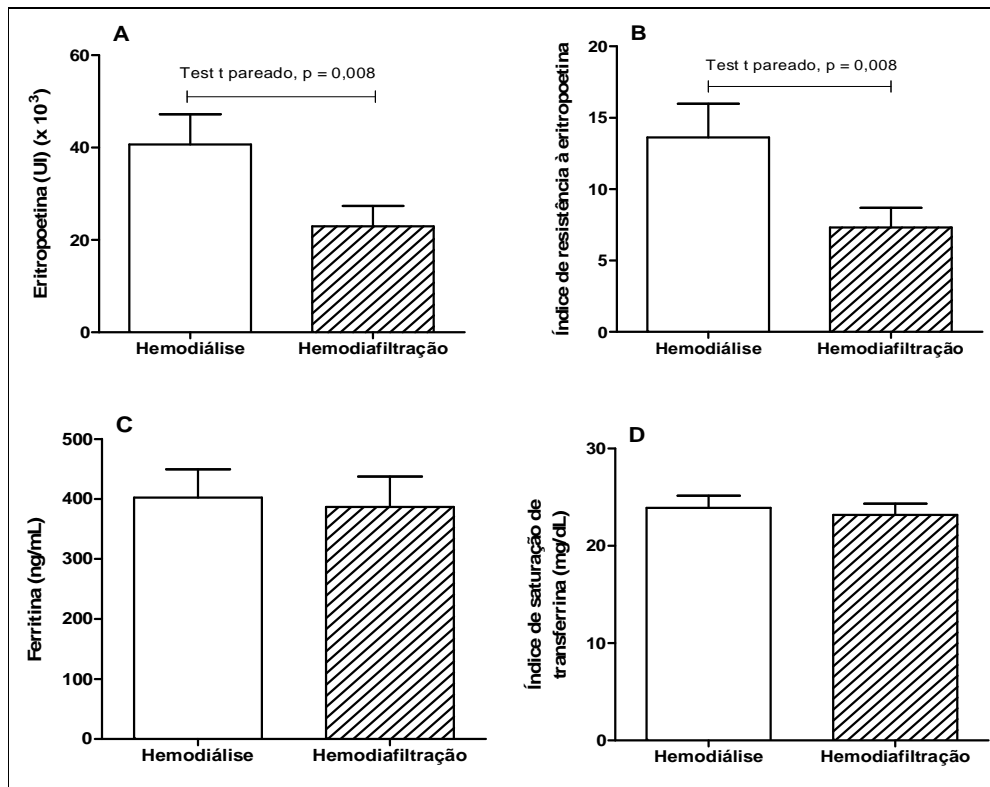


**Figura 10.** Avaliação quantitativa dos leucócitos e plaquetas de portadores de IRC com DM ou HAS, submetidos à hemodiálise e posteriormente à hemodiafiltração. Os resultados, analisados pelo teste t pareado ou Wilcoxon, mostraram que não haver diferenças entre os tratamentos para o leucograma na HAS (A) ou no Diabetes (B), assim como no total de plaquetas (C). Estão mostradas as medianas, quartis, valores máximos e mínimos.

### 4.2.3. Eritropoetina

Os parâmetros eritropoiéticos quanto aos títulos de eritropoietina (EPO) e do índice de resistência à ação da EPO em pacientes submetidos à HD com posterior conversão de tratamento para a HDF foram analisados de forma pareada. Os resultados, analisados pelo teste t pareado, mostraram redução nos valores da EPO sérica (Teste t pardo;  $p = 0,008$ ) e no índice de resistência à EPO ( $p=0,007$ ) (Figura 11 A e B).

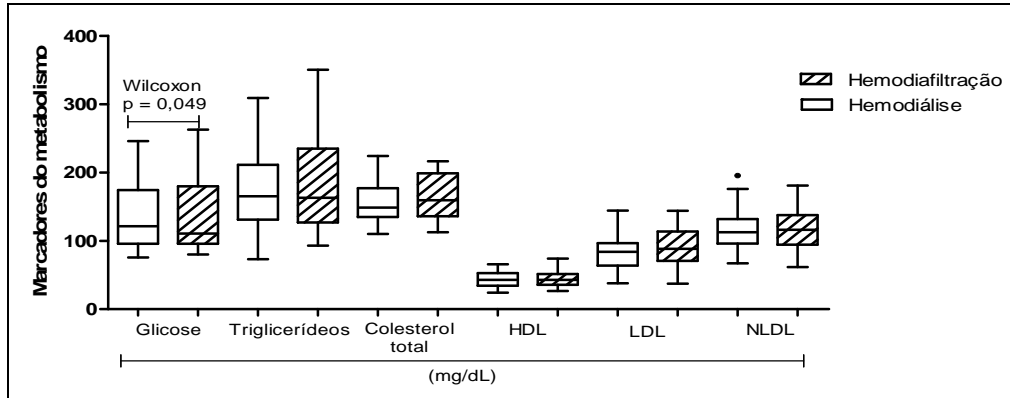
Quanto aos valores séricos da ferritina e do índice de saturação da transferrina, os resultados analisados pelo teste t pareado mostraram que a conversão do tratamento para a HDF não alterou os valores obtidos quando os indivíduos eram tratados com a HD ( $P > 0,05$ ) (Figura 11 C e D).



**Figura 11.** Avaliação quantitativa da EPO (A), da ferritina (C), do índice de resistência à EPO (B) e do índice de saturação da ferritina (D) dos indivíduos portadores de insuficiência renal crônica, submetidos à hemodiálise e posteriormente convertidos para a hemodiafiltração. Os resultados, analisados pelo teste t pareado, mostraram que o tratamento com a HDF reduziu os valores séricos da EPO e do índice de resistência à EPO ( $p < 0,01$ ), mas não afetou a ferritina ou o índice de saturação da transferrina ( $p > 0,05$ ). Estão representados as médias e os desvios padrão.

### 4.3. Avaliação dos marcadores do metabolismo

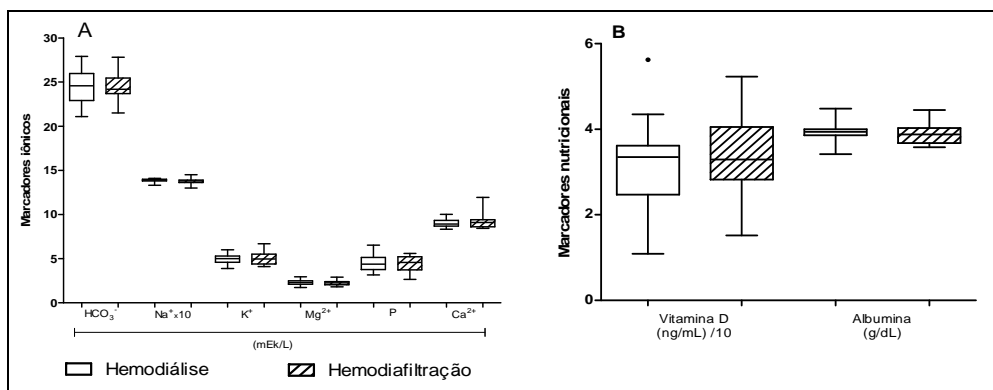
Os resultados para os marcadores do metabolismo mostraram redução da glicose depois do tratamento com a HDF (110,8 mg/dL), na comparação com a HD (121,5 mg/dL) (Wilcoxon,  $p = 0,049$ ). Os demais marcadores (triglicerídeos, colesterol, HDL, LDL e NLDL) não diferiram entre HD e HDF ( $p < 0,05$ ) (Figura 12).



**Figura 12.** Quantificação dos marcadores do metabolismo (glicose, triglicerídeos, colesterol, HDL, LDL, NLDL) dos indivíduos com DRC, tratados com a HD e depois com a HDF. Os resultados mostraram aumento da glicose com a HDF (Wilcoxon,  $p = 0,049$ ); não houve alteração nos demais marcadores ( $p > 0,05$ ). Estão mostradas as medianas, quartis, valores máximos e mínimos.

### 4.4. Avaliação de marcadores iônicos e nutricionais

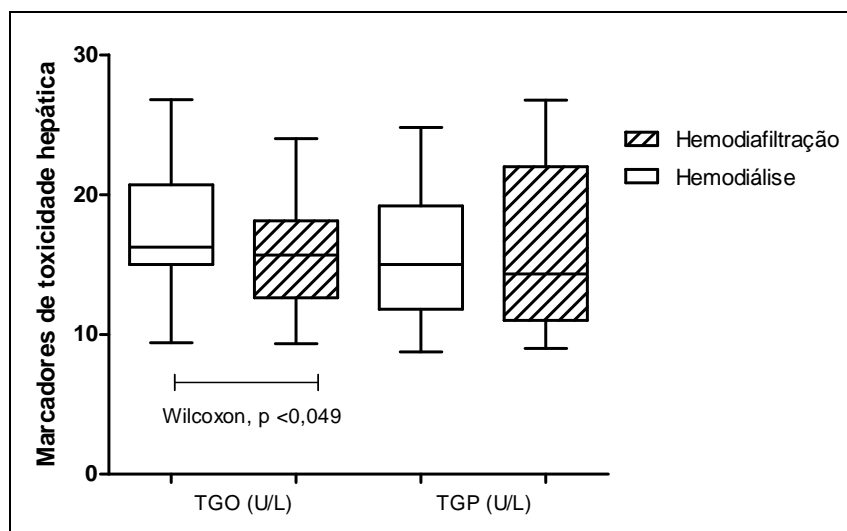
A figura 13 mostram os resultados das análises pareadas para os marcadores iônicos ( $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) e nutricionais (vitamina D e albumina). Os resultados mostraram que a HDF não afetou qualquer dos marcadores iônicos ou nutricionais (Teste t pareado ou Wilcoxon,  $p > 0,05$ ).



**Figura 13.** Quantificação dos marcadores iônicos (A) e nutricionais (B) dos indivíduos com DRC, submetidos à HD e depois com a HDF. Os resultados mostraram que a conversão para a HDF não afetou qualquer dos marcadores iônicos ou nutricionais ( $p > 0,05$ ). Estão mostradas as medianas, quartis, valores máximos e mínimos.

#### 4.5. Avaliação de marcadores de toxicidade

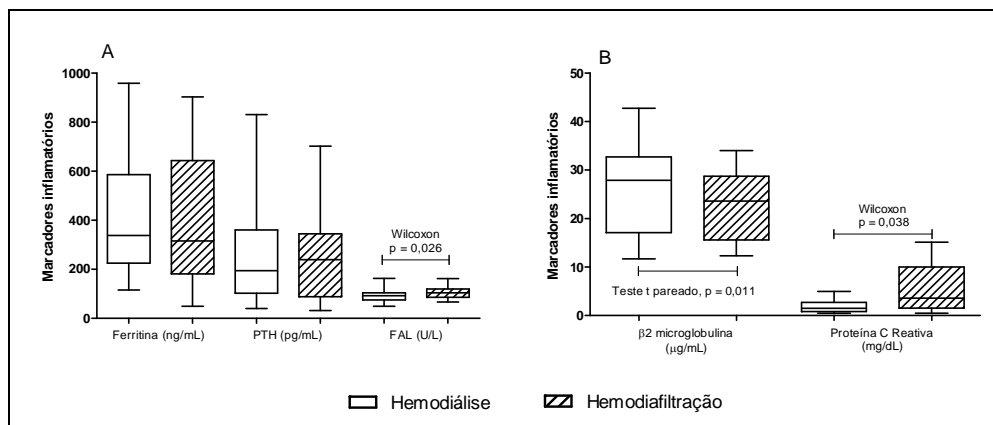
A figura 14 mostra os dados da quantificação dos marcadores séricos de toxicidade (TGO - transaminase glutâmica oxalacética e TGP - transaminase glutâmica pirúvica). Os resultados mostraram redução de TGO submetidos à HDF (15,7 U/L) na comparação com a HD (16,3 U/L) (Wilcoxon,  $p = 0,049$ ). Não houve diferença entre os níveis séricos de TGP entre os dois métodos dialíticos (Teste t pareado,  $p > 0,05$ ).



**Figura 14.** Quantificação dos marcadores de toxicidade dos portadores de DRC, submetidos à HD e posteriormente HDF. Os resultados mostraram redução de TGO com a HDF, na comparação com a HD (Wilcoxon,  $p = 0,049$ ). Não houve diferença da TGP entre os dois métodos dialíticos (Teste t pareado,  $p > 0,05$ ). Estão mostradas as medianas, quartis, valores máximos e mínimos.

#### 4.6. Avaliação de marcadores inflamatórios

A análise dos marcadores inflamatórios séricos dos indivíduos mostrou aumento na produção da fosfatase alcalina - FAL e proteína C reativa - PCR para os pacientes submetidos à HDF (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ). Os valores de  $\beta$ 2-microglobulina foram menores nos pacientes depois da conversão para HDF (teste t pareado  $p < 0,05$ ). Os demais marcadores (ferritina e paratormônio) não foram afetados com a HDF (teste t pareado,  $p > 0,05$ ) (Figura 15).



**Figura 15.** Quantificação dos marcadores inflamatórios dos indivíduos portadores com DRC, submetidos à hemodiálise e posteriormente convertidos para a hemodiafiltração. Os resultados mostraram que, na comparação com a HD, a HDF causou maior produção da FAL e de PCR, (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) e redução de  $\beta 2$ -microglobulina (teste t pareado,  $p < 0,05$ ); não houve diferenças entre os métodos dialíticos para os demais marcadores analisados ( $p > 0,05$ ). Estão mostradas as medianas, quartis, valores máximos e mínimos.

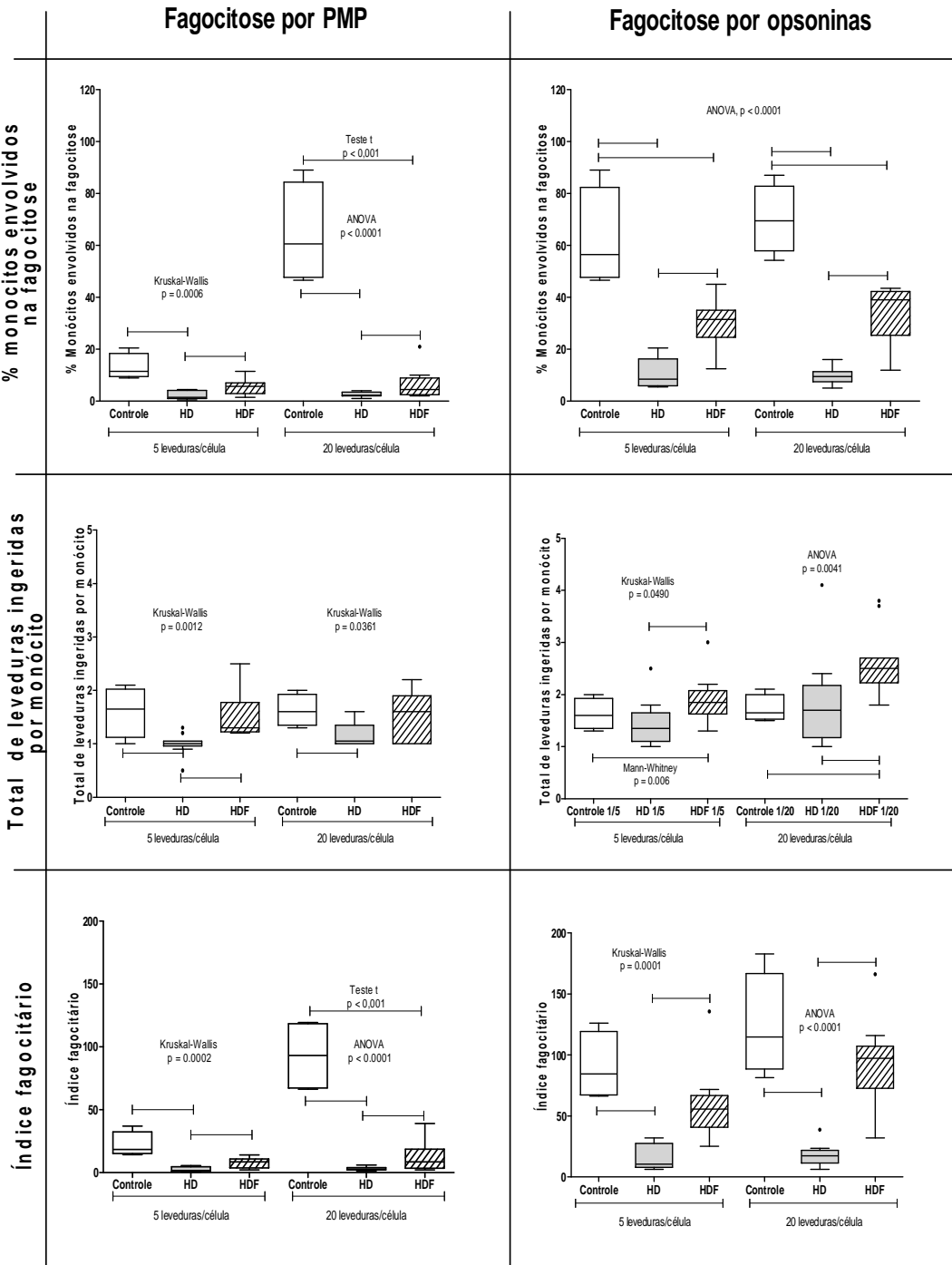
#### 4.7. Avaliação da capacidade fagocitária dos monócitos

A figura 16 mostra os resultados da fagocitose por receptores para os padrões moleculares de patógenos (PMPs) e por opsoninas. O índice fagocitário (IF) foi obtido pelo produto do % monócitos envolvidos na fagocitose (%Mon) pelo total de leveduras ingeridas por célula (TLev).

Os resultados da fagocitose mediada pelos PMPs mostraram que os IFs dos indivíduos tratados com a HDF não diferiram dos indivíduos hígidos (controle) para a menor MLev (5:1) ( $p > 0,001$ ), mas foi maior do que os IF obtidos com a HD; isso ocorreu pelo aumento no %Mon, bem como pelo maior MLev (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ). Com a maior proporção de leveduras (20:1) o IF para a HDF foi menor do que o controle, mas foi maior do que a HD (ANOVA,  $p < 0,05$ ); a diferença entre os tratamentos dialíticos ocorreu pelo maior %Mon (ANOVA,  $p < 0,05$ ).

Quando a fagocitose ocorreu pelos receptores para opsoninas houve maior IF para a HDF com as concentrações de leveduras 5:1 (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ) e 20:1 (ANOVA,  $p < 0,05$ ), não houve diferenças com o grupo controle ( $p > 0,05$ ). O MLev e o %Mon foram maiores para a HDF com ambas as concentrações de leveduras (5:1 e 20:1), na comparação com o HD ( $p < 0,05$ ); o %Mon para a HDF foi menor no grupo controle em ambas as concentrações de leveduras (ANOVA,  $p < 0,05$ ), enquanto o TLev foi maior do que o controle para a maior proporção de leveduras (20:1) (ANOVA,  $p < 0,05$ ).



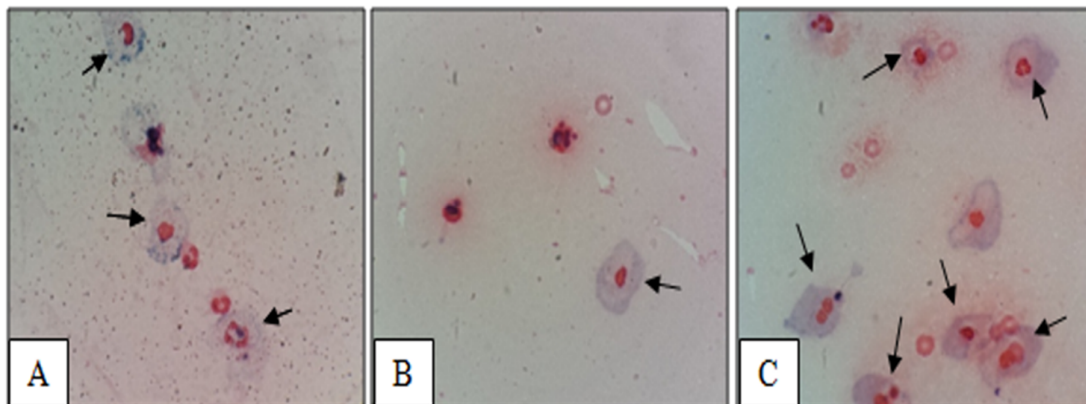


**Figura 16.** Fagocitose de leveduras mediada por PMP (coluna da esquerda) ou por opsoninas (coluna da direita). As células obtidas de indivíduos saudáveis ou com IRC, depois de aderidas, foram incubadas com duas concentrações de leveduras (5:1 ou 20:1). Os resultados mostraram que os índices fagocitários (IF) dos indivíduos tratados com a HDF não diferiram dos indivíduos hígidos (controle) quando a fagocitose ocorreu pelos receptores para PMP ou opsoninas e com 5:1 ou 20:1 leveduras ( $p < 0,001$ ), enquanto que para esses parâmetros, os IFs foram menores para a HD ( $p < 0,001$ ). Estão representadas as medianas, quartis, valores máximos e mínimos.

#### 4.8. Avaliação da produção de radical superóxido por monócitos

Para esta análise, os resultados foram expressos em percentual de células que fagocitaram as leveduras e que reduziram o sal de NBT. A figura 17 representa os fagócitos no ensaio de redução de NBT.

Para fins de comparação, foi avaliado também o nível basal de redução das células sem a ativação por meio da incubação com leveduras (Figura 18).



**Figura 17.** Fotomicrografias de fagócitos submetidos ao método de redução do NBT. As células foram obtidas de indivíduos saudáveis (A) e portadores de IRC e submetidos à diálise por HD (B) e posterior conversão para a HDF (C). As setas indicam os fagócitos que não fagocitaram as leveduras e reduziram o sal de NBT (citoplasma lilás). O círculo mostra um fagócito com leveduras internalizadas, mas que não reduziram o NBT. Coloração Giemsa 10%. Aumento 1000x.

##### **A. Avaliação da redução basal NBT**

Os resultados analisados pelo teste de ANOVA, seguido pelo método de Student-Newman-Keuls, mostraram que os fagócitos obtidos de indivíduos saudáveis e aqueles de pacientes com DRC tratados com HDF foram capazes de reduzir o sal de NBT em mais de 40% quando comparados com os fagócitos do grupo HD de ~20% ( $p < 0,05$ ). Não houve diferença entre a HDF e o grupo controle ( $p > 0,05$ ) (Figura 18 A).

##### **B. Fagocitose com redução do NBT**

Os resultados mostraram que os fagócitos obtidos de indivíduos com DRC submetidos a ambos os métodos dialíticos apresentaram menor percentual de fagócitos capazes de fagocitar e reduzir o sal de NBT comparados com indivíduos

saudáveis (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Quando comparados os dois métodos de diálise, a HDF causou aumento no percentual de fagócitos que fagocitaram e reduziram o NBT (ANOVA,  $P < 0,05$ ) (Figura 18 B).

#### ***C. Sem fagocitose e com redução do NBT***

Os resultados analisados pelo teste Kruskal-Wallis, seguido pelo método de Dunn, mostraram que os fagócitos obtidos do grupo HDF aumentaram o percentual de redução do NBT na ausência da fagocitose, na comparação com o grupo HD ( $p < 0,05$ ). Não houve diferença significativa entre o controle basal e o grupo HDF ( $p > 0,05$ ), mas sim com o grupo HD (Figura 18 C).

#### ***D. Fagocitose sem redução do NBT***

Contrariamente aos resultados anteriores, o percentual de células que fagocitaram as leveduras, mas não reduziram o NBT foi maior na comparação com o grupo controle, bem como o grupo HDF (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ). Não houve diferença entre a HDF e o controle ( $p > 0,05$ ) (Figura 18 D).

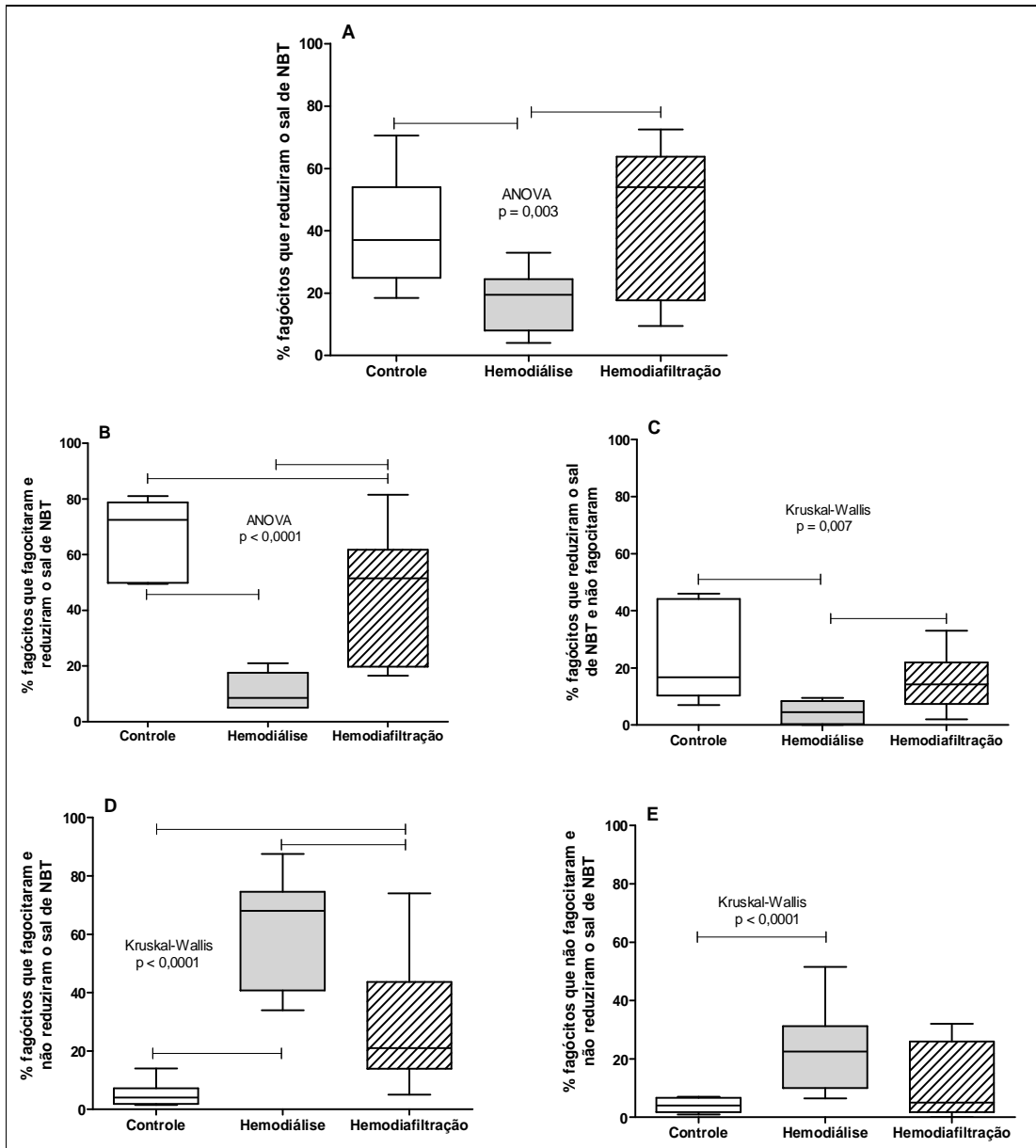
#### ***E. Sem fagocitose sem redução do NBT***

O percentual de células que não realizaram fagocitose e nem reduziram o NBT foi maior no grupo HD na comparação com o controle (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ), mas não diferiu na comparação com a HDF ( $p > 0,05$ ) (Figura 18 E)

### **4.9. Quantificação dos corpúsculos lipídicos em monócitos/macrófagos**

A formação de corpúsculos lipídicos foi avaliada em monócitos/macrófagos aderidos em lâminas de vidro, com ou sem leveduras para o estímulo das células.

Os resultados foram avaliados pelo teste de ANOVA e pelo Student-Newman-Keuls e mostraram que a HDF diminuiu o IC na comparação com a HD, pela redução na média dos CL/cél. Quando tratados com a HD, os indivíduos apresentaram maior média de CL/cél do que no controle ou quando submetidos a HDF ( $p < 0,05$ ). Os resultados mostraram também que não houve diferença entre os grupos (controle, HD e HDF) quanto ao % células com CL (ANOVA,  $p > 0,05$ ) (Tabela 5).



**Figura 18.** Percentual de células que reduziram o NBT. Os fagócitos foram obtidos do sangue periférico de indivíduos normais (controle) e portadores de DRC submetidos à HD e depois com a HDF. Em A, tem-se a redução basal (células sem estímulo), em B, C, D e E as células foram incubadas com *S. cerevisiae*. Os resultados mostraram menor % de fag. não estimulados que reduziram o NBT para a HD, comparado ao controle ou com HDF (A) (ANOVA,  $p = 0,003$ ), o mesmo foi observado para os fagócitos que reduziram o NBT e não fagocitaram (C) (Kruskal-Wallis,  $p = 0,007$ ). O %cél que reduziram o NBT e fagocitaram foi maior na HDF do que a HD, mas foi menor do que o controle (B) (ANOVA,  $p < 0,0001$ ). Houve maior %cél que fagocitaram e não reduziram o NBT na HD, comparado com HDF e com o controle (D) (Kruskal-Wallis,  $p < 0,0001$ ). O % células que não fagocitaram e não reduziram o NBT foi maior na HD, quando comparado ao controle (E) (Kruskal-Wallis,  $p < 0,0001$ ). Estão representadas as medianas, quartis, valores máximos e mínimos.

**Tabela 5.** Produção de corpúsculos lipídicos por monócitos/macrófagos do sangue periférico obtido de indivíduos portadores de DRC submetidos à HD ou HDF.

Produção de corpúsculos lipídicos monócitos/macrófagos	Basal (sem estímulo)			Estímulo - leveduras sensibilizadas com soro dos indivíduos		
	C	HD	HDF	C	HD	HDF
% Células com corpúsculos lipídicos	89±7	95±3	92±6	96±3	95±7	97±3
Média de corpúsculos/célula	5±1	5±1	4±0	8±2	9±2	7±2
Índice corpuscular	444±92	448±67	395±45	796±156	814±275	635±151

C - Controle; HD – Hemodiálise; HDF – Hemodiafiltração; Média de corpúsculos/célula: C < HD > HDF (ANOVA, p = 0,018); Índice corpuscular: HD > HDF (ANOVA, p = 0,040).

#### 4.10. Quantificação das citocinas

A produção das citocinas foi quantificada no soro dos indivíduos com IRC tratados com HD e posteriormente com a HDF; o soro de Indivíduos saudáveis foi utilizado como controle.

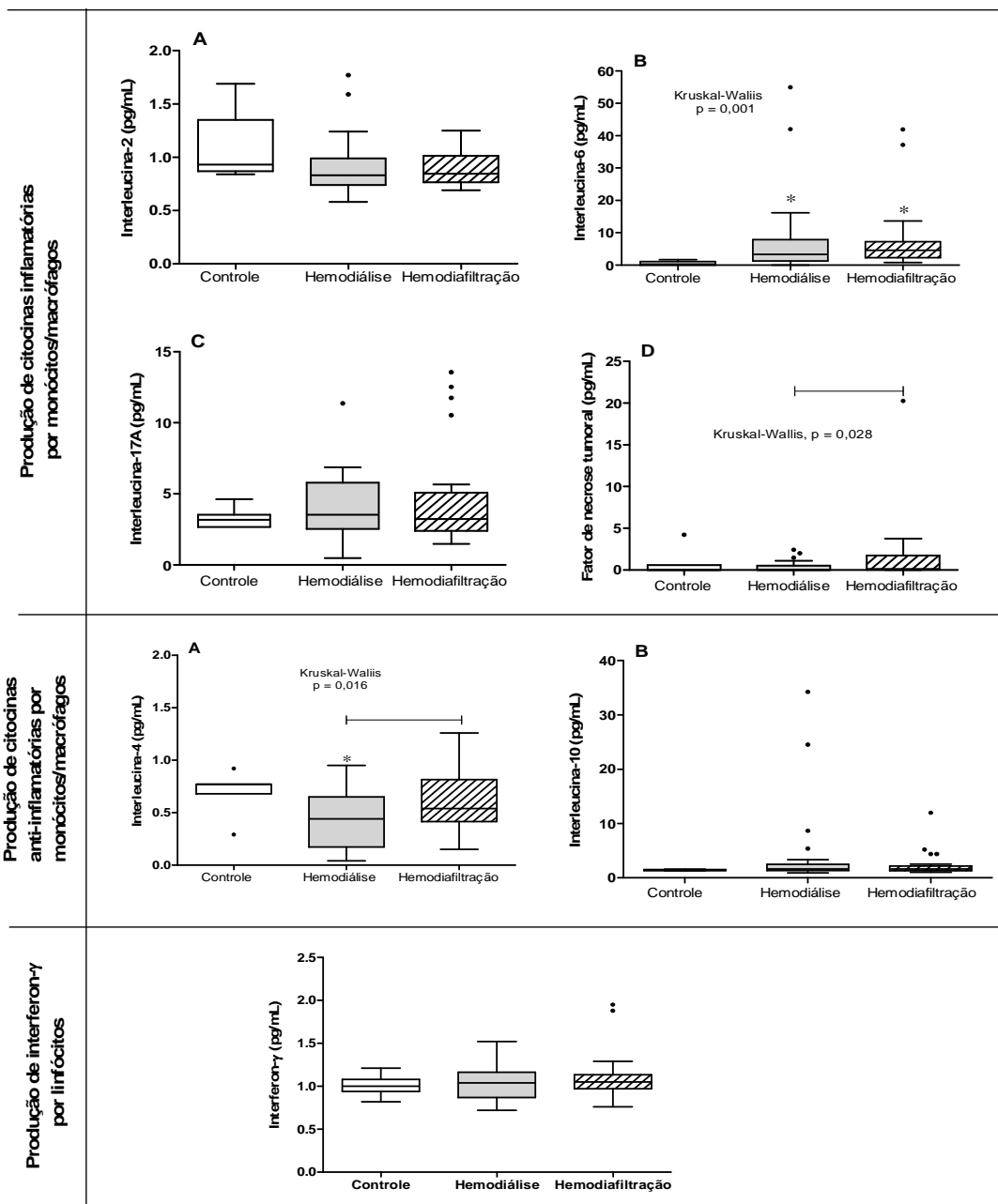
##### A. Produção de citocinas por monócitos/macrófagos

Para as citocinas inflamatórias os resultados mostraram maior produção de IL-6 nas células dos indivíduos com IRC quando tratados com os dois métodos dialíticos (HD e HDF), na comparação com o grupo controle (Kruskal-Wallis, p = 0,001). A produção de FNT foi maior com a HDF do que com a HD (Wilcoxon, p = 0,007); ambos os métodos não diferiram do controle (Kruskal-Wallis, p > 0,05). A produção de IL-2 e IL-17A não foi afetada pelos métodos dialíticos (Kruskal-Wallis, p > 0,05) (Figura 19 A, B, C, D).

Os resultados mostraram menor produção de IL-4 na HD na comparação com o controle (Kruskal-Wallis, p = 0,016) e com HDF (Teste t parado, p = 0,046). Não houve diferença entre os grupos para a produção de IL-10 (Kruskal-Wallis, p > 0,05) (Figura 19 E, F).

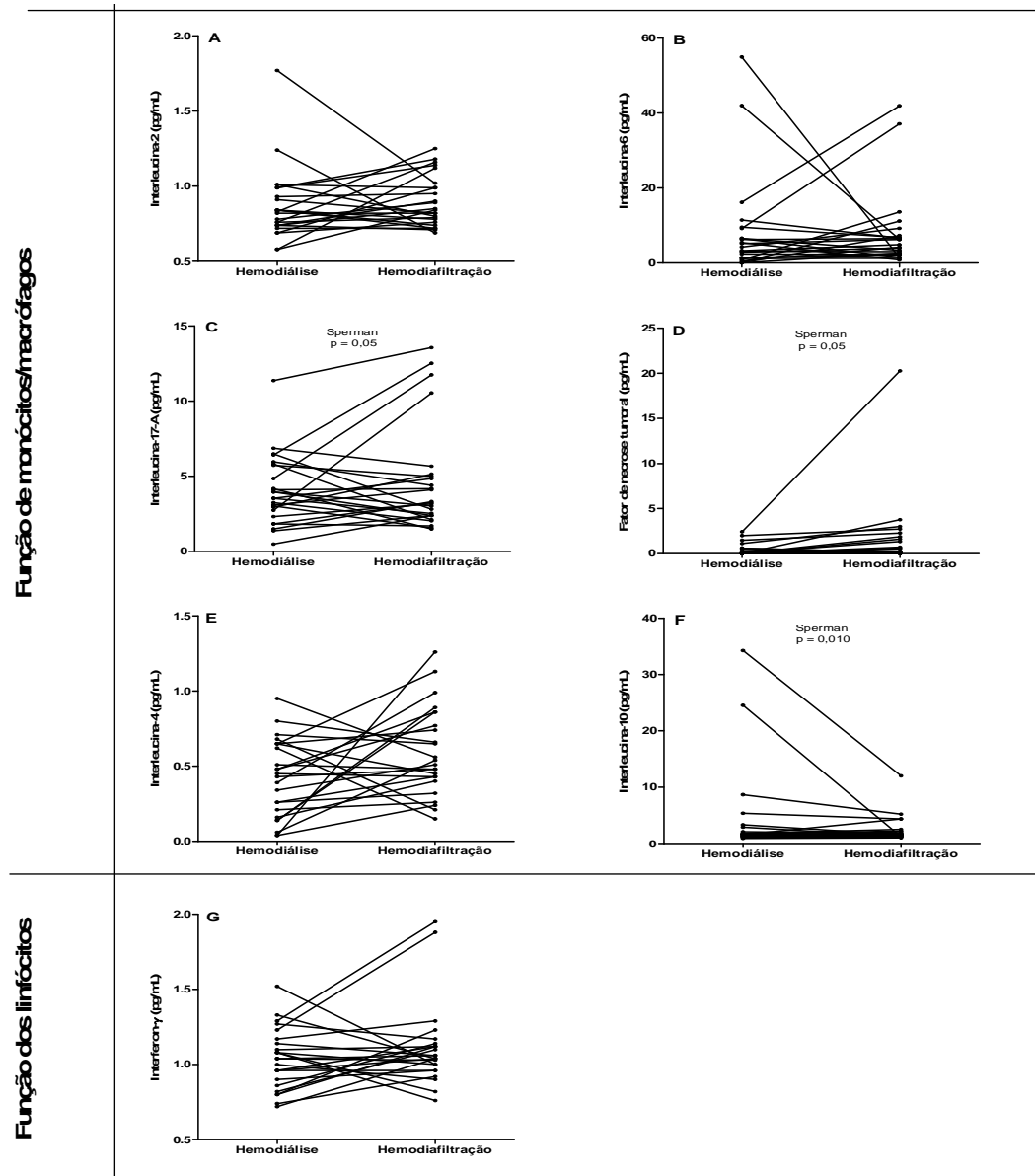
##### B. Produção de INF-γ por linfócitos

Os resultados mostraram não haver diferenças na produção do INF-γ entre os grupos controle, HD e HDF.



**Figura 19.** Produção de citocinas inflamatórias IL-2 (A), IL-6 (B), IL-17A (C) e TNF- $\alpha$  (D), IL-4 (E) e IL-10 (F) por monócitos/macrófagos e INF- $\gamma$  por linfócitos de indivíduos saudáveis (controle) e de indivíduos com DRC tratados com HD e depois com HDF. Os resultados analisados pelo teste Kruskal-Wallis e Wilcoxon, mostraram aumento de IL-6 com HD e HDF, comparado ao controle ( $p = 0,001$ ). A produção de FNT foi maior na HDF do que na HD ( $p = 0,007$ ); HD ou HDF não diferiram do controle ( $p > 0,05$ ). A produção de IL-2 e IL-17A não foi afetada pela HD ou HDF ( $p > 0,05$ ). Houve menor produção de IL-4 na HD do que o controle ( $p = 0,016$ ) ou HDF ( $p = 0,046$ ), mas não houve diferenças entre os grupos para INF- $\gamma$  ( $p > 0,05$ ). Estão representadas as medianas, quartis, valores máximos e mínimos.

A figura 20 mostra a produção individual das citocinas nos indivíduos com IRC tratados com HD e após a conversão para a HDF. Os resultados mostraram correlação positiva para a produção de IL-17A, FNT- $\alpha$  e IL-10 (Sperman,  $p < 0,05$ ) entre HD e HDF; para as demais citocinas não houve correlação entre os tratamentos (Sperman,  $p > 0,05$ ).



**Figura 20.** Produção de citocinas inflamatórias IL-2 (A), IL-6 (B), IL-17A (C) e TNF- $\alpha$  (D), IL-4 (E) e IL-10 (F) por monócitos/macrófagos e INF- $\gamma$  por linfócitos de indivíduos com DRC tratados com HD e posteriormente convertidos ao tratamento com a HDF. Os resultados mostraram correlação positiva para a produção de IL-17A, FNT- $\alpha$  e IL-10 (Sperman,  $p < 0,05$ ) entre HD e HDF; para as demais citocinas não houve correlação entre os tratamentos (Sperman,  $P > 0,05$ ). Estão mostrados os valores individuais.

#### 4.11. Sumário dos resultados

**Tabela 6.** Resumo dos resultados do estudo

Parâmetros	Descrição	Resultado	Valor de p	
Perfil dos indivíduos	Faixa etária, peso seco, Δ peso seco, tempo de HD e proporção entre os sexos x etiologia	H ≈ M	> 0,05	
	Proporção de acesso por FAV x doenças metabólicas (DM e HAS)	H > M	< 0,05	
Parâmetros hematológicos	HC, HG, VCM, HCM, ADE	HD ≈ HDF	> 0,05	
	Hematócrito e hemoglobina / Diabetes	HD < HDF	< 0,05	
	Hemoglobina / HAS	HD > HDF	< 0,05	
	Leucometria, segmentados, linfócitos, monócitos e plaquetas	HD ≈ HDF	> 0,05	
	Eritropoetina, índice de resistência à eritropoetina	HD > HDF	< 0,05	
	Ferritina, índice de saturação da transferina	HD ≈ HDF	> 0,05	
Marcadores metabólicos	Glicose	HDF > HD	< 0,05	
	Triglicerídeos, colesterol, HDL, LDL e NHDL	HD ≈ HDF	> 0,05	
Marcadores iônicos e nutricionais	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , Ca <sup>2+</sup> , vitamina D e albumina	HD ≈ HDF	> 0,05	
Marcadores de toxicidade	TGO	HD > HDF	< 0,05	
	TGP	HD ≈ HDF	> 0,05	
Marcadores inflamatórios	Ferritina, paratormônio	HD ≈ HDF	> 0,05	
	Fosfatase alcalina, β <sub>2</sub> -microglobulina, PCR	HD < HDF	< 0,05	
Capacidade fagocitária	Fagocitose por PMP (% Mon + MLev + IF)	HD < HDF ≈ C		
	Fagocitose por Opcioninas	% Mon.	HD < HDF < C	< 0,05
		MLev + IF	HD < HDF ≈ C	
Produção do radical O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Produção basal do O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	HD < HDF ≈ C		
	Com fagocitose e com produção O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	HD < HDF < C		
	Sem fagocitose e com produção O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	HD < HDF ≈ C	< 0,05	
	Com fagocitose e sem produção O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	C < HD > HDF < C		
	Sem fagocitose e sem produção O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	HD > C ≈ HDF		
Produção de corpúsculo lipídico	% Células com corpúsculos lipídicos	C ≈ HD ≈ HDF	> 0,05	
	Média de corpúsculos/célula	C < HD > HDF	< 0,05	
	Índice corpuscular	HD > HDF ≈ C	< 0,05	
Produção de citocinas	IL-2, IL-17A, IL10, INF-γ	C ≈ HD ≈ HDF	> 0,05	
	IL-4	C > HD < HDF ≈ C	< 0,05	
	IL-6	C < HD e HDF	< 0,05	
	FNT	C ≈ HD < HDF ≈ C	< 0,05	



## 5. DISCUSSÃO

## 5.1. Considerações sobre os indivíduos

Dada a ausência de proporção significativa entre as etiologias da DRC e os grupos feminino e masculino, pode-se afirmar que se trata de um grupo homogêneo, o que tem impacto na análise dos dados. Segundo Shah et al. (2018), as mulheres apresentam menor probabilidade de utilizarem de FAV em relação aos homens. Em consonância com essa observação, os dados deste estudo mostram que houve diferença significativa na proporção de mulheres com DRC de etiologia metabólica utilizando FAV.

Esse dado pode ser explicado em virtude do menor calibre das veias da população feminina, além da ação estrogênica, a qual dificulta a maturação da fístula arteriovenosa (Salmela et al. 2013). Além disso, há a questão da opção pessoal, visto que a FAV tem maior repercussão estética que o CVC (Shah et al. 2018). No sexo feminino, as trombofilias e a presença de diabetes, assim como demonstrado nesse estudo, também estão relacionados a uma diminuição da taxa da patência de FAV primária (Salmela et al. 2013). A diabetes influencia a qualidade da FAV tanto porque condiciona uma menor biodisponibilidade do óxido nítrico, por alterar sua produção e a degradação, como também, por ser um fator de risco para aterosclerose. Entretanto, ainda é controverso que a diabetes isoladamente seja um fator que predisponha baixo sucesso na FAV, uma vez que as taxas de sucesso na maturação de FAV são semelhantes entre os pacientes com diabetes e os sem diabetes, de acordo com Bashar et al. (2016).

A despeito do que foi demonstrado no grupo de pacientes estudados, esperava-se que quanto maior fosse o tempo de HD, menor seria a prevalência de FAV, em virtude de sua piora de condição atribuída à meia vida do acesso e à ocorrência de trombose e estenose. Porém não foi demonstrada essa correlação, o que pode inferir que este grupo teve maior proveito dessa modalidade.

O elevado percentual de pacientes acometidos por doenças crônico-degenerativas, principalmente DM tipo II e HAS, ainda que o estudo ocorresse com um grupo de *n* reduzido, merece atenção. Esse dado reflete como a prevalência desse tipo de doença tem aumentado e, por conseguinte, como pode gerar morbidade também do ponto de vista renal, levando pacientes à IRC e à dependência TRS. Pode-se averiguar que, nesse estudo, a principal etiologia das DRC foi DM tipo II, dados que concordam com a maioria dos países, como os

Estados Unidos (Collins et al. 2011). No entanto, segundo o Censo da Sociedade Brasileira de Nefrologia de 2022, o principal diagnóstico de base dos pacientes em diálise no Brasil é a HAS, abarcando 34% dos pacientes, e depois o diabetes mellitus, com 31%. Apesar do estudo de Aguiar et al. (2020) indicar a prevalência de pacientes com DRC e DM tipo II, cabe ressaltar que os dados desta pesquisa foram obtidos por meio de autodeclaração dos pacientes, e não por diagnóstico clínico.

Neste estudo identificou-se também a prevalência do acometimento das doenças metabólicas nos pacientes do sexo masculino, tal como Boehm et al. (2019). Esse dado pode ser explicado pela maior atenção aos cuidados com a saúde pela população do sexo feminino, levando os homens no geral a adotarem um estilo de vida menos saudável e com menor atenção à saúde. Com base no exposto, a redução da glicemia observada neste trabalho na figura 12 em pacientes submetidos à HDF é de extrema importância para a contenção e controle do avanço dessa comorbidade dentre os doentes renais crônicos.

Com relação à faixa etária, é importante discutir a indicação de iniciar hemodiálise em pacientes mais velhos. Observou-se que, entre as mulheres, a média de idade foi de 68 anos, e entre os homens, 64. Países como Canadá e Nova Zelândia defendem como o tratamento conservador não dialítico, ou mesmo a DP nos casos de TRS, pode ser mais proveitoso para a população mais velha, principalmente para pacientes que desejam manter a sua independência e poupar o tempo e o sofrimento que lhes custaria ao realizar HD (Mendes et al. 2017). Convém ainda avaliar qual a sobrevivência do paciente ao iniciar a TRS, tanto porque pacientes idosos com função renal comprometida têm maior tendência a vir a óbito por outros motivos, que não a IR, antes de decidirem se iniciam ou não a terapia (Rosansky et al. 2017).

## **5.2. Considerações sobre os parâmetros hematológicos**

Dentre as amostras analisadas neste estudo, observou-se um aumento da hemoglobina (Hb) e hematócrito (He) nos indivíduos com DM e redução da hemoglobina nos indivíduos com HAS após a conversão de HD para HDF. Apesar da variação, constata-se que ambos os resultados se mantiveram dentro da normalidade preconizada por KDIGO, com a média de Hb de 11,2 e 11,2 nos grupos

de indivíduos com diabetes e hipertensão respectivamente. Pode-se considerar uma padronização dos níveis médios de hemoglobina atingindo a média do alvo em ambos os grupos. Estes resultados são promissores especialmente para os indivíduos portadores de HAS, na qual valores mais elevados de Hb (12 a 15g/dL) estão associados a um maior risco de AVC, trombose de acesso vascular e AVE. Valores de hemoglobina inferiores a 10g/dL em indivíduos portadores de IRC representam anemia e, portanto, indivíduos com DM também são beneficiados (Maduell et al. 2013; Wiecek & Piecha, 2015).

As amostras deste estudo evidenciam também uma redução significativa na dose mensal de estimuladores de eritropoiese de 40.6 UI para 22.9 UI, além de um decréscimo de 13.6 para 7.3 no índice de resistência à EPO nos indivíduos que converteram seus tratamentos de HD para HDF. O índice de resistência à EPO está associado à inflamação crônica presente em portadores de DRC, na qual ocorre alteração metabólica da eritropoiese via citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1, TNF-alfa e IFN-gama (Mcdougall & Cooper, 2002; Deicher et al. 2003).

Estudos prévios demonstraram que a HDF está associada a uma redução da inflamação crônica em indivíduos portadores de IRC por meio da eliminação de moléculas maiores, tais como citocinas pró-inflamatórias. Dessa forma, haveria impacto direto de redução no índice de resistência a eritropoietina, permitindo doses menores de estimuladores de eritropoiese em longo prazo (Syed-Ahmed e Narayanan 2019; Mcdougall & Cooper, 2002; Deicher et al. 2003, Vaslaki et al. 2006). Em relação ao hematócrito em indivíduos hipertensos, VCM, HCM, RDW, leucócitos e plaquetas, não houve diferença estatisticamente significativa dos valores nas amostras dos pacientes com DRC após a conversão do tratamento dialítico.

### **5.3. Considerações sobre os parâmetros bioquímicos e inflamatórios**

A HDF é uma TRS que promove a filtração de moléculas de maior peso molecular quando comparada à HD devido à combinação dos processos de difusão e convecção. Com isso, há a infusão de um grande volume de fluido no sangue que passará pelo filtro e a conseqüente formação de um ultrafiltrado (Canaud et al. 2018). Não há diferença na capacidade de remoção de moléculas de baixo peso molecular entre as modalidades de HD e HDF (Blankestijn et al. 2018). Os dados

deste trabalho mostraram alterações nos seguintes marcadores bioquímicos quando ocorreu a conversão do tratamento dos pacientes para HDF: redução significativa dos níveis de  $\beta$ 2-microglobulina e TGO, e aumento significativo dos níveis de FAL e PCR.

A diminuição dos níveis dos marcadores supracitados na conversão do tratamento dialítico corrobora estudos na literatura que mostram que o *clearance* de moléculas de médio peso molecular na HDF é responsável pela redução dos processos inflamatórios decorrentes da técnica dialítica, melhorando o estado geral dos pacientes e as taxas de morbidade associadas à DRC (Canaud et al. 2018; Blankestijn et al. 2018; Vilar et al. 2009).

O primeiro marcador que sofreu redução significativa neste estudo foi a  $\beta$ 2-microglobulina. É descrito que os níveis desta proteína se elevam de 4 a 7 vezes em pacientes com DRC (Karlsson et al. 1980; Pessoa et al. 2002) e, portanto, esta redução observada nos pacientes deste estudo evidencia a importância da conversão do método para o melhor tratamento dos doentes. Outros estudos categorizam a  $\beta$ 2-microglobulina como biomarcador do estresse oxidativo, inflamação e disfunção endotelial, mas que em pacientes tratados por HDF apresentaram também redução significativa, independentemente do volume convectivo aplicado (Agbas et al. 2018; Penne et al. 2010, Santoro et al. 2008). Dessa forma, a redução dos níveis de  $\beta$ 2-microglobulina em pacientes submetidos à HDF indica que a depuração de mais solutos com peso molecular médio pode ser favorável para redução dos processos inflamatórios e condições clínicas negativas associadas à DRC.

Outro marcador que também sofreu redução significativa com a HDF foi a enzima hepática TGO, também descrita na literatura como aspartato aminotransferase (AST). Esta enzima hepática também é associada a maiores taxas de mortalidade nos pacientes em estágios mais avançados de DRC (Ravel et al. 2016). No entanto, é descrito que indivíduos com DRC que já realizam HD já possuem as taxas dessa enzima mais baixas do que em indivíduos normais (Sette & Lopes, 2014; Fabrizi et al. 2001). Apesar de alguns estudos como o de Weng et al. (2016) relatarem que as taxas desta enzima não se alteram significativamente em pacientes com DRC tratados por HDF quando comparados com HD, ainda são

necessárias mais evidências sobre o efeito da HDF neste marcador de dano hepático.

A hidrolase fosfatase alcalina (FAL) é responsável por pela hidrólise e catálise do fosfato inorgânico, um potente inibidor endógeno da calcificação. É também um parâmetro bastante investigado em pacientes renais como marcador para risco cardíaco, especialmente naqueles com idade mais avançada (Shcoppet & Shanahan, 2008; Li et al. 2014; Sciacqua et al. 2020).

Os níveis séricos de cálcio, fósforo, paratormônio (PTH) e FAL, dentre outros marcadores envolvidos no metabolismo ósseo, encontram-se alterados na IRC, levando os indivíduos acometidos à piora da condição renal, bem como complicações associadas como baixa de vitamina D, perda da densidade mineral óssea, maior exposição do indivíduo a fraturas ou ruptura de tendões (Porto et al. 2016). Neste estudo os níveis séricos de FAL aumentaram significativamente no tratamento com HDF no intervalo de 8 semanas. Este dado isoladamente não indica restrições clínicas para aplicação da técnica, visto que os níveis de PTH, fósforo, cálcio e magnésio (Figura 13) e vitamina D (Figura 14) não tiveram alteração quando houve conversão da técnica de HD para HDF. Alterações em todos estes marcadores combinados seriam indicativas de hiperparatireoidismo secundário, uma das complicações da DRC (Porto et al. 2016). No entanto, apenas a alteração na FAL isoladamente, e considerando a amostra de pacientes relativamente reduzida não apresenta indicações significativas de descontinuação do tratamento com HDF.

Outra alteração observada nos pacientes submetidos à HDF foi o aumento dos níveis de PCR. Esta proteína produzida pelo fígado é um dos principais marcadores relacionados aos processos inflamatórios, especialmente associada à DRC (Jirka et al. 2006; Canaud et al. 2018).

Diferentemente do que foi observado neste estudo, a literatura que trata dos parâmetros de pacientes para os quais houve conversão do tratamento de HD para HDF tem indicado a redução dos níveis séricos de PCR (Vilar et al. 2009; Vaslaki, et al. 2006; Filipoulos et al. 2008). No entanto, cabe ressaltar que este marcador isoladamente não pode ser avaliado como indício de estado iminente de inflamação em curso e no período de avaliação do estudo não ocorreram alterações clínicas significativas que justificassem o aumento do PCR.

#### **5.4. Considerações sobre a função fagocitária**

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciaram que a HDF influenciou a capacidade fagocitária dos monócitos pelo maior recrutamento para a fagocitose mediada pelas opsoninas, aumentando-se com isso o índice fagocitário. Quando foi avaliada a fagocitose por receptores de patógenos, não se observou diferença significativa no índice fagocitário em decorrência da conversão da técnica dialítica.

A HDF tem sido associada a uma diminuição do estado inflamatório na DRC e uma melhora na função dos granulócitos (neutrófilos) (Carracedo et al. 2006). Estudos demonstram que diversas proteínas inibitórias dos granulócitos que ficam retidas em pacientes urêmicos, e que acabam contribuindo com maior incidência de infecções, são depuradas pela técnica de HDF (Haag-Weber et al. 2000). A HDF tem sido associada a uma diminuição do estado inflamatório na DRC e uma melhora na função dos granulócitos (neutrófilos) (Carracedo et al. 2006), dessa forma, a ativação dos fagócitos e normalização da capacidade fagocitária observada na HDF reflita a depuração dessas moléculas.

Adicionalmente, correlacionando-se o aumento do índice fagocitário na fagocitose mediada por opsoninas com o aumento dos níveis de PCR, pode-se inferir que o aumento da PCR, estimule o aumento do índice fagocitário observado nos pacientes tratados com HDF.

#### **5.5. Considerações sobre a produção do radical superóxido**

A menor produção do radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) pelos fagócitos dos pacientes, quando tratados com a HD, é condizente com o maior risco a infecções (Agbas et al. 2018; Syed-Ahmed e Narayanan, 2019). Nossos resultados mostraram que 12 semanas de tratamento com a HDF aumentou a capacidade das células produzirem o  $O_2^{\bullet-}$  após a fagocitose das leveduras, refletindo na melhoria da capacidade de responder às infecções.

Klouche et al. (2017) em estudo recente com pacientes tratados por HDF também mostraram que a técnica não induziu aumento dos marcadores de estresse oxidativo. Nesse caso, é importante destacar mais um ponto de segurança na técnica como uma via de tratamento de doentes renais em substituição às outras técnicas existentes, visto que muitos parâmetros estudados se equiparam aos níveis de indivíduos normais.

## **5.6. Considerações sobre a produção de corpúsculos lipídicos**

Os corpúsculos lipídicos são inclusões citoplasmáticas formadas por triglicerídeos e ésteres de colesterol, encontrados em fagócitos, como monócitos, neutrófilos e eosinófilos em número mais expressivo nos processos inflamatórios (Bozza & Bandeira-Melo, 2005). Nessas organelas são encontradas diversas proteínas e aminoácidos, citocinas e glicoproteínas envolvidas no crescimento celular, inflamação e imunidade (Bosh et al. 2020).

Nosso estudo mostrou que a produção basal de CL não diferiu entre os grupos, no entanto, quando as células foram estimuladas, houve aumento no total de CL na HD, comparado ao controle, mas com a HDF houve retorno aos níveis do grupo controle. A HDF diminuiu o índice corpuscular na comparação com a HD, mostrando valores também semelhantes aos do grupo controle, constituído por indivíduos saudáveis. Essa diferença pode ser justificada pela inibição dos processos inflamatórios que antes eram ativados pela própria DRC e também pelo método dialítico (HD) (Maduell et al. 2013).

## **5.7. Considerações sobre a produção de citocinas e efeitos inflamatórios na HDF**

Este trabalho também quantificou uma série de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias em pacientes submetidos a HD e HDF, tanto para comparação com grupo controle de indivíduos saudáveis quanto para avaliação do efeito da HDF analisando-se individualmente cada paciente que consentiu a conversão de seu tratamento de HD para HDF. Na análise da produção individual de cada citocina, observou-se apenas um aumento na produção da citocina inflamatória TNF- $\alpha$  e na citocina anti-inflamatória IL-4. Chamou atenção nestas medidas o alto desvio padrão apresentado nos valores de IL-6 e IL-10, justamente as principais citocinas pró e anti-inflamatórias estudadas na DRC e em seus tratamentos dialíticos (Carracedo et al. 2006; Maduell et al. 2013; Klouche et al. 2017; Stenvinkel et al. 2005; Agbas et al. 2018).

Tendo em vista o número reduzido de pacientes avaliados neste estudo e considerando-se que não foram excluídas possíveis situações externas que afetassem a medida das citocinas nestes indivíduos, avaliações futuras podem ser feitas para refinamento dos dados. Além disso, há na literatura estudos que também



reportaram valores de citocinas como IL-10 e IL-6 inalterados na comparação entre as técnicas dialíticas (Klouche et al. 2017; Ojeda et al. 2020). Esse fato isoladamente pode também ser justamente um indicativo da segurança da HDF para o tratamento dos pacientes com DRC, visto que não alteraria sobremaneira parâmetros tão sensíveis como estes marcadores inflamatórios em pacientes que já se encontram em processo patológico.

No experimento utilizando a metodologia das amostras pareadas, ou seja, na mensuração dos níveis de citocinas do mesmo indivíduo que antes era tratado com HD e que converteu seu tratamento para HDF, antes e após a mudança do tratamento, observou-se uma ligeira redução na média de IL-10 e aumentos dos níveis de IL-17A e TNF- $\alpha$  (Figura 23). A tabela 3, adaptada de Barbutto et al. (2009), resume o papel das principais citocinas envolvidas na resposta imune. No caso da IL-17A, uma de suas funções é estimular a produção de outras citocinas inflamatórias, como a própria IL-6, que apesar de não demonstrar valores alterados neste estudo apresentou grandes variações entre os pacientes. TNF- $\alpha$ , dentre outras funções, é também responsável por ativar células fagocitárias. Provavelmente este dado pode estar correlacionado com o aumento do índice fagocitário que também foi observado neste trabalho.

Esse estudo mostrou que a produção basal de CL não diferiu entre os grupos, no entanto, quando as células foram estimuladas, houve aumento no total de CL na HD, comparado ao controle, mas com a HDF houve retorno aos níveis do grupo controle. A HDF diminuiu o índice corpuscular na comparação com a HD, mostrando valores também semelhantes aos do grupo controle, constituído por indivíduos saudáveis. Comparado ao grupo controle, tanto na HD quanto na HDF houve aumento da produção de IL-6 e na HD houve a redução da IL-4; paralelamente, a HDF causou maior produção de IL-4 e do FNT, na comparação com a HD. Esses achados podem refletir o aumento da capacidade dos indivíduos responderem às infecções, mas também a capacidade de modular a resposta inflamatória e anti-inflamatória.

## **6. CONCLUSÃO**

Os resultados permitiram as seguintes conclusões:

1. As etiologias mais prevalentes da DRC observadas no estudo foram DM tipo II (48%) e HAS (32%);
2. O tempo de médio de HD dos pacientes foi de  $4,7 \pm 4,9$  anos;
3. O tipo de acesso venoso predominantemente foi a fistula arteriovenosa (60%), cateter de longa duração (36%) e prótese de politetrafluoroetileno (4%).
4. O peso seco (PS) médio dos indivíduos ao final da HD foi de  $70,8 \pm 17,1$  Kg, com  $\Delta$ PS de  $0,0 \pm 1,4$  Kg.
5. Houve correlação negativa entre o tempo de HD e as idades;
6. A HDF reduziu a dose prescrita da eritropoietina, glicose, Aspartato aminotransferase,  $\beta$ 2-Microglobulina e índice de resistência à EPO, aumentou a fosfatase alcalina e proteína C reativa; a HDF não alterou a Alanina aminotransferase, triglicerídeos, lipoproteínas (baixa e alta densidade), íons ( $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ), vitamina D, albumina, ferritina e paratormônio;
7. A HDF aumentou o hematócrito e a hemoglobina (Hb) nos diabéticos, reduziu a Hb nos hipertensos e não alterou a leucometria, o leucograma, o volume corpuscular médio, a hemoglobina corpuscular média ou a amplitude de distribuição dos eritrócitos nos indivíduos com HAS ou DM-II.
8. A HDF normalizou o índice fagocitário por receptores para os PMP ou por opsoninas com 5 ou 20 leveduras/célula ( $\text{C} > \text{HD} < \text{HDF}$ ), bem como normalizou o índice corpuscular estimulado ( $\text{C} > \text{HD} < \text{HDF}$ );
9. A HDF aumentou TNF e produção de IL-4, quando comparada à HD;

10. A HDF normalizou a produção basal de  $O_2^{\bullet-}$ , bem como, normalizou sua produção na ausência de fagocitose, mas quando comparada a HD, HDF aumentou a produção de  $O_2^{\bullet-}$ , na presença ou ausência de ingestão de levedura.

O conjunto dos resultados desse estudo demonstrou que a hemodiafiltração atuou na modulação positiva da resposta imunitária inata dos indivíduos com a doença renal crônica, permitindo em alguns aspectos que esses indivíduos apresentassem resposta similar à dos indivíduos hígidos.

Considerando que a HDF é pouco utilizada no Brasil, sugere-se a continuidade dos estudos para aprimorar os parâmetros da técnica e promover maior visibilidade e aceitação pelos pacientes e comunidade médica, visando sua futura implantação no sistema público de saúde.

## **7. LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS**

O estudo foi desenvolvido com técnicas validadas visando a avaliação da resposta imune inata comparando os indivíduos em hemodiálise, que posteriormente foram tratados exclusivamente com a hemodiafiltração. Dada a complexidade desse estudo clínico considera-se alguns aspectos que podem se constituir em limitações.

Quanto à coleta das amostras sanguíneas para os ensaios imunológicos considera-se que a distância entre a clínica e o laboratório de imunologia celular da Faculdade de Medicina (~7 km) impôs dificuldades na execução dos ensaios, sobretudo, porque esses deveriam ser realizados num prazo máximo de 60 minutos após a coleta. Assim, é possível as variações nesse tempo tenham interferido nos resultados dos indivíduos.

Considerando que os indivíduos desse estudo foram plenamente assistidos por convênios privados de saúde, eram bem nutridos e tratados num centro clínico privado de excelência, é possível que os resultados obtidos aqui não sejam reproduzidos em unidades voltadas para indivíduos de menor poder aquisitivo.

Considerando que a substituição dos equipamentos utilizados na hemodiálise pelos da hemodiafiltração a reprodutibilidade desse estudo na Clínica Nephron de Brasília ficou inviabilizada.

Como perspectivas advindas desse estudo sugere-se a continuidade dos estudos clínicos para avaliar a resposta imunitária inata de uma nova coorte de indivíduos renais crônicos em centros de hemodiálise, tanto privado quanto público para correlacionar e comparar os dados epidemiológicos de ambos grupos.

Outro estudo de caráter longitudinal para avaliar a resposta imunitária inata e adaptativa com de uma nova coorte de indivíduos tratados na Clínica Nephron de Brasília, com um interstício temporal de 6 a 12 meses pode fornecer novos dados para embasar a eficácia da hemodiafiltração no tratamento de indivíduos com a DRC.

Considerando que nesse estudo a classificação quanto às comorbidades ficou prejudicada pelo menor número de indivíduos, com exceção para a hipertensão arterial sistêmica e diabetes, sugere-se novos com uma coorte de indivíduos por cada comorbidade, para avaliar o papel da hemodiafiltração - remoção de moléculas de menor tamanho - na resposta inflamatória comum nas diferentes comorbidades.

Considerando que a hemodiafiltração restringe-se a poucas unidades de tratamento, sugere-se que elaboração de cursos de extensão voltados para a equipe de empresários, médicos, enfermeiros e técnicos de enfermagem, visando a divulgar, mostrar os benefícios dessa técnica para os portadores da doença renal crônica e popularização da técnica.

## **8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



1. Ağbaş A, Canpolat N, Çalışkan S, Yılmaz A, Ekmekçi H, Mayes M, Aitkenhead H, Schaefer F, Sever L, Shroff R. Hemodiafiltration is associated with reduced inflammation, oxidative stress and improved endothelial risk profile compared to high-flux hemodialysis in children. *PLoS One*, 13 (6), 2018.
2. Aguiar LK, Prado RR, Gazinelli A, Malta DC. Fatores associados à doença renal crônica: inquérito epidemiológico da Pesquisa Nacional de Saúde. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 23, 2020.
3. Ando M, Gafvels M, Bergstrom J, Lindholm B, Lundkvist I. Uremic serum enhances scavenger receptor expression and activity in the human monocytic cell line U937. *Clinical Investigation*, 51(3): 785-92, 1997.
4. Ando M; Shibuya A, Tsuchiya K, Akiba T, Nitta K. Reduced expression of Toll-Like Receptor 4 contributes to impaired cytokine response of monocytes in uremic patients. *Kidney International*, 70 (2): 358-62, 2006.
5. Andrade MV, Junoi JP, Andrade EIG, Acurcio FA, Sesso R, Queiroz OV, Szuster DA, Gomes IC, Almeida AM, Cherchiglia ML. Allocation of Initial Modality for Renal Replacement Therapy in Brazil. *Clinical Journal of American Society of Nephrology*, 5 (4): 637-44, 2010.
6. Barbuto JA, Wastowsky IJ, Carneiro-Sampaio M, Donadi EA. *Imunologia Básica para o Clínico. In: Voltarelli JC. Imunologia Clínica na Prática Médica. Editora Atheneu, p. 3-26, 2009.*
7. Bashar K, Conlon PJ, Kheirleseed EA, Aherne T, Walsh SR, Leahy A. Arteriovenous fistula in dialysis patients: Factors implicated in early and late AVF maturation failure. *Surgeon*, 14 (5): 294-300, 2016.
8. Bastos MG, Kirsztajn GM. Doença renal crônica: importância do diagnóstico precoce, encaminhamento imediato e abordagem interdisciplinar estruturada para melhora do desfecho em pacientes ainda não submetidos à diálise. *Brazilian Journal of Nephrology. Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) e Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), Brasil*, 33 (1): 93-108, 2011.
9. Bastos RMR, Bastos MG. Tabela de cálculo imediato da filtração glomerular. *Brazilian Journal of Nephrology*, 27: 40-3, 2005.

10. Blankestijn PJ, Grooteman MP, Nube MJ, Bots ML. Clinical evidence on haemodiafiltration. *Nephrology, Dialysis and Transplantation*, 33 (suppl 3): p. 53-8, 2018.
11. Boehm M, Herzog R, Klingmuller F, Lichtenauer AM, Wagner A, Unterwurzacher M, Beelen RHJ, Alper SL, Aufricht C, Kratochwill K. The Peritoneal Surface Proteome in a Model of Chronic Peritoneal Dialysis Reveals Mechanisms of Membrane Damage and Preservation. *Frontiers in Physiology*, 10 (472), 2019.
12. Bosch M, Sánchez-Álvarez M, Fajardo A, Kapetanovic R, Steiner B, Dutra F, Moreira L, López JA, Campo R, Marí M, Morales-Paytuví F, Tort O, Gubern A, Templin RM, Curson JEB, Martel N, Català C, Lozano F, Tebar F, Enrich C, Vázquez J, Del Pozo MA, Sweet MJ, Bozza PT, Gross SP, Parton RG, Pol A. Mammalian lipid droplets are innate immune hubs integrating cell metabolism and host defense. *Science*, 370 (6514), 2020.
13. Bozza PT, Bandeira-Melo C. Mechanisms of leukocyte lipid body formation and function in inflammation. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 100 (supl. 1): 113-120, 2005.
14. Canaud B, Bragg-Gresham JL, Marshall MR, Desmeules S, Gillespie BW, Depner T, Klassen P, Port FK. Mortality risk for patients receiving hemodiafiltration versus hemodialysis: European results from the DOPPS. *Kidney International*, 69: 2087-93, 2006.
15. Canaud B, Vieken J, Ash S, Ward RA. on behalf of the Kidney Health Initiative HDF Workgroup. Hemodiafiltration to Address Unmet Medical Needs ESKD Patients. *Clinical Journal of American Society of Nephrology*, 13: 1435-43, 2018.
16. Carracedo J, Merino A, Noguerras S, Carreto D, Berdud I, Ramirez R, Tetta C, Martin-Malo A, Aljama P. On-Line Hemodiafiltration Reduces the Proinflammatory CD14+CD16+ Monocyte-Derived Dendritic Cells: A Prospective, Crossover Study. *Journal of American Society of Nephrology*, 17 (8): 2315-21, 2006.

17. Catron DM, Itano AA, Pape KA, Mueller DL, Jenkins MK. Visualizing the First 50 Hr of the Primary Immune Response to a Soluble Antigen. *Immunity*, 21 (3): 341-47, 2004.
18. Censo SBN 2022. <https://www.censo-sbn.org.br/censosAnteriores> in 06/ 05/ 2023.
19. Chaudary K, Shanga H, Khanna R. Peritoneal Dialysis First: Rationale. *Clinical Journal of American Society of Nephrology*, 6: 447– 56, 2011.
20. Cherchiglia ML, Machado EL, Szuster DA, Andrade EIG, Acúrcio FA, Caiaffa WT, Sesso R, Junior AAG, Queiroz OV, Gomez IC. Epidemiological profile of patients on renal replacement therapy in Brazil, 2000-2004. *Revista Brasileira de Saúde Pública*, 44 (4): 639- 49, 2010.
21. Collins AJ, Foley RN, Gilbertson DT, Chen SC. United States Renal Data System public health surveillance of chronic kidney disease and end-stage renal disease. *Kidney International Supplement*, 5 (2015): 2-7, 2011.
22. Cruvinel WM, Junior DM, Araujo JAP, Catelan TTT, De Souza AWS, Da Silva NP, Andrade LEC. Sistema imunitário - Parte I. Fundamentos da Imunidade Inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 50 (4): 434-61, 2010.
23. Deicher R, Ziai F, Cohen G, Muller M, Horl WH. High-dose parenteral iron sucrose depresses neutrophil intracellular killing capacity. *Kidney International*, 64 (2): 728-36, 2003.
24. Drukker W. Haemodialysis: A Historical Review. In: MAHER J.F. (eds) *Replacement of Renal Function by Dialysis*. Springer, Dordrecht, 1989.
25. Fabrizi F, Lunghi G, Finazzi S, Colucci P, Pagano A, Ponticelli C, Locatelli F. *American journal of kidney diseases*, 38(5): 1009-1015, 2001.
26. Fernandes N, Bastos RMR, Bastos MG. Diagnóstico da doença renal crônica a partir da filtração glomerular estimada: CKD-EPI ou MDRD (Resumo). *Congresso Brasileiro de Nefrologia*, 506, 2010.

27. Filiopoulos V, Hadiyannakos D, Metaxaki P, Sideris V, Takouli L, Anogiati A, Vlassopoulos D. Inflammation and oxidative stress in patients on hemodiafiltration. *American journal of nephrology*, 28 (6): 949-957, 2008.
28. França RA, Esteves ABA, Borges CM, Quadros KRS, Falcão LCN, Caramori JCT, De Oliveira RB. Acúmulo dos produtos finais da glicação avançada (AGEs) na pele: relações com o distúrbio mineral e ósseo na doença renal crônica. *Brazilian Journal of Nephrology*, 39(3): 253-260, 2017.
29. Guzzi F, Cirillo L, Roperto RM, Romagnini P, Lazzeri E. Molecular Mechanisms of the Acute Kidney Injury to Chronic Kidney Disease Transition: An Updated Review. *International Journal of Molecular Science*, 20 (4941): 1-15, 2019.
30. Haag-Weber M, Cohen G, Hörl WH. Clinical significance of granulocyte-inhibiting proteins. *Nephrology, Dialysis and Transplantation*, 15 (Suppl 1): 15-26, 2000.
31. Hampers CL & Schupak E. *La hemodiálisis prolongada*, Barcelona, Ed. Científico-Médica, 1970.
32. Heidari B. C-reactive protein and other markers of inflammation in hemodialysis patients. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 4 (1): 611-6, 2013.
33. Herold KC. Achieving antigen-specific immune regulation. *Journal of Clinical Investigation*, 113 (3): 346-9, 2004.
34. Jirka T, Cesare S, Di Benedetto A, Perera CM, Ponce P, Richards N, Tetta C, Vaslaky L. Mortality risk for patients receiving hemodiafiltration versus hemodialysis. *Kidney international*, 70 (8):1524-1524, 2006.
35. Joffre O, Nolte MA, Sporn RE, Sousa CR. Inflammatory signals in dendritic cell activation and the induction of adaptive immunity. *Immunological Reviews*, 227: 234-47, 2009.
36. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *American Journal of Kidney Diseases*, 39 (Suppl 2):S1-S246, 2002.

37. Karlsson FA, Groth T, Sege K, Wibell L, Peterson PA. Turnover in Humans of Beta 2 Microglobulin: The Constant Chain of HLA-Antigens. *European Journal of Clinical Investigation*, 10 (4): 293-300, 1980.
38. Khan IH, Catto GR. Long-term complications of dialysis. *Infection*. Department of Medicine and Therapeutics. University of Aberdeen, Scotland, United Kingdom, 1993.
39. Klouche K, Amigues L, Morena M, Brunot V, Dupuy AM, Jausset A, Picot MC, Besnard N, Daubin D, Cristol JP. On-line hemodiafiltration did not induce an overproduction of oxidative stress and inflammatory cytokines in intensive care unit-acute kidney injury. *BMC Nephrology*, 371 (18): 1-8, 2017.
40. Li J W, Xu C, Fan Y, Wang Y, Xiao YB. Can serum levels of alkaline phosphatase and phosphate predict cardiovascular diseases and total mortality in individuals with preserved renal function? A systemic review and meta-analysis. *PLoS One*, 9, 2014.
41. Liew, Pei Xiong, and Paul Kubes. "The Neutrophil's Role During Health and Disease." *Physiological Reviews* 99.2: 1223-248, 2019.
42. Locatelli F, Manzoni C, Viganò S, Cavalli A, Di Filippo L. Hemodiafiltration—state of the art. *Contributions to Nephrology*, 168: 5-18, 2011.
43. Macdougall IC, Cooper AC. Erythropoietin resistance: the role of inflammation and pro-inflammatory cytokines. *Nephrology Dialysis and Transplantation*, 17:39-43, 2002.
44. Macdougall IC, Cooper AC. Erythropoietin resistance: the role of inflammation and pro-inflammatory cytokines. *Nephrology, Dialysis and Transplantation*, 17 (suppl 11): 39-43, 2002.
45. Maduell F. Is There an 'Optimal Dose' of Hemodiafiltration? *Blood Purification*. 40 (Suppl 1): 17-23, 2015.
46. Maduell F, Del Pozo C, Garcia H, Sanchez L, Hdez-Jaras J, Albero MD, Calvo C, Toregosa I, Navarro V. Change from conventional to on-line hemodiafiltration. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 14: 1202-07, 1999.

47. Maduell F, Moreso F, Pons M, Ramos R, Mora-Macià J, Carreras J, Soler J, Torres F, Campistol JM, Martinez-Castelao A. High-Efficiency Postdilution Online Hemodiafiltration Reduces All-Cause Mortality in Hemodialysis Patients. *Journal of American Society of Nephrology*, 24: 487–97, 2013.
48. Marks KJ, Hartman TJ, Judd SE, Illori TO, Cheung KL, Gutierrez OM, Goodman M, Cushman M, McClellan WM. Dietary Oxidative Balance Scores and Biomarkers of Inflammation among Individuals with and without chronic kidney disease. *Nephron extra*, 8 (2): 11-23, 2018.
49. Martins MA, Carilho FJ, Alves VA, De Castilho EA, Cerri GG. *Clínica Médica: Doenças Hematológicas, Oncologia, Doenças Renais e Geniturinárias*. 1ª Edição, Manole, 3, FMUSP, 2009.
50. Medzhitov R, Janeway C. Jr. Innate immunity. *New England Journal of Medicine*, 343: 338-44, 2000.
51. Mendes ML, Alves CA, Bucuvic EM, Dias DB, Ponce D. Diálise Peritoneal como primeira opção de tratamento dialítico de início não planejado. *Brazilian Journal of Nephrology*, 39 (4): 441- 6, 2017.
52. Morena M, Cristol J-P, Senecal L, Leray-Moragues H, Krieter D, Canaud B. Oxidative stress in hemodialysis patients: is NADPH oxidase complex the culprit? *Kidney International*, 61: 109-14, 2002.
53. Nongnuch A, Ngampongpan W, Srichatrapimuk S, Wongsas A, Thongpraphai S, Boonarkart C, Sanmeema N, Chittaganpitch M, Auewarakul P, Tassaneetrithep B, Davenport A, Phuphuakrat A. Immune response to influenza vaccination in ESRD patients undergoing hemodialysis vs. hemodiafiltration. *PLOS One*. *In Press*, 2020.
54. Nordio M, Limido A, Maggiore U, Nichelatti M, Postorino M, Quintaliani G. Italian Dialysis and Transplantation Registry. Survival in patients treated by long-term dialysis compared with de general population. *American Journal of Kidney Diseases*, 59(6): 819-28, 2012.
55. Ojeda R, Arias-Guillén M, Gómez M, Vera M, Fontseré N, Rodas LM, Filella X, Reverter JC, Lozano F, Villamor N, Maduell F. Study of Biocompatibility of Membranes in Online Hemodiafiltration. *Blood Purification*, 49: 400 – 408, 2019.

56. Oreopoulos DG, Ossareh S, Thodis E. Peritoneal Dialysis: Past, Present and Future. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 2:171-182, 2008.
57. Pearson RM, Casey RM, Hughes KR, Miller SD, Shea LD. In vivo reprogramming of immune cells: Technologies for induction of antigen-specific tolerance. *Advanced Drug Delivery Review*, 114: 240-55, 2017.
58. Pecoits-Filho R, Larkin J, Poli-De-Figueiredo CE, Cuvello-Neto AL, Barra ABL, Gonçalves PB, Sheth S, Guedes M, Han M, Calice-Silva V, De Castro MCM, Kotanko P, De Moraes TP, Raimann JG, Canziani MEF. Effect of hemodiafiltration on measured physical activity: primary results of the HDFIT randomized controlled trial. *Nephrology, dialysis and transplantation*. In press. 1-13, 2020.
59. Penne EL, Van Der Weerd NC, Van Den Dorpel MA, Grooteman MP, Lévesque R, Nubé MJ, Bots ML, Blankestijn PJ, Ter Wee PM; CONTRAST Investigators. Short-term effects of online hemodiafiltration on phosphate control: a result from the randomized controlled Convective Transport Study (CONTRAST). *American Journal of Kidney Disease*, 55 (1): 77-87, 2010.
60. Pessoa CLC, Junior CTS, Monteiro NP. Importância de dosagem de beta 2 microglobulina em líquidos pleurais. *Revista Portuguesa de Pneumologia*, 3: 10-18, 2002.
61. Porto RA, Truite MR, Bucharles SEG, Hauser AB. Hiperparatireoidismo secundário: uma complicação da Doença Renal Crônica. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2016.
62. Disponível em <http://www.rbac.org.br/artigos/hiperparatireoidismo-secundario-uma-complicacao-da-doenca-renal-cronica-48n-3/>
63. Ravel V, Streja E, Molnar MZ, et al. Association of aspartate aminotransferase with mortality in hemodialysis patients. *Nephrology, Dialysis and Transplantation*, 31(5): 5814-822, 2016.
64. Rayner HC, Pisoni RL, Bommer J, Canaud B, Hecking E, Locatelli F, Piera L, Bragg-Gresham JL, Feldman HI, Goodkin DA, Gillespie B, Wolfe RA, Held PJ, Port FK. Mortality and hospitalization in haemodialysis patients in five European

- countries: Results from the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *Nephrology Dialysis Transplantation*, 19: 108–20, 2004.
65. Regidor DL, Kovesdy CP, Mehrotra R, Rambod M, Jing J, Mcallister CJ, Van Wyck D, Kopple JD, Kalantar-Zadeh K. Serum Alkaline Phosphatase Predicts Mortality among Maintenance Hemodialysis Patients. *JASN*, 19 (11): 2193-2203, 2008.
  66. Rocchetta F, Solini S, Mister M, Cassis P, Noris M, Remuzzi G, Aiello S. Erythropoietin enhances immunoestimulatory properties of immature dendritic cells. *Clinical and Experimental Immunology*, 165 (2); 202-10, 2011.
  67. Rosansky SJ, Schell J, Shega J, Scherer J, Jacobs L, Couchoud C, Crews D, Mcnabney M. Treatment decisions for older adults with advanced chronic kidney disease. *BMC Nephrology*, 8, 2017.
  68. Ruggenenti P, Gaspari F, Perna A, Remuzzi G. Cross sectional longitudinal study of spot morning urine protein:creatinine ratio, 24-hour urine protein excretion rate, glomerular filtration rate, and end stage renal failure in chronic renal disease in patients without diabetes. *British Medical Journal*, 316: 504-509, 1998.
  69. Salmela B, Hartman J, Peltonen S, Alback A, Lassila R. Thrombophilia and Arteriovenous Fistula Survival in ESRD. *Clinical Journal of American Society of Nephrology*, v.8: 962-968, 2013.
  70. Santoro A, Mancini E, Bolzani R, Boggi R, Cagnoli L, Francioso A, Fusaroli M, Piazza V, Rapanà R, Strippoli GF. The effect of on-line high-flux hemofiltration versus low-flux hemodialysis on mortality in chronic kidney failure: a small randomized controlled trial. *American Journal of Kidney Disease*, 52 (3): 507-18, 2008.
  71. Satomura A, Endo M, Ohi H, Sudo S, Ohsawa I, Fujita T, Matsushita M, Fujita T. Significant elevations in serum mannose-binding lectin levels in patients with chronic renal failure. *Nephron*, 92 (3): 702-4, 2001.
  72. Sayed-Ahmed M, Narayanan M. Immune dysfunction and risk of infection in chronic kidney disease. *Advanced Chronic Kidney Disease*, 26 (1): 8-15, 2019.



73. Schoppet M, Shanahan CM. Role for alkaline phosphatase as an inducer of vascular calcification in renal failure. *Kidney International*, 73: 989–991, 2008.
74. Sciacqua A, Tripepi G, Perticone M, Cassano V, Fiorentino TV, Pititto GN, Maio R, Miceli S, Andreozzi F, Sesti G, Perticone F. Alkaline phosphatase affects renal function in never-treated hypertensive patients: effect modification by age. *Scientific Reports*, 10 (9847), 2020.
75. Sette LHBC, Lopes EPA. Liver enzymes serum levels in patients with chronic kidney disease on hemodialysis: a comprehensive review. *Clinics*, 69(4), 2014.
76. Shah S, Leonard AC, Meganathan K, Thakar CV. Gender and Racial Disparities in initial hemodialysis access and outcomes in incident end-stage renal disease patients. *American Journal of Nephrology*, 48: 4-14, 2018.
77. Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, Lindholm B, Pecoits-Filho R, Riella M, Reimburger O, Cederholm T, Girndt M. IL-10, IL-6 and TNF- $\alpha$ : Central factors in the altered cytokine network of uremia - The good, the bad and the ugly. *Kidney International*, 67(4): 1216-33, 2005.
78. Syed-Ahmed M, Narayanan M. Immune Dysfunction and Risk of Infection in Chronic Kidney Disease. *Advanced Chronic Kidney Disease*, 26(1): 8-15, 2019.
79. Teschner M, Heidland A, Klassen A, Sebekova K, Bahner U. Georg Ganter-a pioneer of peritoneal dialysis and his tragic academic demise at the hand of the Nazi regime. *Journal of Nephrology*, 17: 457-60, 2004.
80. Thomé FS, Sesso RC, Lopes AA, Lugon JR, Martins CT. Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2017. *Brazilian Journal of Nephrology*, 41(2): 208-14, 2019.
81. Varella PPV, Forte WCN. Citocinas: Revisão. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*, 24(4): 146-54, 2001.
82. Vaslaki L, Major L, Berta K, Karatson A, Misz M, Pethoe F, Ladany E, Fodor B, Stein G, Pischetsrieder M, Zima T, Wojke R, Gaulty A, Passlick-Deetjen J. On-line haemodiafiltration versus haemodialysis: stable haematocrit with less erythropoietin and improvement of other relevant blood parameters. *Blood purification*, 24 (2): 163-173, 2006.

83. Vianna HR, Soares CMBM, Tavares MS, Teixeira MME, Silva ACS. Inflammation in chronic kidney disease: the role of cytokines. *Brazilian Journal of Nephrology*, 33 (3): 351-64, 2011.
84. Vilar E, Fry AC, Wellsted D, Tatersall JE, Greenwood RN, Farrington K. Long-term outcomes in online hemodiafiltration and high-flux hemodialysis: a comparative analysis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 4 (12): 1944-1953, 2009.
85. Ward R A, Vieken J, Silverstein DM, Ash S, Canaud B. on behalf of the Kidney Health Initiative HDF Workgroup. Regulatory Considerations for Hemodiafiltration in the United States. *Clinical Journal of American Society of Nephrology*, 13: 1444-49, 2018.
86. Weng, Cheng-Hao MD; Hsu, Ching-Wei MD; Hu, Ching-Chih MD; Yen, Tzung-Hai MD, PhD; Huang, Wen-Hung MD. Association Between Hemodiafiltration and Hypoalbuminemia in Middle-Age Hemodialysis Patients. *Medicine* 95(15): 3334, 2016.
87. Wiecek A, Piecha G. Is haemodiafiltration more favourable than haemodialysis for treatment of renal anaemia? *Nephrology, dialysis and transplantation*, 30 (4): 523-25, 2015.


## **9. ANEXOS**


## 9.1 PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

formabrasil.saude.gov.br/visao/pesquisador/genirPesquisa/genirPesquisaAgrupador.jsf


**DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Avaliação dos benefícios da hemodiafiltração sobre a atividade fagocitária em sangue periférico.  
 Pesquisador Responsável: FLAVIO JOSÉ DUTRA DE MOURA  
 Área Temática: Novos procedimentos terapêuticos invasivos;  
 Versão: 2  
 CAAE: 16921313.5.0000.0030  
 Submetido em: 07/06/2013  
 Instituição Proponente: Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília - UNB  
 Situação da Versão do Projeto: Aprovado  
 Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável  
 Patrocinador Principal: FUNDACAO UNIVERSIDADE DE BRASILIA




Comprovante de Recepção:  PB\_COMPROVANTE\_RECEPCAO\_169213


**LISTA DE PESQUISADORES DO PROJETO**

CPF/Documento	Nome	Atribuição	E-mail	Currículo	Tipo de Análise	Ação
997.485.177-72	FLAVIO JOSÉ DUTRA DE MOURA	Contato Científico, Contato Público, Pesquisador principal	fmoura2003@yahoo.com.br	<a href="#">Lattes</a> <a href="#">CV</a>	PROPONENTE	

**LISTA DE COMITÊS DE ÉTICA DO PROJETO**

Comitê de Ética	Tipo de Vínculo	Ação
30 - UnB - Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília	COORDENADOR	

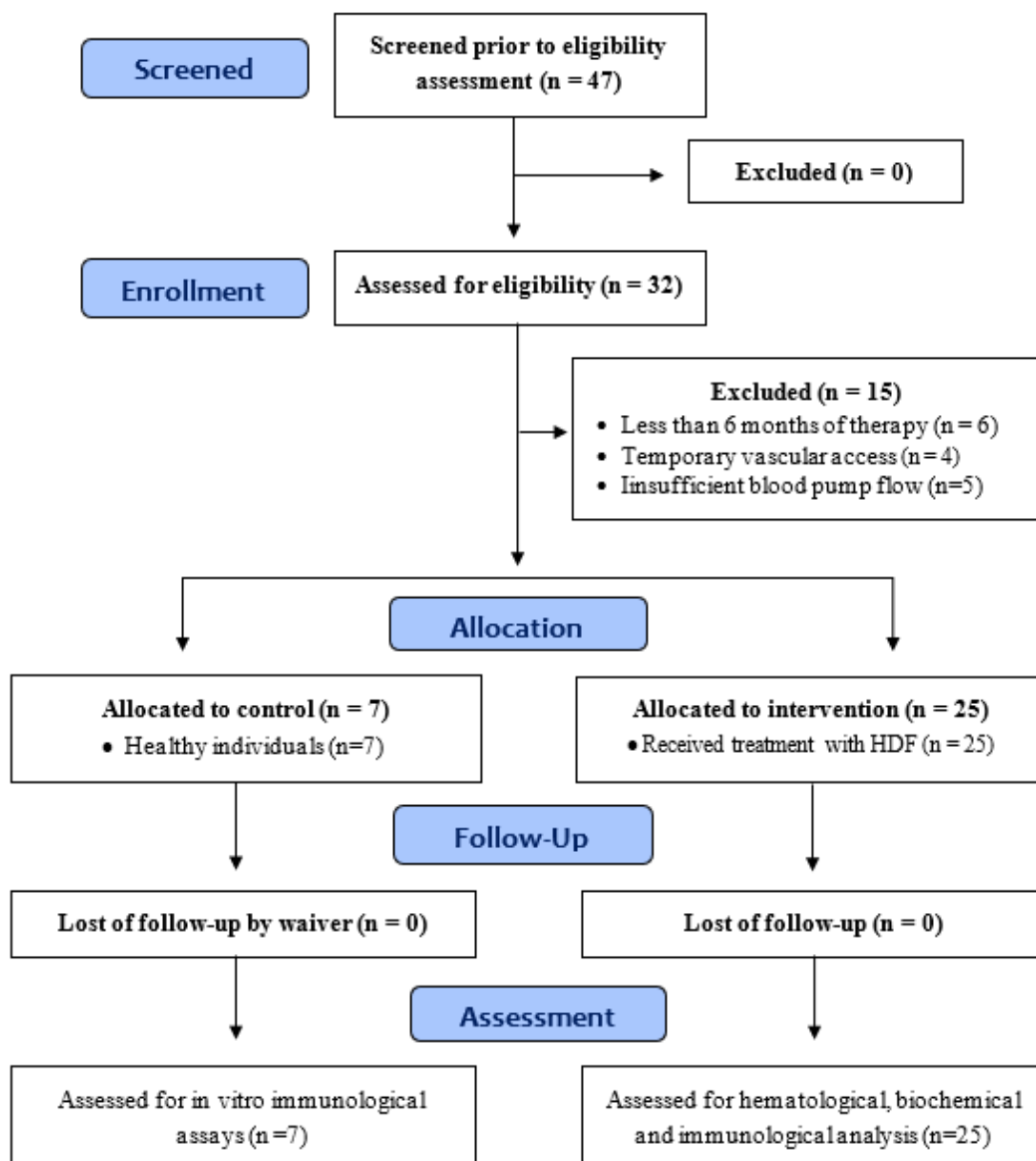
**LISTA DE INSTITUIÇÕES DO PROJETO**

CHPJ da Instituição	Razão Social	Tipo de Instituição	Comitê de Ética	Ação
Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília - UNB	Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília - UNB	PROPONENTE	5558 - UnB - Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília	

**LISTA DE PROJETOS RELACIONADOS**

Tipo	CAAE	Versão	Pesquisador Responsável	Comitê de Ética	Instituição	Origem	Última Apreciação	Situação	Ação
P	16921313.5.0000.0030	2	FLAVIO JOSÉ DUTRA DE MOURA	30 - UnB - Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília	Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília - UNB	PO	PO	Aprovado	

## 9.2. FLUXOGRAMA DO ESTUDO CLÍNICO



## 9.3. ARTIGO PUBLICADO



### Conversion from Hemodialysis to Hemodiafiltration affects the Innate Immunity of Individuals with Chronic Kidney Disease

Flávio José Dutra de Moura<sup>\*</sup>, David da Silva Nunes, Beatriz Guterres Rodrigues de Sousa, Jaqueline Santos Ribeiro, Jonas Gonzaga do Nascimento, Amanda Macedo, Eloah Soares Povill Souza, Marcus Henrique Oliveira, Fernando Fontes de Souza, Vanessa Simioni Faria, Shirley Claudino Pereira Couto, Tatiana Karla de Santos Borges, Joel Paulo Russomano Veiga, Selma Aparecida Souza Kuckelhaus

Department of Medicine, University of Brasilia, Brazil

#### ABSTRACT

**Background:** Once a diagnosis of chronic kidney disease (CKD) stage 5 is confirmed, possible treatments include kidney replacement therapies, such as hemodialysis (HD) and hemodiafiltration (HDF). HD removes low-molecular-weight molecules, while HDF purges small and large molecules, favoring the reduction of oxidative stress.

**Objectives:** This study evaluated the hematological, biochemical and immunological parameters of individuals with CKD treated with HD who later converted to HDF.

**Methods:** This is a descriptive, retrospective and comparative study carried out with 25 individuals whose HD treatment was later converted to HDF (convenience sample).

**Results:** Data were analyzed in blood samples (cells and serum). Patient's etiologies were type II Diabetes Mellitus (DM) (48%) and Systemic Arterial Hypertension (SAH) (32%). HDF reduced serum levels of erythropoietin (EPO), glucose, aspartate aminotransferase, and  $\beta_2$ -microglobulin and the EPO resistance index and increased levels of alkaline phosphatase and C-reactive protein. HDF normalized the phagocytic index with 5 or 20 yeasts/cell and normalized the stimulated corpuscular index but increased TNF and IL-4 production compared to HD.

Furthermore, HDF normalized the basal production of  $O_2$  and its production in the absence of phagocytosis, but when compared to HD, HDF increased the production of  $O_2$  in the presence or absence of yeast ingestion.

**Conclusion:** Our results indicate that HDF is efficient in treating patients with CKD by improving most of immunological markers and maintaining the treatment efficacy. Considering that HDF is rarely used in Brazil, this a study is suggested to promote greater visibility and acceptance of HDF among patients and the medical community, aiming at its future implementation in the public health system.

**Key Words:** Blood cells; Biomarkers; Hemodiafiltration; Hemodialysis; Chronic Kidney Disease

#### INTRODUCTION

Chronic Kidney Disease (CKD) is commonly characterized by a low glomerular filtration rate ( $<60$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>) associated with proteinuria, tissue damage in the kidneys and time of clinical manifestation [1]. The National Kidney Foundation defined CKD as an abnormality of kidney structure or function regardless of cause or specific clinical presentation and proposed a

staging system based on the level of glomerular filtration rate (Stages I to V) [2]. CKD has high mortality rates, making it a challenge for public and private health systems worldwide [3]. In Brazil, it is estimated that 1.42% of the population has CKD [4].

Among the available kidney replacement therapies (KRTs), hemodialysis (HD) is widespread in Brazil, while hemodiafiltration

**Received:** 07-April-2023

**Manuscript No:** IPAAD-23-15792

**Editor assigned:** 10-April-2023

**PreQC No:** IPAAD-23-16097 (PQ)

**Reviewed:** 24-April-2023

**QC No:** IPAAD-23-16097

**Revised:** 01-May-2023

**Manuscript No:** IPAAD-23-16097 (R)

**Published:** 08-May-2023

**DOI:** 110.36648/2321-547X.11.06

**Corresponding author** Flávio José Dutra de Moura, Department of Medicine, University of Brasilia, Brazil, E-mail: fjdmoura@gmail.com

Citation de Moura FJD, Nunes DD, de Sousa BGR, Ribeiro JS, do Nascimento JG, et al. (2023) Conversion from Hemodialysis to Hemodiafiltration Affects the Innate Immunity of Individuals with Chronic Kidney Disease. Am J Adv Drug Deliv. 11:06.

**Copyright** © 2023 Moura EJD, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited