

Luís Henrique Bezerra Cavalcanti Sette

Enzimas Hepáticas, Marcadores de Estresse Oxidativo e de
Inflamação em Pacientes com Doença Renal Crônica em Tratamento
Conservador

Recife

2013

Luís Henrique Bezerra Cavalcanti Sette

Enzimas Hepáticas, Marcadores de Estresse Oxidativo e de
Inflamação em Pacientes com Doença Renal Crônica em Tratamento
Conservador

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Saúde do
Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Pernambuco
como parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Ciências da Saúde

Orientador: Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Recife

2013

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

- S495e Sette, Luís Henrique Bezerra Cavalcanti.
 Enzimas hepáticas, marcadores de estresse oxidativo e de
 inflamação em pacientes com doença renal crônica em tratamento
 conservador / Luís Henrique Bezerra Cavalcanti Sette. – Recife: O autor,
 2013.
 105 f.: il.; tab.; gráf.; 30 cm.
- Orientador: Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto.
 Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco,
 CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2013.
 Inclui referências, apêndices e anexos.
1. Aspartato aminotransferase. 2. Alanina aminotransferase. 3.
 Insuficiência renal crônica. 4. Gama-glutamilttransferase. 5. Estresse
 oxidativo. I. Lopes Neto, Edmundo Pessoa de Almeida (Orientador). II.
 Título.

610 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2013-131)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

RELATÓRIO DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO LUIS HENRIQUE BEZERRA CALVACANTI SETTE ALUNO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, TURMA INICIADA EM 2011 (DOIS MIL E ONZE)

Às nove horas do dia trinta e um de julho de dois mil e treze, no Auditório do Prédio das Pós-Graduações do CCS, tiveram início, pelo Coordenador do Curso, Prof^o. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho, o trabalho de Defesa de Dissertação, do mestrando Luis Henrique Bezerra Cavalcanti Sette, para obtenção do **Grau de Mestre em Ciências da Saúde** do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. A Comissão Julgadora eleita pelo Colegiado do Curso e homologada pelas Câmaras de Pesquisa e Pós-Graduação foi formada pelos professores: **Dr^a Ana Lucia Coutinho Domingues** na qualidade de Presidente, do Departamento de Medicina Clínica da UFPE, **Dr^a Vera Magalhães da Silveira**, do Departamento de Medicina Tropical da UPE e **Dr^a Andréa Lemos Bezerra de Oliveira**, do Departamento de Fisioterapia da UFPE. A Dissertação apresentada versou sobre: **“Enzimas Hepáticas e Marcadores de Estresse Oxidativo em Pacientes com Doença Renal Crônica”**, tendo como orientador o Prof. Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto, do Departamento de Medicina Clínica da UFPE. Após a explanação de 30 minutos feita pelo candidato, justificando a escolha do assunto, objetivos da Dissertação, metodologia empregada e resultados obtidos, ilustrados com diapositivos, foram realizadas as arguições pela Banca Examinadora, todos no tempo regulamentar e respondido pela candidata. Ao término das arguições, a Banca avaliou em secreto e proferiu o seguinte resultado: _____ . Nada mais havendo a registrar, foram encerrados os trabalhos, do que, para constar, foi elaborado o presente relatório que vai assinado pelo Senhor Presidente e demais membros da Comissão Julgadora. Recife, 31 de julho de 2013.

Prof. Dr. Ana Lucia Coutinho Domingues (Presidente)

Prof. Dr. Vera Magalhães da Silveira

Prof. Dr. Andréa Lemos Bezerra de Oliveira



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Sílvio Romero Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

COORDENADOR

Prof. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho

VICE- COORDENADOR

Prof. Dr. Brivaldo Markman Filho

CORPO DOCENTE

Prof^a. Ana Lúcia Coutinho Domingues

Prof^a Ângela Luiza Branco Pinto Duarte

Prof. Brivaldo Markman Filho

Prof^a Cláudia Diniz Lopes Marques

Prof. Décio Medeiros Peixoto

Prof. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira

Prof. Edgar Guimarães Victor

Prof. Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Prof. Emanuel Sávio de Cavalcanti Sarinho

Prof^a. Heloísa Ramos Lacerda de Melo

Prof. Hilton Justino de Oliveira

Prof. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira

Prof. José Ângelo Rizzo

Prof. Lucio Villar Rabelo Filho

Prof^a Romualda Castro do Rêgo Barros

Prof. Sandro Gonçalves de Lima

Prof^a. Simone Cristina Soares Brandão

DEDICATÓRIA

Aos meus pais que sempre me estimularam e ensinaram a essência da vida

*À minha esposa Cecília e aos meus filhos Felipe e Eduardo pelo amor e apoio incondicionais,
fontes da minha felicidade.*

Ao meu irmão gêmeo Jorge, sempre ao meu lado em tudo, mesmo distante

Ao meu irmão Bruno por sempre estimular o raciocínio científico como base para verdade

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Edmundo Lopes pela paciência, dedicação e ensinamentos que levarei como exemplos para toda vida.

Aos pacientes pela colaboração, confiança, paciência e disponibilidade em participar desta pesquisa.

A todos da Disciplina de Nefrologia, especialmente a Dra. Lucila Valente, pelo incentivo e ensinamentos.

Aos residentes de Nefrologia, fonte de inspiração e ensino, fundamentais para a realização deste trabalho.

A Cícera pela disponibilidade e simpatia que foi de grande valia nas coletas sanguíneas

A André Galvão e João Fernandes pelos ensinamentos, disponibilização de tempo, empenho e pela ajuda inestimável na execução das análises de estresse oxidativo

A Profa. Célia Castro pela disponibilização do Laboratório de Microbiologia do LIKA para a realização das análises de estresse oxidativo

RESUMO

Pacientes com doença renal crônica (DRC) apresentam níveis séricos das enzimas ALT e AST diminuídas em relação aos indivíduos saudáveis o que compromete o diagnóstico, seguimento e tratamento dos pacientes com DRC e doenças hepáticas crônicas. Tem-se postulado que a gama glutamil transferase (GGT) poderia ser marcador disponível e barato na avaliação do estresse oxidativo (EO) que, associado com a inflamação e desnutrição, determinariam maior morbimortalidade em pacientes com DRC. O objetivo deste estudo foi avaliar os níveis séricos das enzimas ALT, AST e GGT, de marcadores de inflamação e de EO em pacientes com DRC em tratamento conservador. No período de setembro de 2011 a maio de 2012, foi realizado estudo com pacientes atendidos no ambulatório de DRC do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. Os pacientes foram classificados em estágios da DRC, de acordo com a definição das diretrizes do Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI). Foram dosados ALT, AST e GGT; marcadores de inflamação: proteína C reativa, ferritina e albumina e marcadores de EO: TBARS, Tiol, Catalase e Carbonil. Foram avaliados 142 pacientes com DRC apresentando idade média de 64,4 anos sendo 51,4% do sexo masculino. A média da TFG foi de 28,8 mL/min/1,73m². Os pacientes apresentaram a seguinte distribuição conforme os estágios da DRC: 16 (11,4%) pacientes estágio 5; 69 (49,2%) estágio 4 e 55 pacientes estágio 3 (39,2%). Os níveis séricos de ALT e AST apresentaram redução proporcional à diminuição da TFG ($p = 0,006$ e $p = 0,049$, respectivamente). Houve diminuição dos níveis séricos de ALT entre os estágios iniciais quando comparados com os mais avançados da DRC ($p < 0,03$). Não houve associação entre os níveis séricos de GGT ou dos marcadores de EO com a TFG ou com os estágios da DRC. Entre os marcadores de inflamação, observou-se correlação direta da albumina ($r = 0,26$ e $p < 0,001$) e inversa da ferritina ($r = -0,23$ e $p < 0,005$) com a TFG, que acompanhou a progressão da DRC de acordo com os estágios. Portanto, as aminotransferases apresentaram redução dos seus níveis séricos conforme a diminuição da TFG, no entanto, os níveis de GGT não se alteraram com a evolução da DRC. Os marcadores de EO avaliados não apresentaram correlação com a TGF, mas os níveis séricos de ferritina aumentaram e de albumina diminuíram de acordo com a progressão da DRC.

Palavras-chave: Aspartato aminotransferase. Alanina aminotransferase. Insuficiência renal crônica. Gama-glutamilttransferase. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

Patients with chronic kidney disease (CKD) have serum levels of liver enzymes ALT and AST decreased compared to healthy individuals, which compromises the diagnosis, monitoring and treatment of patients with CKD and chronic liver diseases. Additionally, it has been postulated that the gamma-glutamyl transferase (GGT) may be an available and inexpensive marker in the evaluation of oxidative stress (OS) that associated with inflammation and malnutrition, determine higher morbidity and mortality in patients with CKD. The aim of this study was To evaluate serum levels of liver enzymes ALT, AST and GGT levels and markers of inflammation and OS in patients with chronic kidney disease (CKD) on dialysis. The study was conducted from September 2011 to May 2012, with patients in the CKD clinic of Hospital of the Federal University of Pernambuco (HC-UFPE). Renal function was assessed by estimated glomerular filtration rate (GFR) using the formula proposed by Cockcroft-Gault. Patients were classified into stages of CKD, according to the definition of guidelines Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K / DOQI). Were measured ALT, AST and GGT; markers of inflammation: C-reactive protein, ferritin and albumin and markers of EO: TBARS, thiol, carbonyl and catalase. We evaluated 142 patients with CKD presenting a mean age of 64.4 years and 51.4% of male patients. The mean GFR was 28.8 mL/min/1.73m². The patients showed the following distribution according to the stages of CKD: 16 (11.4%) stage 5 patients, 69 (49.2%) stage 4 stage and 55 patients, 3 (39.2%). The serum levels of AST and ALT decreased in proportion to the decrease of GFR ($p = 0.006$ and $p = 0.049$, respectively). There was a decrease in serum ALT levels between early and advanced s stages of CKD ($p < 0.03$). There was no association between serum GGT and markers of EO with the TFG or the stages of CKD. Among the markers of inflammation, we observed a direct correlation of albumin ($r = 0.26$ and $p < 0.001$) and inverse of ferritin ($r = -0.23$ $p < 0.005$) with the TFG, which followed the progression of CKD according with the stages. Aminotransferase showed a reduction in serum levels according to the decrease of GFR, however, GGT levels were not altered by the development of CKD. EO markers evaluated showed no correlation with TGF, but serum ferritin increased albumin and decreased according to the progression of CKD.

KEYWORDS: Aspartate aminotransferase. Alanine aminotransferase. Chronic kidney failure. Gamma-glutamyl transferase. Oxidative stress.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	- Alanina aminotransferase
Anti-HCV	- Anticorpo contra o vírus da hepatite C
APRI	- Aspartate aminotransferase <i>to platelet ratio index</i>
AST	- Aspartato aminotransferase
CD69	- <i>Cluster of Differentiation 69</i>
CG	- Cockcroft-Gault
DeCS	- <i>Descritores em Ciências da Saúde</i>
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
DNPH	- Dinitrofenilhidrazina
DRC	- Doença renal crônica
DTNB	-5,5-ditiobis (2-nitrobenzóico) (2-nitrobenzóico)
EDTA	- Ácido etilenodiamino tetracético
ELISA	- <i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
EO	- Estresse oxidativo
g	- Gravidade
GGT	- Gama glutamiltransferase
HBsAg	- Antígeno de superfície da hepatite B
HBV	- Vírus da hepatite B
HC	- Hospital das Clínicas
HCV	- Vírus da hepatite C
HD	- Hemodiálise

HGF	- Fator de crescimento do hepatócito
HIV	- Vírus da imunodeficiência humana
IMC	- Índice de massa corpórea
INF- α	- Interferon alfa
K/DOQI	- <i>Kidney Disease Outcomes Quality Initiative</i>
Kg	- Kilogramas
LIKA	- Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami
LILACS	- Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
LSN	- Limite superior da normalidade
M	- Molar
MedLine	- <i>Medical Literature Analysis and Retrieval System Online</i>
MeSH	- Medical Subject Headings
mg	- Miligrama
mg/dL	- Miligramas por decilitro
mL	- Mililitro
mL/min/m ²	- Mililitro por minuto por metro quadrado
mM	- Milimolar
<i>NADPH</i>	- Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase
ng	- Nanograma
nm	- Nanômetro
OR	- <i>Odds ratio</i>
PBS	- Tampão fosfato-salino

PCR	- Proteína C reativa
pg	- Picograma
<i>PLP</i>	- Piridoxal-5'-fosfato
pPLP	- Piridoxal-5'-fosfato plasmático
RNA	- Ácido ribonucleico
ROC	- <i>Receiver Operating Characteristic</i>
SC	- Superfície corpórea
SciELO	- <i>Scientific Electronic Library Online</i>
TBARS	- Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TFG	- Taxa de filtração glomerular
<i>TL</i>	- <i>Termo livre</i>
U/L	- Unidades por litro
UFPE	- Universidade Federal de Pernambuco
UI/L	- Unidades internacionais por litro

LISTA DE TABELAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 1 - Classificação da DRC em estágios estabelecida pelo K/DOQI, 2002.....	18
--	-----------

APENDICE A

Tabela 1 - Estudos que Correlacionam Enzimas Hepáticas e Pacientes com DRC em HD sem Hepatite, 2013.....	57
---	-----------

Tabela 2 - Estudos que Correlacionam Enzimas Hepáticas e Pacientes com DRC em HD com Hepatites, 2013.....	58
--	-----------

APÊNDICE B

Tabela 1 - Distribuição das características clínico epidemiológicas de acordo com os estágios da DRC de 142 pacientes em tratamento conservador, Recife, 2013.....	74
---	-----------

Tabela 2 - Modelo de regressão para a explicação da variação da TFG em 142 pacientes com DRC em tratamento conservador, Recife, 2013.....	75
--	-----------

Tabela 3 - Níveis séricos das aminotransferases nos estágios iniciais (2 e 3) e avançados (4 e 5) de 142 pacientes com DRC , Recife, 2013.....	76
---	-----------

APÊNDICE C

Tabela 1 - Modelo de regressão para a explicação da variação TFG em 140 pacientes com DRC em tratamento conservador, Recife, 2013.....	90
---	-----------

Tabela 2 - Distribuição das características clínico-epidemiológicas de acordo com os estágios da DRC de 140 pacientes em tratamento conservador, Recife, 201.....	91
--	-----------

LISTA DE FIGURAS

APÊNDICE A

Figura 1 - Diagrama de fluxo de seleção dos artigos, Recife, 2013.....56

APÊNDICE B

Figura 1 - Correlação entre os níveis séricos de aminotransferases (ALT e AST) e a TFG de 142 pacientes com DRC em tratamento conservador, Recife, 2013.....77

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO.....	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
2.1 JUSTIFICATIVA.....	22
2.2 OBJETIVO GERAL.....	23
2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
2.4 HIPÓTESES.....	24
3 MÉTODOS.....	25
3.1 Local de realização do estudo.....	26
3.2 População do estudo.....	26
3.2.1 Critérios de Inclusão.....	26
3.2.2 Critérios de Exclusão.....	26
3.3 Definição e categorização de variáveis.....	27
3.4 Coleta de dados e avaliação clínica.....	30
3.5 Análise estatística.....	31
3.6 Aspectos éticos.....	32
4 CONCLUSÕES.....	33
REFERÊNCIAS.....	34
APÊNDICES	
Apêndice A.....	39
Apêndice B.....	63
Apêndice C.....	78
Apêndice D.....	93
Apêndice E.....	95
ANEXOS	
Anexo A.....	96
Anexo B.....	97
Anexo C	101

1 APRESENTAÇÃO

A doença renal crônica (DRC) é uma condição clínica caracterizada por elevada morbimortalidade e incidência crescente no Brasil e no mundo (CUSUMANO; GONZÁLEZ BEDAT, 2008; LEVEY et al., 2007; NUGENT et al., 2011). Devido a diversos fatores, pacientes com DRC em hemodiálise (HD) apresentam menores níveis séricos de aminotransferases do que aqueles com função renal normal e este perfil pode comprometer o diagnóstico, manejo clínico e tratamento das doenças hepáticas nos pacientes com DRC (CHIMATA et al., 1994; WOLF et al., 1972).

Durante a graduação colaboramos para pesquisas que relacionaram enzimas hepáticas com a DRC, principalmente, a alanina aminotransferase (ALT) em pacientes submetidos a HD e suas implicações na detecção da agressão hepática provocada pelo vírus da hepatite C (HCV), contemplando, portanto, a linha de pesquisa: Estudo clínico, diagnóstico e terapêutico das doenças do fígado. Contribuímos para a elaboração de dois artigos intitulados: “Serum alanine aminotransferase levels, hematocrit rate and body weight correlations before and after hemodialysis session” (LOPES et al., 2009) e “Determination of the Cut-off Value of Serum Alanine Aminotransferase in Patients Undergoing Hemodialysis, to Identify Biochemical Activity in Patients With Hepatitis C Viremia” (LOPES et al., 2006).

Nestes dois estudos, constatou-se que os níveis séricos de aminotransferases eram reduzidos nos pacientes com DRC em HD, mas surgiu a questão: quando os níveis enzimáticos começam a diminuir? Realizou-se, portanto, revisão da literatura e encontraram-se poucos estudos avaliando os níveis séricos das aminotransferases ainda durante o tratamento conservador da DRC, ou seja, na fase pré-dialítica.

Investigando a associação entre as enzimas hepáticas e a DRC, encontraram-se alguns estudos que descreveram os níveis séricos de gama glutamil transferase (GGT) em pacientes com DRC e que esta enzima poderia ser um marcador de estresse oxidativo (EO) nestes pacientes, mas ainda faltavam evidências que comprovassem esta hipótese (POSTORINO et al., 2008).

Observou-se também que à medida que há progressão da DRC ocorre elevação proporcional da mortalidade, principalmente, cardiovascular (BAIGENT; BURBURY; WHEELER, 2000; FOLEY; PARFREY; SARNAK, 1998; LEVEY, 2002) e alguns fatores são determinantes para esta evolução, como a inflamação e o EO (HIMMELFARB et al., 2002; KITTIYAKARA et al., 2000).

Portanto, decidiu-se aplicar os conhecimentos adquiridos durante a graduação para realizar estudo em pacientes com DRC em tratamento conservador e suas associações com as enzimas hepáticas: aspartato aminotransferase (AST), ALT e GGT, com marcadores de EO e de inflamação. O intuito era responder a pergunta “Qual o perfil dos níveis séricos das enzimas hepáticas, dos marcadores de EO e de inflamação em pacientes com DRC em tratamento conservador”, levantando-se a hipótese de que os níveis séricos de aminotransferases começariam a diminuir ainda em estágios iniciais da DRC, que os de GGT estariam elevados em decorrência do aumento do EO e que a inflamação se acentuaria à medida que ocorresse declínio da taxa de filtração glomerular (TFG) e que estas alterações estariam, portanto, relacionadas aos estágios da DRC.

O objetivo geral desta dissertação foi avaliar os níveis séricos da ALT, AST, GGT, dos marcadores de EO (TBARS, catalase, carbonil e tiol) e dos marcadores inflamatórios (Ferritina, Proteína C reativa e albumina) em pacientes renais crônicos em tratamento conservador de acordo com a TFG e com os estágios da DRC. Os objetivos específicos foram descrever os níveis séricos das enzimas hepáticas e dos marcadores de EO e de inflamação conforme dados demográficos (sexo, idade, IMC) e clínicos (uso de medicamentos e comorbidades).

Esta dissertação de mestrado será apresentada em forma de capítulos. No primeiro constará o referencial teórico, justificativa, objetivos e hipóteses da pesquisa, no segundo capítulo, a metodologia empregada na pesquisa, no terceiro capítulo serão apresentados os resultados sob a forma de artigos e o quarto a conclusão e as considerações finais.

O primeiro artigo intitulado: “*Níveis séricos de enzimas hepáticas em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise: revisão sistemática*”, foi enviado para publicação na revista CLINICS, fator de impacto 2.47, 1980-5322. Neste artigo foi realizada revisão da literatura com o objetivo de descrever os fatores que levam a redução das aminotransferases em pacientes com DRC em HD, com e sem hepatites virais. A opção de realizar revisão sistemática nos pacientes já em HD ocorreu devido à escassez de estudos na literatura que

abordassem os níveis séricos de enzimas hepáticas em pacientes com DRC ainda em tratamento conservador.

O segundo artigo intitulado “*A redução dos níveis séricos de aminotransferases é proporcional ao declínio da taxa de filtração glomerular em pacientes com doença renal crônica em tratamento conservador:corte transversal*”, será submetido como artigo original para a revista *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, fator de impacto 3.009. Neste artigo o objetivo foi avaliar os níveis séricos das aminotransferases em pacientes com DRC em tratamento conservador e suas relações com a TFG e os estágios da DRC.

O terceiro artigo intitulado “*Marcadores de inflamação e de estresse oxidativo em pacientes com doença renal crônica em tratamento conservador*”, será submetido como artigo original para a revista de Nefrologia ainda não determinada. Neste artigo o objetivo foi avaliar os níveis séricos de marcadores de inflamação e de estresse oxidativo em pacientes com DRC em tratamento conservador e suas relações com a TFG e os estágios da DRC.

Ao final da dissertação foram realizadas considerações sobre o comportamento das enzimas hepáticas, dos marcadores de estresse oxidativo e de inflamação nos pacientes com DRC em tratamento conservador, assim como sugestões para estudos futuros.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A DRC caracteriza-se pela perda progressiva e irreversível da função renal e apresenta altas taxas de mortalidade devido, na maioria das vezes, à doença cardiovascular (FOLEY; PARFREY; SARNAK, 1998; LEVEY et al., 2003). É classificada em cinco estágios com base na taxa de filtração glomerular (TFG) obtida por fórmulas matemáticas através do peso, sexo, idade e creatinina sérica (Tabela 1) (LEVEY et al., 2011).

Tabela 1. Classificação da DRC em estágios estabelecida pelo K/DOQI, 2002.

Estágio	Função renal	TFG (ml/min/1,73m ²)
0	Grupo de risco: sem lesão renal função normal.	> 90
1	Lesão renal (microalbuminúria, proteinúria), função preservada, com fatores de risco.	> 90
2	Lesão renal com insuficiência renal leve.	60-89
3	Lesão renal com insuficiência renal moderada.	30-59
4	Lesão renal com insuficiência renal grave.	15-29
5	Lesão renal com insuficiência renal terminal ou dialítica.	< 15

Esta classificação, estabelecida em 2002 pela *National Kidney Foudation* e publicada em suas diretrizes *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (K/DOQI), é amplamente utilizada e serve como alicerce para avaliação, estratificação de risco e acompanhamento dos pacientes com DRC. Também auxilia em tomada de decisões terapêuticas importantes como: início de diálise, encaminhamento para transplante renal, acompanhamento nutricional e no manejo clínico das complicações da DRC, como: anemia, doença óssea e hipertensão, entre outras (LEVEY, 2002). A mortalidade destes pacientes é diretamente proporcional à progressão da DRC em seus diversos estágios, conforme a queda da TFG (KEITH et al., 2004).

As enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) constituem marcadores de agressão ao hepatócito (PRATT; KAPLAN, 2000). Encontram-se elevadas em diversas enfermidades como: nas hepatites crônicas virais (KATKOV, 1991), doença hepática gordurosa não alcoólica (SCHINDHELM et al., 2006), hepatite autoimune (ALVAREZ et al., 1999), hemocromatose (ALLEN et al., 2008) e na doença hepática alcoólica (SORBI; BOYNTON; LINDOR, 1999). Estas enzimas auxiliam no diagnóstico, tratamento e seguimento dos pacientes, uma vez que refletem atividade inflamatória no

parênquima hepático (KIM et al., 2012; VILLELA-NOGUEIRA et al., 2005; WHITFIELD, 2001).

No entanto, pacientes com doença renal crônica (DRC) em hemodiálise (HD) apresentam menores níveis séricos de aminotransferases do que aqueles com função renal normal o que pode comprometer o diagnóstico, manejo clínico e tratamento destes pacientes (GRESSNER; SITTEL, 1985; JUNG et al., 1981; LIBERATO et al., 2012; WOLF et al., 1972).

Alguns fatores são implicados na redução dos níveis séricos da ALT e AST no paciente com DRC em HD: hemodiluição encontrada nos pacientes antes da sessão de HD; menores níveis séricos de piridoxina e níveis mais elevados de homocisteína (HUANG et al., 2002; LOPES et al., 2009; ONO; ONO; MATSUMATA, 1995). Nos pacientes com DRC em HD e infectados pelos vírus da hepatite B (HBV) ou hepatite C (HCV) outros fatores também contribuem para a diminuição dos níveis séricos de aminotransferases, tais como: menor viremia ocasionada pelo método dialítico, possivelmente pelo sequestro do vírus pelo dialisador; maior produção de fator de crescimento do hepatócito (HGF), induzida pela diálise, que acelera a regeneração hepática e, finalmente, elevação dos níveis séricos de α -Interferon endógeno e a ativação linfocitária que, em conjunto, diminuiriam a ação viral sobre o tecido hepático. (BADALAMENTI et al., 2003; MAIA et al., 2009; RAMPINO et al., 1999). Consequentemente, para que haja maior acurácia no diagnóstico de agressão viral ao hepatócito, alguns autores têm sugerido redução no limite superior da normalidade (LSN) da ALT para níveis em torno de 60% dos limites de rotina. (GOUVEIA et al., 2004; GUH et al., 1995; LOPES et al., 2006; MILOTIC et al., 2002).

No entanto, encontram-se poucos estudos avaliando os níveis séricos das aminotransferases ainda durante o tratamento conservador da DRC, ou seja, na fase pré-dialítica. De fato, Fabrizi e cols avaliaram pacientes com DRC antes do início de diálise e observaram que os pacientes em tratamento conservador apresentavam níveis séricos de AST e ALT diminuídos em relação aos controles saudáveis, porém maiores do que aqueles em HD (FABRIZI et al., 2001).

Apesar da ocorrência de fatores de risco tradicionais (como diabetes, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia) ser elevada em pacientes com DRC, a extensão e severidade das complicações cardiovasculares são claramente desproporcionais quando se avalia o perfil de risco destes pacientes. É sabido que fatores de risco cardiovasculares não tradicionais como: inflamação, desnutrição e estresse oxidativo (EO), promovem e aceleram a aterosclerose nestes pacientes (CHEUNG et al., 2000; STENVINKEL, 2003).

Na prática clínica, alguns marcadores biológicos auxiliam no acompanhamento dos pacientes com DRC como: ferritina (inflamação e estoques de ferro), proteína C reativa (inflamação) e albumina (inflamação e estado nutricional) (ABRAHAM et al., 2009; LEVEY, 2002).

O EO pode ser definido como um distúrbio entre a produção de substâncias oxidantes e antioxidantes, favorecendo a primeira. Este desequilíbrio leva a oxidação de macromoléculas e lesão tecidual com consequente disfunção orgânica. As substâncias oxidantes são altamente reativas e, portanto, apresentam meia vida plasmática curta, o que torna sua quantificação difícil. Em resposta a esta dificuldade técnica, a medição do EO faz-se por meio de quantificação de macromoléculas oxidadas como: lipídeos, carboidratos, proteínas, aminoácidos e DNA (HIMMELFARB; HAKIM, 2003).

O dano celular provocado pelo EO em pacientes com DRC pode ser avaliado através da dosagem dos níveis séricos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Essas substâncias estão relacionadas à peroxidação lipídica de membranas celulares e ao maior risco cardiovascular em pacientes com DRC em hemodiálise (COSTA-HONG et al., 2009).

Outras formas de avaliar o EO nestes pacientes é pela dosagem dos níveis séricos de carbonil (expressa lesão oxidativa a proteínas), catalase (substância antioxidante) e tiol (substância antioxidante) que apresentam alterações séricas proporcionais à perda da função renal (AVELES et al., 2010; COSTA-HONG et al., 2009; ONGAJOTH et al., 1996).

De fato, comparando os níveis plasmáticos de TBARS em indivíduos saudáveis e em pacientes com DRC em tratamento conservador (pré-diálise), Khaira e cols constataram que ocorre elevação dos níveis plasmáticos de TBARS à medida que ocorre progressão dos estágios da DRC. Nos indivíduos saudáveis a média de TBARS (nM/mL) foi 1.51 ± 0.36 , já nos pacientes com DRC nos estágios 3 e 4 foi 4.63 ± 1.17 ($p < 0,0001$) e no estágio 5, 5.94 ± 2.94 ($p < 0,0001$) (KHAIRA et al., 2011).

Da mesma maneira, Aveles e cols, avaliando 68 pacientes com DRC em tratamento conservador, demonstraram que os níveis plasmáticos de carbonil apresentaram elevação à proporção da progressão da DRC em estágios. Os níveis plasmáticos de carbonil (nmol/mg albumina) em pacientes com DRC estágio 5 ($2,2 \pm 1,6$) foram maiores em relação ao estágio 2 ($0,8 \pm 1,3$; $p = 0,003$), estágio 3 ($1,2 \pm 0,9$, $p = 0,015$) e estágio 4 ($1,0 \pm 0,7$, $p = 0,011$) e apresentaram correlação negativa com a TFG ($r = 0,26$, $p < 0,05$) (AVELES et al., 2010).

O teor de tiol total também foi avaliado por Aveles e cols que demonstraram queda dos níveis plasmáticos conforme a progressão da DRC. Desta maneira, os níveis plasmáticos

de tiol (nmol/mg/albumina) nos pacientes com DRC estágio 5 ($7,9 \pm 2,5$) foram significativamente menores em relação ao estágio 2 ($9,8 \pm 3,5$; $p = 0,05$) e estágio 3 ($9,9 \pm 2,7$; $p = 0,03$) e demonstraram correlação positiva com a TFG ($r = 0,25$, $p < 0,05$) (AVELES et al., 2010).

A catalase é uma enzima que converte peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular e, portanto, tem ação antioxidante. Avaliando 32 pacientes com DRC estágio 4 e 67 voluntários saudáveis, Puchades Montesa e cols encontraram níveis plasmáticos de catalase (U/g/proteína) significativamente menores nos pacientes com DRC $181,3 \pm 22,7$ em relação aos controles $260,1 \pm 39,3$ ($p < 0,0001$) (PUCHADES MONTESA et al., 2009).

No entanto, não existe padronização das técnicas laboratoriais de avaliação do EO cujas análises são realizadas apenas em laboratórios sofisticados, devido aos complexos métodos de mensuração e aos elevados custos (LEE; BLOMHOFF; JACOBS, 2004).

Na prática diária, a GGT vem sendo utilizada tanto como marcador sérico na avaliação de alterações das vias biliares quanto no consumo de álcool e outras drogas (LEE et al., 2007). No entanto, recentemente, tem-se postulado que a GGT poderia se tornar um meio simples e prático para a avaliação do EO (LEE; BLOMHOFF; JACOBS, 2004; LEE et al., 2003).

A GGT está presente na superfície celular e tem como função catabolizar a glutatona, principal antioxidante nos seres humanos (POSTORINO et al., 2008). Níveis séricos elevados de GGT têm sido associados ao elevado risco cardiovascular observado em pacientes com DRC em hemodiálise (HD), assim como na população obesa e diabética e confere maior risco cardiovascular na população geral (CEBALLOS-PICOT et al., 1996; LEE et al., 2004; POSTORINO et al., 2008; RUTTMANN et al., 2005).

Adicionalmente, estudos epidemiológicos evidenciaram que os níveis séricos de GGT estão relacionados ao risco de desenvolver DRC, como revelado em estudo de coorte realizado com 10.337 adultos não diabéticos e não hipertensos onde a GGT foi fator preditor isolado para o desenvolvimento de DRC (RYU et al., 2007).

Da mesma maneira, em estudo com 13.188 pacientes, Targher e cols observaram, após análise multivariada, que a elevação dos níveis séricos de GGT estava diretamente relacionada à presença de DRC (OR 1.78). Estes autores também ressaltaram que a elevação dos níveis séricos de GGT, quando subclassificada em quartis, era proporcional à perda da função renal (TARGHER et al., 2010).

Porém, não se sabe se os níveis séricos de GGT apresentam relação com a disfunção renal quando aplicada à classificação proposta pelo K/DOQI ou se apresenta associação com a elevação do EO nos pacientes com DRC.

2.1 JUSTIFICATIVA

Os níveis séricos de aminotransferases encontram-se diminuídos em pacientes com DRC em hemodiálise e isto compromete o manejo clínico e terapêutico das doenças hepáticas nestes pacientes. Entretanto, não está bem estabelecido na literatura se os níveis séricos destas enzimas começam a diminuir em estágios iniciais da DRC, ou seja, ainda na fase pré-dialítica.

A identificação do momento do início da redução dos níveis séricos destas enzimas poderia, portanto, auxiliar no esclarecimento dos motivos que levam queda destas enzimas nos pacientes com DRC. Além disso, a identificação do início da redução dos níveis séricos de aminotransferases poderia ajudar na prevenção da queda e na manutenção dos níveis em patamares anteriores à DRC.

A DRC apresenta elevada morbimortalidade devido, em parte, à alta prevalência de fatores de riscos não tradicionais como a inflamação, que pode ser mensurada por meio de marcadores bioquímicos amplamente disponíveis (proteína C reativa, ferritina e albumina), e ao EO que, por sua vez, é de difícil quantificação devido à falta de padronização dos métodos e aos custos elevados para sua mensuração. Uma forma simples e disponível para avaliar o EO poderia através da dosagem da GGT, já que, esta enzima é cofator na metabolização da glutathiona, principal antioxidante dos seres humanos e que seu aumento estaria relacionado ao risco de desenvolver DRC. A GGT poderia, portanto, auxiliar a melhor identificar os pacientes com DRC com níveis elevados de EO.

2.2 OBJETIVO GERAL:

- Avaliar os níveis séricos das enzimas hepáticas (ALT, AST e GGT), dos marcadores de estresse oxidativo (TBARS, catalase, carbonil e tiol) e dos marcadores inflamatórios (ferritina, proteína C reativa e albumina) em pacientes com doença renal crônica em tratamento conservador.

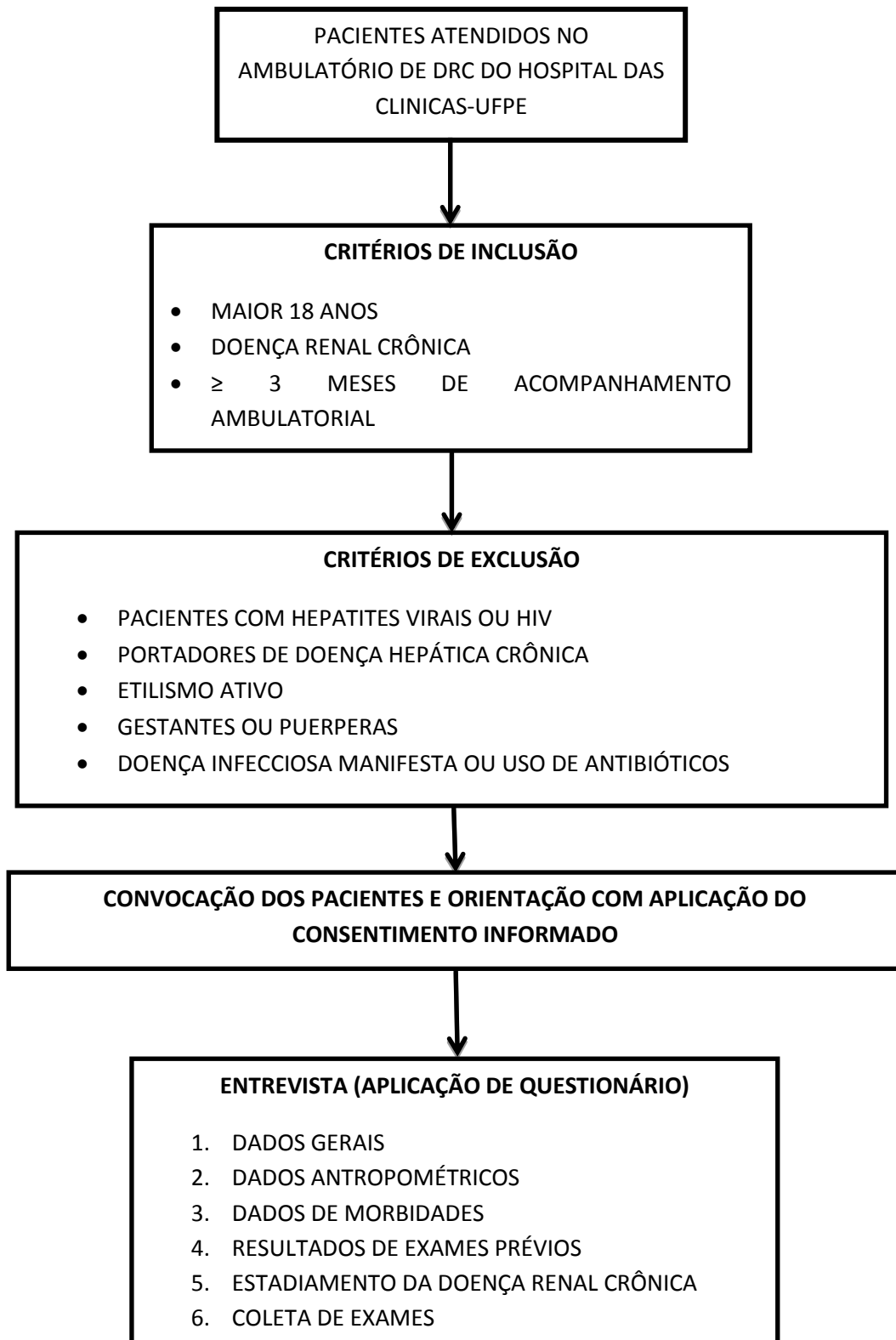
2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliar a associação entre os níveis séricos das enzimas hepáticas (ALT, AST e GGT) com a TFG e com os estágios da DRC
- Avaliar a associação entre os níveis séricos dos marcadores de inflamação (ferritina, proteína C reativa e albumina) com a TFG e com os estágios da DRC
- Avaliar a associação entre os níveis séricos dos marcadores de EO (TBARS, catalase, carbonil e tiol) com a TFG e com os estágios da DRC
- Caracterizar a amostra quanto aos dados demográficos e clínicos
- Descrever os níveis séricos das enzimas hepáticas e dos marcadores de EO e de inflamação de acordo com dados demográficos e clínicos.
- Correlacionar os níveis séricos dos marcadores de estresse oxidativo com os de GGT.

2.4 HIPÓTESES

- Os níveis séricos de AST e ALT estão reduzidos em pacientes com DRC em tratamento conservador
- Existe correlação entre os níveis séricos de ALT e AST com a TFG e com os estágios da DRC.
- Os níveis séricos de GGT encontram-se elevados em pacientes com DRC em virtude da elevação do EO que ocorre na doença renal.
- As alterações dos níveis séricos de EO são proporcionais aos estágios da DRC e o declínio da TFG.
- Os níveis séricos dos marcadores de inflamação sistêmica se alteram à medida que ocorre declínio da TFG e progressão dos estágios da DRC.

3 MÉTODO



3.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO

O projeto de pesquisa foi elaborado no programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e desenvolvido no ambulatório de DRC do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas (HC) da UFPE. Este ambulatório é referência estadual no tratamento de pacientes com DRC no estado de Pernambuco, principalmente, da região metropolitana do Recife. Neste ambulatório o atendimento é realizado por médicos nefrologistas, residentes e estudantes de medicina, sob supervisão de preceptores. O atendimento é realizado semanalmente, em prontuário próprio e segue rotinas e protocolos de tratamento específicos do serviço. São atendidos cerca de 20 pacientes semanalmente.

3.2 POPULAÇÃO DO ESTUDO

A população estudada foi composta por pacientes do Sistema Único de Saúde acompanhados no ambulatório de DRC do HC-UFPE e vinculados ao Serviço de Nefrologia. Estes pacientes foram encaminhados de diversos serviços do estado e da própria instituição para acompanhamento nefrológico. Foram convocados para avaliação todos os casos atendidos no período de setembro de 2011 a maio de 2012 e que preenchiam os critérios de inclusão do estudo.

3.2.1 Critérios de Inclusão

- 1.1 Pacientes com TFG menor do que 60 mL/min/1,73m²
- 1.2 Pacientes maiores de 18 anos
- 1.3 > 3 meses de acompanhamento ambulatorial

3.2.2 Critérios de Exclusão

- 1.1 Gestantes, puérperas
- 1.2 Portadores de hepatites B, C ou HIV
- 1.3 Portadores de doença hepática crônica documentada
- 1.4 Etilismo ativo
- 1.5 Doença infecciosa manifesta ou uso de antibióticos

3.3 DEFINIÇÃO E CATEGORIZAÇÃO DE VARIÁVEIS

- a. **MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS:** foram aferidos o peso e altura em uma mesma balança, do ambulatório de DRC, por auxiliar de enfermagem treinada.
 - a. **ÍNDICE DE MASSA CORPÓREA (IMC):** razão entre o peso e a altura².
 - a. **ABAIXO DO PESO:** $IMC < 18,5 \text{ kg/m}^2$.
 - b. **PESO NORMAL:** $IMC \text{ entre } 18,6\text{-}24,9 \text{ kg/m}^2$.
 - c. **SOBREPESO:** $IMC \text{ } 25\text{-}29,9 \text{ kg/m}^2$.
 - d. **OBESIDADE GRAU I:** $IMC \text{ } 30\text{-}34,9 \text{ kg/m}^2$.
 - e. **OBESIDADE GRAU II:** $IMC \text{ } 35\text{-}39,9 \text{ kg/m}^2$.
 - f. **OBESIDADE GRAU III:** $IMC \text{ } 40 \text{ kg/m}^2$.
- b. **MEDIDAS LABORATORIAIS:** realizadas no analisador químico COBAS C501 ROCHE.
 - a. **CREATININA SÉRICA:** realizada pelo método de jaffé automatizado medida em mg/dL; valores de referência (VR) homens 0.7-1.2 e mulheres 0.5-0.9.
 - b. **GAMA GLUTAMIL TRANSFERASE (GGT):** VR até 60U/L para homens e até 40 U/L para mulheres.
 - c. **ALANINA AMINOTRANSFERASE (ALT):** VR em homens até 41 U/L e em mulheres até 33 U/L.
 - d. **ASPARTATO AMINOTRANSFERASE (AST):** VR entre 15-37 U/L em ambos os sexos.
 - e. **ALBUMINA:** VR entre 3,5 até 5,2 g/dL
 - f. **PROTEÍNA C REATIVA ULTRASSENSÍVEL:** VR até 0,5 mg/dL
 - g. **FERRITINA:** VR homens de 30-400 mg/dL; mulheres acima de 50 anos 30-400 mg/dL e abaixo de 50 anos 15-150 mg/dL.
- c. **MEDIDAS DO ESTRESSE OXIDATIVO**
 - a. **AVALIAÇÃO DAS ESPÉCIES REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)**
 - i. As amostras de plasma foram homogeneizadas em tampão de fosfato 50 mM, utilizando um homogeneizador Potter-Elvehjem. Uma alíquota (200 mL) foi misturada ao ácido tricloroacético a 15% (400 mL) e

centrifugadas 10 min (4000 xg) e o sobrenadante foi misturado com igual volume de ácido tiobarbitúrico 0,67%. Esta solução foi aquecida em banho de água durante 30 min e as dosagens do TBARS foram determinadas por absorbância a 535 nm. O teor de proteínas foi avaliada por ensaio de Lowry, e os resultados foram expressos como nmol de TBARS / mg de proteína.

b. PROTEÍNAS CARBONILADAS (CARBONIL)

- i. O dano oxidativo de proteína foi medido através da determinação de grupos carbonil, com base em uma reação com dinitrofenilhidrazina (DNPH). As proteínas foram precipitadas por adição de 20% de ácido tricloroacético e reagiu com DNPH. As amostras foram, em seguida, redissolvidas em cloridrato de guanidina 6M e os conteúdos de carbonil foram determinadas por medição da absorbância a 370 nm usando um coeficiente de absorção molar de 22.000 M.

c. CATALASE

- i. Para determinar a atividade da catalase, o plasma foi homogeneizado em tampão fosfato 50 mM e a suspensão resultante foi centrifugada a 3000 xg durante 10 min. O sobrenadante foi utilizado para o ensaio enzimático. A atividade da catalase foi medida pela taxa de diminuição da absorbância de peróxido de hidrogênio a 240 nm e expressa em U / mg de proteína.

d. TIOL

- i. O teor de tiol total no plasma foi determinado utilizando o método 5,5-ditiobis (2-nitrobenzóico) (2-nitrobenzóico) (DTNB). Foram misturados 30 µL de plasma a 1 ml de tampão fosfato-salino (PBS) / 1 mM EDTA (pH 7,5). A reação foi iniciada pela adição de 30ul de solução de estoque 10 mM de DTNB em PBS. As amostras de controle, que não incluem DTNB ou proteína, foram executados simultaneamente. Após a incubação durante 30 min à temperatura ambiente, a absorbância a 412 nm foi medida e os valores de DTNB formado (equivalente à quantidade de tiol total) foram calculados.

d. CÁLCULO DA TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR

- a. **COCKROFT-GAULT (CG)(mL/min):**

$(140 - \text{Idade}) \times \text{Peso (Kg)} / 72 \times \text{Creatinina s\acute{e}rica (mg/dL)}$

sexo feminino multiplicar por 0,85

(COCKCROFT; GAULT, 1976)

e. CÁLCULO DA SUPERFÍCIE CORPÓREA (SC) (m^2):

$0,007184 \times (\text{Altura (cm)})^{0,725} \times (\text{Peso (kg)})^{0,425}$

(DU BOIS, 1916)

f. COCKROFT-GAULT CORRIGIDO PELA SUPERFÍCIE CORPÓREA (mL/min/1,73m^2):

$1,73 \times CG/SC$

g. VARIÁVEIS CLÍNICAS

a. **DOENÇA RENAL CRÔNICA:** lesão renal estrutural ou funcional ou taxa de filtração glomerular menor do que $60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ por 3 meses ou mais (LEVEY, 2002).

b. ESTÁGIOS DA DOENÇA RENAL CRÔNICA (mL/min/1,73m^2)

a. **ESTÁGIO 1: depuração de creatinina > 90**

b. **ESTÁGIO 2: depuração de creatinina 60-89**

c. **ESTÁGIO 3: depuração de creatinina 30 – 59**

d. **ESTÁGIO 4: depuração de creatinina 15 – 29**

e. **ESTÁGIO 5: depuração de creatinina < 15 (ou diálise)**

(LEVEY, 2002)

c. **DOENÇA HEPÁTICA CRÔNICA:** história de esquistossomose hepatoesplênica, cirrose alcoólica ou viral, hepatite autoimune, doença hepática de depósito ou doença hepática gordurosa não alcoólica conhecida.

d. **DOENÇA INFECCIOSA MANIFESTA:** processo agudo infeccioso, manifesto clinicamente, e com duração menor do que 30 dias.

e. **DISLIPIDEMIA:** uso de estatinas e/ou colesterol LDL $> 100 \text{ mg/dL}$ e/ou colesterol total $> 200 \text{ mg/dL}$

f. **TABAGISMO:** consumo de tabaco ativo.

g. **EX-TABAGISTA:** história prévia do consumo de tabaco.

h. **ETILISTA ATIVO:** consumo de álcool maior que 210 g/ semana para homens ou 140 g/ para mulheres conforme definição da Organização Mundial da Saúde. Sendo $10\text{-}15 \text{ g}$ de álcool equivalente ao consumo de 350 ml de cerveja, 150 ml de vinho ou 40 ml de bebida destilada (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

- i. **DIABETES:** uso de antidiabético oral ou insulina; glicemia de jejum maior do que 126 mg/dL em pelo menos duas ocasiões ou hemoglobina glicada maior do que 6,5% (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2010).
- j. **HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA:** uso de medicamentos anti-hipertensivos ou pressão arterial sistêmica maior ou igual a 140 x 90 mmHg.
- k. **HISTÓRIA FAMILIAR DE DOENÇA RENAL:** parente até de segundo grau, com disfunção renal ou doença parenquimatosa conhecida.

3.4 COLETA DE DADOS E AVALIAÇÃO CLÍNICA

No período de setembro de 2011 a maio de 2012, foi realizado estudo transversal com pacientes maiores de 18 anos atendidos no ambulatório de DRC do HC-UFPE. Os pacientes foram selecionados consecutivamente por critério cronológico de chegada ao ambulatório.

Após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido e preenchimento do questionário que continha dados demográficos, socioeconômicos, antropométricos e clínicos, os pacientes foram submetidos à coleta de sangue no membro superior não dominante a fim de não comprometer a confecção da fístula arteriovenosa para hemodiálise.

Foram coletados 10 mL de sangue em dois tubos secos com 5 mL cada. Estes foram centrifugados e o soro armazenado em três eppendorfs de 1 mL, sendo dois em freezer a -20 °C para as dosagens bioquímicas e um a -80 °C para aferição dos marcadores de EO: TBARS, carbonil, tiol e catalase.

Os testes bioquímicos foram realizados pelo método cinético automatizado no analisador químico COBAS C501 ROCHE, no Laboratório Central do HC-UFPE e incluíam: gama-glutamilttransferase (GGT); alanina aminotransferase (ALT); Aspartato aminotransferase (AST); albumina; ferritina; proteína C reativa ultrasensível e creatinina.

Quando indicado, os resultados dos testes foram normatizados por gênero e sexo, calculando a razão do valor encontrado pelo método e o limite superior da normalidade (LSN). Foram excluídos das análises de GGT, ALT ou AST os pacientes que apresentavam valores desses marcadores maiores do que cinco vezes o LSN. Pacientes em uso corrente ou nos últimos 30 dias de ferro oral ou venoso foram excluídos das análises de ferritina sérica conforme sugerido nas diretrizes do *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI)*. Os dados foram armazenados utilizando-se planilha do *Microsoft Office Excel 2007*®.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Inicialmente, foi realizada descrição da população por meio da distribuição de frequência, quando a variável era do tipo categórica, e calculadas as médias e desvios padrões, quando a variável era quantitativa. Foi aplicado o teste de normalidade de Komogorov-Smirnov e, quando houve distribuição não normal, os dados foram expressos em mediana e respectivos quartis.

Foram aplicados na comparação das médias quando a variável era categórica e apresentava distribuição normal, o teste t de student (até 2 variáveis) ou ANOVA seguida do pós-teste de Bonferroni (> 2 variáveis).

Na avaliação das correlações, para as variáveis com distribuição normal foi calculada a correlação de Pearson, caso contrário a de Spearman. Na comparação das variáveis categóricas foi utilizado o teste Qui-Quadrado de Pearson. Todos os testes foram analisados assumindo significância de 5 % ($p < 0,05$). O software utilizado para a análise foi o STATA versão 12.0.

3.6 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi realizado após ter sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco sob o registro número 335/11, CAAE 0314.0.172.000-11, de acordo com os preceitos estabelecidos na resolução nº **196/96** do Conselho Nacional de Saúde. (ANEXO-A)

Não houve qualquer tipo de remuneração ou privilégio para aqueles que optaram em participar da pesquisa. Os pacientes que apresentaram níveis séricos elevados das enzimas hepáticas foram encaminhados ao ambulatório de hepatologia para devida investigação.

4 CONCLUSÕES

Nesta dissertação foi observado que os níveis séricos de ALT e AST apresentaram correlação positiva com a TFG e a ALT apresentou diminuição de acordo com a progressão da doença renal. Além disso, observou-se elevação dos níveis séricos de ferritina e redução dos de albumina conforme o declínio da TFG e a progressão da DRC.

Possivelmente, as causas que levam a diminuição das aminotransferases são de etiologia multifatorial e estes marcadores devem ser avaliados com cautela em pacientes com DRC em tratamento conservador e doenças hepáticas. Sugere-se, portanto, novos estudos para avaliar qual seria os limites superiores da normalidade para melhor avaliar estes pacientes.

Não foi observada alteração dos níveis séricos de GGT de acordo com a piora da TFG ou com os estágios da DRC. Provavelmente, esta enzima sofre influências de outros fatores como uso de medicamentos e presença comorbidades..

Não se observou associação entre os marcadores de EO avaliados com o níveis séricos de GGT ou com a TFG. Novos estudos utilizando marcadores de EO como a glutathione ou glutathione peroxidase poderão demonstrar tal associação.

REFERENCIAS

- ABRAHAM, G. et al. C-Reactive protein, a valuable predictive marker in chronic kidney disease. **Saudi journal of kidney diseases and transplantation**, v. 20, n. 5, p. 811–5, set. 2009.
- ALLEN, K. J. et al. Iron-overload-related disease in HFE hereditary hemochromatosis. **The New England journal of medicine**, v. 358, n. 3, p. 221–30, 17 jan. 2008.
- ALVAREZ, F. et al. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. **Journal of hepatology**, v. 31, n. 5, p. 929–38, nov. 1999.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes care**, v. 33 Suppl 1, p. S62–9, jan. 2010.
- AVELES, P. R. et al. Association between biomarkers of carbonyl stress with increased systemic inflammatory response in different stages of chronic kidney disease and after renal transplantation. **Nephron. Clinical practice**, v. 116, n. 4, p. c294–9, jan. 2010.
- BADALAMENTI, S. et al. Changes in viremia and circulating interferon- α during hemodialysis in hepatitis C virus-positive patients: only coincidental phenomena? **American Journal of Kidney Diseases**, v. 42, n. 1, p. 143–150, jul. 2003.
- BAIGENT, C.; BURBURY, K.; WHEELER, D. Premature cardiovascular disease in chronic renal failure. **Lancet**, v. 356, n. 9224, p. 147–52, 8 jul. 2000.
- CEBALLOS-PICOT, I. et al. Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. **Free radical biology & medicine**, v. 21, n. 6, p. 845–53, jan. 1996.
- CHEUNG, A K. et al. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. **Kidney international**, v. 58, n. 1, p. 353–62, jul. 2000.
- CHIMATA, M. et al. Low serum aminotransferase activity in patients undergoing regular hemodialysis. **Nihon Jinzo Gakkai shi**, v. 36, n. 4, p. 389–95, abr. 1994.
- COCKCROFT, D. W.; GAULT, M. H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. **Nephron**, v. 16, n. 1, p. 31–41, jan. 1976.
- COSTA-HONG, V. et al. Artigo Original estresse oxidativo e Disfunção endotelial na Doença renal Crônica introdução. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 92, n. 5, p. 413–418, 2009.
- CUSUMANO, A. M.; GONZÁLEZ BEDAT, M. C. Chronic kidney disease in Latin America: time to improve screening and detection. **Clinical journal of the American Society of Nephrology**, v. 3, n. 2, p. 594–600, mar. 2008.
- DU BOIS, D. A Formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. **Archives of Internal Medicine**, v. XVII, n. 62, p. 863, 1 jun. 1916.

FOLEY, R. N.; PARFREY, P. S.; SARNAK, M. J. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. **American journal of kidney diseases**, v. 32, n. 5 Suppl 3, p. S112–9, nov. 1998.

GOUVEIA, E. C. et al. Identification of the cutoff value for serum alanine aminotransferase in hepatitis C screening of patients with chronic renal failure on hemodialysis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 1, p. 18–21, 2004.

GRESSNER, A. M.; SITTEL, D. Plasma pyridoxal 5'-phosphate concentrations in relation to apo-aminotransferase levels in normal, uraemic, and post-myocardial infarct sera. **Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry**, v. 23, n. 10, p. 631–6, out. 1985.

GUH, J. Y. et al. Impact of decreased serum transaminase levels on the evaluation of viral hepatitis in hemodialysis patients. **Nephron**, v. 69, n. 4, p. 459–65, jan. 1995.

HIMMELFARB, J. et al. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. **Kidney international**, v. 62, n. 5, p. 1524–38, nov. 2002.

HIMMELFARB, J.; HAKIM, R. M. Oxidative stress in uremia. **Current opinion in nephrology and hypertension**, v. 12, n. 6, p. 593–8, nov. 2003.

HUANG, J. et al. Association between serum aspartate transaminase and homocysteine levels in hemodialysis patients. **American journal of kidney diseases**, v. 40, n. 6, p. 1195–201, dez. 2002.

JUNG, K. et al. On the pyridoxal-5'-phosphate stimulation of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in serum and erythrocytes of patients undergoing chronic haemodialysis and with kidney transplants. **Clinica chimica acta**, v. 115, n. 2, p. 105–10, 10 set. 1981.

KATKOV, W. N. Elevated Serum Alanine Aminotransferase Levels in Blood Donors: The Contribution of Hepatitis C Virus. **Annals of Internal Medicine**, v. 115, n. 11, p. 882, 1 dez. 1991.

KEITH, D. S. et al. Longitudinal follow-up and outcomes among a population with chronic kidney disease in a large managed care organization. **Archives of internal medicine**, v. 164, n. 6, p. 659–63, 22 mar. 2004.

KHAIRA, A. et al. Endothelial function and oxidative stress in chronic kidney disease of varying severity and the effect of acute hemodialysis. **Renal failure**, v. 33, n. 4, p. 411–7, jan. 2011.

KIM, Y. J. et al. Rapid normalization of alanine aminotransferase predicts viral response during combined peginterferon and ribavirin treatment in chronic hepatitis C patients. **The Korean journal of hepatology**, v. 18, n. 1, p. 41–7, mar. 2012.

KITIYAKARA, C. et al. Non-traditional cardiovascular disease risk factors in end-stage renal disease: oxidate stress and hyperhomocysteinemia. **Current opinion in nephrology and hypertension**, v. 9, n. 5, p. 477–87, set. 2000.

LEE, D. H. et al. gamma-Glutamyltransferase, obesity, and the risk of type 2 diabetes: observational cohort study among 20,158 middle-aged men and women. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 89, n. 11, p. 5410–4, nov. 2004.

LEE, D. S. et al. Gamma glutamyl transferase and metabolic syndrome, cardiovascular disease, and mortality risk: the Framingham Heart Study. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 27, n. 1, p. 127–33, jan. 2007.

LEE, D.-H. et al. Gamma-glutamyltransferase is a predictor of incident diabetes and hypertension: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. **Clinical chemistry**, v. 49, n. 8, p. 1358–66, ago. 2003.

LEE, D.-H.; BLOMHOFF, R.; JACOBS, D. R. Review Is Serum Gamma Glutamyltransferase a Marker of Oxidative Stress? **Free Radical Research**, v. 38, n. 6, p. 535–539, jan. 2004.

LEVEY, A. S. et al. Chronic kidney disease as a global public health problem: approaches and initiatives - a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes. **Kidney international**, v. 72, n. 3, p. 247–59, ago. 2007.

LEVEY, A. S. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **American journal of kidney diseases**, v. 39, n. 2 Suppl 1, p. S1–266, fev. 2002.

LEVEY, A. S. et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **Annals of internal medicine**, v. 139, n. 2, p. 137–47, 15 jul. 2003.

LEVEY, A. S. et al. The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. **Kidney international**, v. 80, n. 1, p. 17–28, jul. 2011.

LIBERATO, I. et al. Liver enzymes in patients with chronic kidney disease undergoing peritoneal dialysis and hemodialysis. **Clinics**, v. 67, n. 2, p. 131–134, 9 fev. 2012.

LOPES, E. P. et al. Serum alanine aminotransferase levels, hematocrit rate and body weight correlations before and after hemodialysis session. **Clinics (São Paulo, Brazil)**, v. 64, n. 10, p. 941–5, jan. 2009.

LOPES, E. P. et al. Serum alanine aminotransferase levels, hematocrit rate and body weight correlations before and after hemodialysis session. **Clinics**, v. 64, n. 10, p. 941–5, jan. 2009.

LOPES, E. P. A et al. Determination of the cut-off value of serum alanine aminotransferase in patients undergoing hemodialysis, to identify biochemical activity in patients with hepatitis C viremia. **Journal of clinical virology**, v. 35, n. 3, p. 298–302, mar. 2006.

LOPES, E. P. A. et al. Determination of the cut-off value of serum alanine aminotransferase in patients undergoing hemodialysis, to identify biochemical activity in patients with hepatitis C viremia. **Journal of clinical virology**, v. 35, n. 3, p. 298–302, mar. 2006.

MAIA, L. P. V. et al. Hepatitis C virus screening and clinical monitoring of biomarkers in patients undergoing hemodialysis. **Journal of medical virology**, v. 81, n. 7, p. 1220–31, jul. 2009.

MILOTIC, I. et al. Modified range of alanine aminotransferase is insufficient for screening of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. **Scandinavian journal of urology and nephrology**, v. 36, n. 6, p. 447–9, jan. 2002.

NUGENT, R. A et al. The burden of chronic kidney disease on developing nations: a 21st century challenge in global health. **Nephron. Clinical practice**, v. 118, n. 3, p. c269–77, jan. 2011.

ONGAJOOTH, L. et al. Role of lipid peroxidation, trace elements and anti-oxidant enzymes in chronic renal disease patients. **Journal of the Medical Association of Thailand**, v. 79, n. 12, p. 791–800, dez. 1996.

ONO, K.; ONO, T.; MATSUMATA, T. The pathogenesis of decreased aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activity in the plasma of hemodialysis patients: the role of vitamin B6 deficiency. **Clinical nephrology**, v. 43, n. 6, p. 405–8, jun. 1995.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Global Status Report on Alcohol 2004. 2004.

POSTORINO, M. et al. Gammaglutamyltransferase in ESRD as a predictor of all-cause and cardiovascular mortality: another facet of oxidative stress burden. **Kidney international**, v. 74, n. 111, p. S64–6, dez. 2008.

PRATT, D. S.; KAPLAN, M. M. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. **The New England journal of medicine**, v. 342, n. 17, p. 1266–71, 27 abr. 2000.

PUCHADES MONTESA, M. J. et al. Study of oxidative stress in advanced kidney disease. **Nefrología**, v. 29, n. 5, p. 464–73, jan. 2009.

RAMPINO, T. et al. Hemodialysis prevents liver disease caused by hepatitis C virus: role of hepatocyte growth factor. **Kidney international**, v. 56, n. 6, p. 2286–91, dez. 1999.

RUTTMANN, E. et al. Gamma-glutamyltransferase as a risk factor for cardiovascular disease mortality: an epidemiological investigation in a cohort of 163,944 Austrian adults. **Circulation**, v. 112, n. 14, p. 2130–7, 4 out. 2005.

RYU, S. et al. gamma-Glutamyltransferase as a predictor of chronic kidney disease in nonhypertensive and nondiabetic Korean men. **Clinical chemistry**, v. 53, n. 1, p. 71–7, jan. 2007.

SCHINDHELM, R. K. et al. Alanine aminotransferase as a marker of non-alcoholic fatty liver disease in relation to type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. **Diabetes/metabolism research and reviews**, v. 22, n. 6, p. 437–43, 2006.

SORBI, D.; BOYNTON, J.; LINDOR, K. D. The ratio of aspartate aminotransferase to alanine aminotransferase: potential value in differentiating nonalcoholic steatohepatitis from alcoholic liver disease. **The American journal of gastroenterology**, v. 94, n. 4, p. 1018–22, abr. 1999.

STENVINKEL, P. Coronary Artery Disease in End-Stage Renal Disease: No Longer a Simple Plumbing Problem. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 14, n. 7, p. 1927–1939, 1 jul. 2003.

TARGHER, G. et al. Relationship between serum gamma-glutamyltransferase and chronic kidney disease in the United States adult population. Findings from the National Health and Nutrition Examination Survey 2001-2006. **Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases**, v. 20, n. 8, p. 583–90, out. 2010.

VILLELA-NOGUEIRA, C. A. et al. Gamma-glutamyl transferase (GGT) as an independent predictive factor of sustained virologic response in patients with hepatitis C treated with interferon-alpha and ribavirin. **Journal of clinical gastroenterology**, v. 39, n. 8, p. 728–30, set. 2005.

WHITFIELD, J. B. Gamma glutamyl transferase. **Critical reviews in clinical laboratory sciences**, v. 38, n. 4, p. 263–355, ago. 2001.

WOLF, P. L. et al. Low aspartate transaminase activity in serum of patients undergoing chronic hemodialysis. **Clinical chemistry**, v. 18, n. 6, p. 567–8, jun. 1972.

APÊNDICE A

ARTIGO DE REVISÃO

Níveis séricos de enzimas hepáticas em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise:
revisão sistemática

Luís Henrique Bezerra Cavalcanti Sette; Edmundo Pessoa de Almeida Lopes

Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal de Pernambuco- UFPE, Brazil.

RESUMO

OBJETIVO: realizar revisão sistemática sobre os níveis séricos das enzimas hepáticas: aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gamma-glutamil transferase (GGT) em pacientes com doença renal crônica (DRC) em hemodiálise (HD).

MÉTODOS: Foram realizadas buscas de artigos originais em pacientes adultos com DRC em HD, publicados até janeiro de 2013, que continham os termos: “transaminases”; “aspartate aminotransferase”; “alanine aminotransferase”; “gamma glutamyl transferase”; “liver enzymes” AND “dialysis” OR “hemodialysis”.

RESULTADOS: Foram encontrados 823 artigos. Após avaliação de critérios de inclusão e exclusão foram selecionados 49 artigos. Verificou-se que os pacientes com DRC em HD apresentam níveis séricos reduzidos de aminotransferases decorrente da hemodiluição; dos menores níveis de piridoxina ou dos níveis elevados de homocisteína. Pacientes com DRC em HD infectados pelo vírus da hepatite C (HCV) também apresentam níveis séricos de aminotransferases diminuídos em relação àqueles pacientes sem DRC. Esta redução se deve em parte à diminuição da viremia ocasionada pelo método dialítico, à produção de fator de crescimento do hepatócito ou de α -interferon endógeno e à ativação linfocitária que diminuiriam a ação viral sobre o hepatócito. Encontraram-se poucos estudos sobre os níveis séricos de GGT, mas aparentemente, não foram diferentes em pacientes com ou sem DRC.

CONCLUSÕES: Nos pacientes com DRC em HD com ou sem infecção pelo HCV, os níveis séricos de aminotransferases encontram-se diminuídos em relação àqueles com função renal preservada e esta redução tem origem multifatorial.

KEYWORDS: Transaminases. Aspartato aminotransferase. Alanine aminotransferase. Gamma glutamiltransferase. Diálise.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To conduct a systematic review on the serum levels of the enzymes: aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and gamma-glutamyl transferase (GGT) in patients with chronic kidney disease (CKD) on hemodialysis (HD).

METHOD: Searches for original articles, published up to January 2013, on adult patients with CKD in HD were made, which contained the words: "transaminases" "aspartate aminotransferase" "alanine aminotransferase" "gamma glutamyl transferase," "liver enzymes" "AND" dialysis "OR" hemodialysis ".

RESULTS: 823 articles were found. After evaluating inclusion and exclusion criteria 49 articles were selected. It was found that the CKD patients on HD have reduced serum levels of aminotransferases due to: hemodilution; lower pyridoxine levels; or elevated homocysteine levels. CKD patients on HD infected by the hepatitis C virus (HCV) also have lower aminotransferase levels compared to those patients without CKD. This reduction is due in part to decreased viremia caused by the dialysis method, to the production of a hepatocyte growth factor, endogenous interferon- α and to lymphocyte activation that would decrease viral action on the hepatocyte. Few studies were found on GGT serum levels but apparently, they showed there were no differences between patients with or without CKD.

CONCLUSION: Serum levels of aminotransferases are lower in CKD patients on HD, with or without viral hepatitis, than in individuals with normal renal function and this reduction has a multifactorial origin.

KEYWORDS: Transaminases. Aspartate aminotransferase. Alanine aminotransferase. Gamma-glutamyl transferase. Dialysis.

INTRODUÇÃO

Os níveis séricos das enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gamma glutamiltransferase (GGT) constituem marcadores de agressão ao hepatócito (1). Assim, encontram-se elevados em diversas enfermidades como: nas hepatites virais crônicas (2), doença hepática gordurosa não alcoólica (3), hepatite autoimune (4), hemocromatose (5), doença hepática alcoólica (6) e auxiliam tanto no diagnóstico como no seguimento e na resposta ao tratamento, por refletirem atividade inflamatória no parênquima hepático (7–9).

No entanto, pacientes com doença renal crônica (DRC) em hemodiálise (HD) apresentam menores níveis séricos de aminotransferases do que aqueles com função renal normal, por razões ainda pouco esclarecidas (10–13). Este perfil pode comprometer o diagnóstico, manejo clínico e tratamento destes pacientes.

O objetivo primário desta revisão de literatura foi averiguar fato propiciam os menores níveis das enzimas ALT e AST, bem como avaliar os níveis séricos de GGT nos pacientes com DRC em HD. Foi excluída desta revisão a avaliação da fosfatase alcalina, uma vez que esta enzima apresenta uma “fração óssea”, envolvida nos distúrbios do metabolismo mineral ósseo, que ocorre nos pacientes com DRC.

MÉTODO

A revisão sistemática da literatura foi realizada a partir das bases de dados Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MedLine), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Scientific Electronic Library Online (SciELO) e biblioteca virtual da COCHRANE, tendo a busca dos dados ocorrida em janeiro de 2013.

Para cada busca, foi elaborada uma estratégia específica para o cruzamento dos descritores (MeSH ou DeCS) – palavras-chaves para recuperação de assuntos da literatura científica – e termos livres (TL), aqueles não encontrados no MeSH ou DeCS, mas de relevância para a pesquisa. Não houve limite de tempo e foram incluídos artigos publicados até janeiro de 2013.

As combinações de descritores utilizadas na busca nas bases de dados do MedLine e Cockrane foram: "hemodialysis"[All Fields] AND "liver enzymes"[All Fields] AND "humans"[MeSH Terms]; "hemodialysis"[All Fields] AND "aspartate transaminase"[All Fields] AND "humans"[MeSH Terms]; "hemodialysis"[All Fields] AND "gamma-glutamyltransferase"[All Fields] AND "humans"[MeSH Terms]; "hemodialysis"[All Fields] AND "alanine transaminase"[All Fields] AND "humans"[MeSH Terms]; "dialysis"[All Fields] AND "liver enzymes"[All Fields] AND "humans"[MeSH Terms]; "dialysis"[All Fields] AND "aspartate transaminase"[All Fields] AND "humans"[MeSH Terms]; "dialysis"[All Fields] AND "gamma-glutamyltransferase"[All Fields] AND "humans"[MeSH Terms]; "dialysis"[All Fields] AND "alanine transaminase"[All Fields] AND "humans"[MeSH Terms];

Nas bases de dados LILACS e SciELO foram utilizados os descritores (DeCS): “diálise”(DeCS) OR “hemodiálise” (TL) AND “transaminase”(DeCS) OR “aspartato aminotransferase” (DeCS) OR “alanina aminotransferase” (DeCS) OR “gama-Glutamiltransferase” (DeCS) OR “enzimas hepáticas” (TL).

Os critérios para inclusão dos estudos encontrados nas buscas das bases de dados foram: artigos originais, pacientes adultos com DRC em HD e publicados até janeiro de 2013. A busca foi realizada com artigos nos idiomas: português, inglês e espanhol.

Também foram incluídos artigos considerados relevantes, citados nas referências daqueles inicialmente selecionados. Foram excluídos artigos que envolviam pacientes com insuficiência renal aguda; artigos para descrição de prevalência, vias de transmissão e tratamento das hepatites; toxicidade medicamentosa ou exógena e aqueles envolvendo pacientes transplantados.

RESULTADOS

Foram encontrados 823 artigos, mas após a leitura do título foram excluídos 215 que claramente não se enquadravam nos critérios de inclusão da revisão. Outros 472 artigos apresentavam critérios de exclusão e foram retirados das análises, restando 136 artigos. Após a leitura dos abstracts foram excluídos outros 41 artigos. Após esta etapa, foram avaliados e excluídos mais 46 artigos repetidos nas bases de dados. Em seguida, foi realizada a leitura de 49 artigos originais completos. Destes, 6 foram excluídos, totalizando 43 artigos. Posteriormente, 6 artigos foram selecionados das referências daqueles já incluídos por serem

considerados relevantes, totalizando 49 artigos. Os critérios de exclusão e o total de artigos selecionados são demonstrados na figura 1.

Devido à heterogeneidade dos estudos e a predominância de artigos envolvendo as enzimas hepáticas em pacientes com hepatites virais, os resultados foram didaticamente divididos em dois tópicos para melhor compreensão das análises. Um tópico sobre as enzimas hepáticas em pacientes com DRC em HD sem infecção pelos vírus das hepatites e outro sobre estas enzimas nos pacientes com infecção Tabelas 1 e 2.

Enzimas Hepáticas em Pacientes com DRC em Hemodiálise

Estudos desde a década de 70 já revelavam que os níveis séricos de AST e ALT estavam diminuídos em pacientes com DRC em HD. Levantou-se a possibilidade que esta redução poderia ser ocasionada por alguns fatores como: retirada das aminotransferases durante a sessão de HD; por elevados níveis de lactato sérico que, durante as dosagens bioquímicas, consumiria rapidamente o NADPH e resultaria em baixos níveis das aminotransferases; pela presença de fatores urêmicos, que inibiriam a atividade destas enzimas; e, finalmente, pela deficiência de piridoxina, cofator para a síntese das aminotransferases (14,15).

Investigando a possibilidade do déficit de piridoxina, já na década de 80, Jung e cols avaliaram os níveis de aminotransferases em pacientes com DRC em HD e não observaram diferenças entre os valores antes e após adição de piridoxal-5'-fosfato (PLP), forma ativa da piridoxina, na reação para dosagem destas enzimas (12). Do mesmo modo, Gressner e cols avaliaram 26 pacientes em HD e não encontraram qualquer relação entre as flutuações dos níveis plasmáticos de PLP e os níveis séricos de ALT ou AST (13).

Diferentemente, já na década de 90, Ono e cols realizaram estudo prospectivo em que administraram piridoxina (30 mg/dia) a 52 pacientes com DRC em HD por 5 semanas. Antes da suplementação (Dia 0), 17 pacientes (33%) apresentavam níveis plasmáticos de pPLP deficientes (Grupo 1) e o restante (35 pacientes) apresentava valores de pPLP normais (Grupo 2). Houve correlação positiva entre os níveis de pPLP e de AST ($r = 0,57$; $p < 0,01$) ou de ALT ($r = 0,68$; $p < 0,01$). As médias dos níveis séricos de AST ($9,2 \pm 0,3$ vs $13,4 \pm 0,7$ U/L) e ALT ($8,6 \pm 0,6$ vs $11,4 \pm 0,9$ U/L) foram significativamente menores no grupo 1 do que as do Grupo 2, respectivamente. Estes pesquisadores concluíram que os baixos níveis de AST e ALT em pacientes sob HD eram, em parte, devido à deficiência de piridoxina que serve como coenzima na síntese das aminotransferases (14).

Yasuda e cols, não encontraram deficiência de piridoxina em um grupo de 305 pacientes com DRC em HD, quando comparado a 556 indivíduos saudáveis. Naqueles em HD, as médias dos níveis séricos de AST e ALT foram $9,2 \pm 2,4$ e $7,4 \pm 1,7$ UI/L, respectivamente e nos saudáveis $22,7 \pm 5,4$ e $18,0 \pm 4,0$ UI/L, respectivamente com $p < 0,001$, nas duas comparações (16).

Portanto, o único estudo que demonstrou associação entre a piridoxina e os níveis séricos de aminotransferases foi realizado por Ono e cols, que teve caráter prospectivo e intervencionista (14). No entanto, a influência da piridoxina nos baixos níveis séricos de aminotransferases ainda é incerta uma vez que o maior e mais recente estudo não encontrou tal associação (16).

Neste mesmo estudo, Yasuda e cols coletaram aminotransferases antes e após o procedimento dialítico e observaram aumento de 15 a 35% após a sessão de HD, aventando a hipótese de hemoconcentração para a elevação das aminotransferases encontradas após o procedimento dialítico (16).

De fato, Lopes e cols descreveram associação entre a perda de peso (ultrafiltração) durante a HD e o aumento dos níveis séricos de ALT em 146 pacientes com DRC. A perda de peso média destes pacientes foi 5,3% e os níveis séricos médios de ALT antes e após a HD foi 18,8 e 23,9 UI/L, respectivamente, denotando significativo aumento de 28,1%. A perda de peso foi diretamente correlacionada com o aumento do nível de ALT ($r = 0,3$; $p < 0,001$) (17). Posteriormente, esta hipótese também foi corroborada por Liberato e cols que encontraram menores níveis séricos antes da HD quando comparados após o procedimento dialítico, não apenas de ALT, mas também de AST e GGT (10).

Mais recentemente, Sombolos e cols avaliaram 53 pacientes com DRC em HD, dividindo-os em três grupos: HD, ultrafiltração isolada e HD euvolêmica (sem retirada de líquidos) e verificaram os efeitos da hemodiluição nos níveis séricos das aminotransferases. Realmente, em pacientes que realizaram HD euvolêmica não houve diferenças entre os níveis de ALT e AST antes e após o procedimento. Quando realizada a ultrafiltração isolada ou HD, no entanto, houve elevação dos níveis de aminotransferases quando comparados os valores antes e após o procedimento. Estes autores concluíram que a elevação dos níveis séricos de aminotransferases após a HD ocorreria devido, sobretudo, à hemoconcentração induzida pela ultrafiltração (18). Desta forma, os menores níveis séricos de ALT e AST em pacientes com DRC não poderiam ser atribuídos à remoção de inibidores da atividade enzimática das aminotransferases, conforme previamente aventado por outros autores (11,15).

Diferentemente, Huang e cols avaliaram os níveis séricos de aminotransferases e de homocisteína em 145 pacientes em HD. Todos os pacientes apresentavam níveis elevados de homocisteína, que foram inversamente relacionados aos níveis de AST ($r = 0,4$; $p < 0,001$). Não houve relação entre os níveis séricos de homocisteína e de ALT. Assim, os níveis séricos de AST poderiam refletir a atividade metabólica elevada da homocisteína e influenciar na dosagem dos seus níveis séricos (19).

Adicionalmente, alguns autores levantaram a possibilidade de que os níveis séricos das aminotransferases não estariam relacionados com a terapia dialítica. Hung e cols avaliaram 90 pacientes em diálise peritoneal (DP) e 526 adultos saudáveis e encontraram concentração média de ALT de 15 UI/L nos pacientes em DP, em oposição a 22 UI/L no grupo controle ($p < 0,0001$) (20). Esses dados, em conjunto com os demonstrados anteriormente, suportam o fato de que os pacientes com DRC em diálise apresentam níveis mais baixos de ALT, independentemente do método dialítico empregado.

Posteriormente, alguns pesquisadores sugeriram que as aminotransferases poderiam estar diminuídas ainda em estágios mais precoces da DRC, ou seja, ainda durante tratamento conservador. De fato, Fabrizi e cols avaliaram 407 pacientes com DRC antes do início de diálise, 431 controles saudáveis e 171 pacientes em diálise e observaram que os pacientes com DRC em tratamento conservador apresentavam níveis séricos de AST ($17,9 \pm 8$ UI/L versus $20,4 \pm 6,8$ UI/L [$p = 0,00001$]); e ALT ($17,5 \pm 10$ UI/L versus $21,7 \pm 11,3$ UI/L; [$p = 0,00001$]) diminuídos em relação aos controles saudáveis. Da mesma maneira, os pacientes em diálise apresentavam níveis séricos de aminotransferases menores do que os pacientes com DRC em tratamento conservador (AST, $16,6 \pm 11,6$ UI/L versus $17,9 \pm 8$ UI/L [$p = 0,01$] e ALT $16,3 \pm 9,4$ UI/L versus $17,5 \pm 10$ UI/L [$p = 0,04$], respectivamente) (21).

Verifica-se, portanto, que os pacientes com DRC apresentam níveis séricos reduzidos das aminotransferases e que esta diminuição parece ocorrer antes do início da terapia dialítica.

Há alguns anos, os níveis séricos de GGT também vêm sendo avaliados em pacientes com DRC em HD. Em 1975, Fine e cols avaliaram os níveis séricos de GGT em 32 pacientes com DRC em HD e encontraram níveis elevados desta enzima em 37% dos casos (22).

No entanto, outros autores, em estudos mais recentes e com maior número de pacientes, demonstraram que aqueles com DRC em HD apresentam níveis séricos de GGT semelhantes aos dos pacientes com função renal normal (23,24). Realmente, Fabrizi e cols, avaliando os níveis séricos de GGT em 573 pacientes em diálise e em 343 indivíduos saudáveis observaram valores médios de 25,8 e 23,3 UI/L, respectivamente ($p = 0,081$). Não

se observou diferença significativa dos níveis de GGT entre os dois grupos mesmo após correção para sexo, raça e idade (24).

Em contrapartida, à luz da hipótese da hemodiluição, Liberato e cols avaliaram 40 pacientes com DRC em HD e realizaram a dosagem sérica de GGT imediatamente antes e após o procedimento dialítico. Os níveis séricos de GGT quando divididos pelo LSN foram de 0,88 UI/L antes da HD e 1,14 após HD ($p = 0,001$), compatível com o aumento do hematócrito sérico, o que caracteriza a hemoconcentração (Ht antes da HD 36,7% e após HD 41,3%; $p < 0,001$) (10). Portanto, após o procedimento dialítico, os valores médios de GGT foram maiores do que o LSN, sugerindo que os níveis séricos de GGT, na verdade, deveriam estar alterados nos pacientes com DRC em HD.

Enfim, os níveis séricos de GGT em pacientes com DRC em HD não se mostram reduzidos como os das aminotransferases, mas, possivelmente, também sofrem influências da hemodiluição pela retenção líquida dos pacientes com DRC.

Enzimas Hepáticas em Pacientes com Hepatites Virais em Hemodiálise

Pacientes com DRC em HD infectados pelo vírus da hepatite C (HCV) apresentam maiores níveis séricos de aminotransferases em relação aqueles em HD não infectados (25–29). Assim como, aqueles infectados pelos HCV com DRC em HD apresentam níveis séricos de aminotransferases menores do que aqueles pacientes infectados sem DRC (30–33). Com efeito, os menores níveis de aminotransferases dificultam a avaliação e manejo clínico dos pacientes em HD infectados pelo HCV (34).

Decerto, Cotler e cols avaliaram dados laboratoriais e histológicos de 92 pacientes com HCV (46 candidatos a transplante renal em HD e 46 indivíduos controles com função renal normal) e encontraram que os níveis de ALT no soro foram menores ($p < 0,001$) nos pacientes com DRC em HD, quando comparados aos controles (35).

A menor elevação dos níveis séricos de aminotransferases em pacientes com DRC em HD com hepatites virais pode ser decorrente, além dos fatores relacionados à DRC discutidos anteriormente, de alguns outros fatores.

Uma das possibilidades seria a diminuição da viremia como consequência do método dialítico. Tseng e cols avaliaram 30 pacientes infectados com o vírus da hepatite B (HBV) e coletaram HBV-DNA imediatamente antes e após o procedimento dialítico. Os níveis médios

de HBV-DNA, antes ($3,823 \pm 1,130 \text{ Log}_{10} \text{ cópias/mL}$) foram maiores do que depois ($3,686 \pm 1,114 \text{ Log}_{10} \text{ cópias/mL}$) da sessão de HD ($p = 0,004$) (36).

Do mesmo modo, Badalamenti e cols avaliaram a viremia em 11 pacientes com DRC em HD com infecção pelo HCV. As dosagens foram realizadas antes, imediatamente depois, 24 horas e 48 horas após o término da sessão de HD. Os títulos de HCV-RNA diminuíram em todos os pacientes após a diálise (variação de 3% a 95%, $p = 0,001$) e em seguida aumentaram progressivamente até retornarem aos níveis basais em 48 horas. Houve diminuição da carga viral imediatamente após a HD quando comparados aos níveis antes do procedimento ($p = 0,005$) (37).

Adicionalmente, Kaiser e cols avaliaram a viremia e a sorologia de pacientes infectados pelo HCV durante 20 sessões de HD e demonstraram que tanto os títulos de anti-HCV quanto de HCV-RNA diminuem durante o procedimento dialítico. Observaram também que houve redução de 77% dos títulos de anti-HCV, de maneira linear, durante a sessão de HD e de 73% do HCV-RNA ao término da HD. No entanto, a redução da viremia foi observada apenas nas últimas duas horas de diálise. Os autores sugeriram que os níveis séricos de HCV-RNA e de anti-HCV seriam regulados ou removidos de maneira independente durante a diálise e que a HD poderia ser uma terapia benéfica quando associada à terapia antiviral (38).

Apesar de ocorrer diminuição da viremia após a sessão de HD, esta redução pode não ser significativa. Com efeito, Azevedo e cols. avaliaram 66 pacientes infectados pelo HCV em HD e 264 pacientes também infectados com função renal normal e não demonstraram diferenças entre as viremias dos dois grupos ($5,3 \times 10^5 \text{ UI / mL}$ no grupo em HD e $6,6 \times 10^5 \text{ UI / mL}$ no grupo com função renal normal; $p = 0,23$) (39).

Outro fator implicado na redução dos níveis séricos das aminotransferases seria a maior produção do fator de crescimento de hepatócitos (HGF) induzido pela HD, já que esta substância estimula a mitogênese do hepatócito, acelera a regeneração hepática e protege o fígado contra toxinas (40). Rampino e cols avaliaram 10 pacientes em HD com hepatite C e dosaram o HGF antes, durante (15 minutos), imediatamente depois e 24 horas após o término do procedimento dialítico e compararam com pacientes infectados pelo HCV que não estavam em HD. Os níveis séricos de HGF foram similares antes do procedimento ($0,25 \text{ ng/mL}$), quando comparados com os controles ($0,17 \text{ ng/mL}$), todavia, após o procedimento dialítico os níveis séricos de HGF aumentaram significativamente ($5,51$ e $2,67 \text{ ng/mL}$ após 15 min e após a sessão de HD, respectivamente; $p < 0,001$) quando comparado aos pacientes não dialíticos.

Mesmo após 24 horas do procedimento, os níveis séricos de HGF continuavam elevados em relação aos pacientes que não estavam em HD (0,17 ng/mL vs. 0,41 ng/mL; $p < 0,05$) (40).

De modo semelhante, Badalamenti e cols avaliaram os níveis séricos de Interferon Alfa (INF- α), citocina com ação imunomoduladora e antiviral, em 11 pacientes com DRC em HD infectados pelo HCV. As dosagens foram realizadas antes (7.24 ± 2.5 pg/mL), imediatamente depois (14.2 ± 3.3 pg/mL), 24 horas (14.4 ± 4.3 pg/mL) e 48 horas após (8.8 ± 3.1 pg/mL) o término da sessão de HD. Houve elevação significativa dos níveis séricos de INF- α em 10 dos 11 pacientes e os valores retornaram aos níveis basais após 48 horas (37). Apesar do número pequeno de pacientes avaliados, este comportamento sugere que a sessão de HD induz a produção de INF- α , que deve reduzir a viremia do HCV e, consequentemente, os níveis séricos de aminotransferases.

Maia e cols avaliaram a ativação linfocitária, através da aferição da porcentagem de linfócitos CD69+, de pacientes infectados pelo HCV em HD e demonstraram relação inversa entre os níveis de ALT e a ativação linfocitária naqueles pacientes infectados pelo HCV ($r = 0,56$; $p = 0,05$). Estes autores sugeriram que a ativação linfocitária seria fator protetor contra o HCV e, portanto, contra a agressão hepática (27).

Dessa forma, o aumento dos níveis séricos de INF- α , de HGF e a ativação linfocitária decorrentes da sessão de HD poderiam justificar o fato de que pacientes com DRC em HD infectados pelo HCV apresentam curso mais indolente da doença e lesões histológicas menos graves quando comparados aos pacientes não dialíticos (32,41,42).

Apesar dos testes bioquímicos não serem custo-efetivos em relação aos testes virológicos na detecção de novos casos de hepatites C aguda (43), as aminotransferases são preditoras da forma aguda de hepatite em virtude da elevação dos seus níveis séricos (44,45). Contudo, os níveis séricos de ALT não apresentam acurácia no diagnóstico da infecção crônica pelo HCV (44). Decerto, Saab e cols demonstraram, após avaliação de 2.440 pacientes com DRC em HD, que os níveis séricos de ALT, que apresentaram elevação recente, não evidenciaram nem sensibilidade (21%) nem adequado valor preditivo positivo (16%) para diagnosticar infecção crônica pelo HCV (44).

Em virtude da menor acurácia da ALT no diagnóstico da hepatite crônica no paciente com DRC em HD, vários autores têm buscado novos pontos de corte para melhorar a sensibilidade e especificidade, e estabelecer de forma mais abalizada os níveis séricos de ALT que estariam relacionados com atividade histológica e virológica (46–49). Para tanto, vem se testando reduções do LSN da ALT para melhorar sua acurácia no diagnóstico das agressões ao hepatócito.

Gouveia e cols, após avaliar 202 pacientes com DRC em HD, sendo 15 (7,4%) com anti-HCV positivo, determinaram que o ponto de corte para ALT situou-se em 60% do LSN, com sensibilidade de 67% e especificidade de 75% na identificação do anti-HCV (48). Redução semelhante foi observada por Lopes e cols, que avaliaram 217 pacientes em HD, destes 18 (8,3%) apresentavam o anti-HCV positivo, 17 (7,8%) dos quais também eram HCV-RNA positivo. O valor de corte de ALT para distinguir o anti-HCV positivo de pacientes negativos foi 50% do LSN (sensibilidade = 67%; especificidade = 83%). De acordo com o HCV-RNA, o valor de corte para ALT foi 45% do LSN com sensibilidade de 71% e especificidade de 80% (47). Estes autores concluíram, portanto, que a redução do LSN da ALT aumentaria a acurácia para o diagnóstico da infecção crônica pelo HCV em pacientes com DRC em HD.

Estudo realizado em Taiwan, por Guh e cols, com 217 pacientes em HD e 804 controles, revelou que os níveis séricos de aminotransferases foram incapazes de detectar pacientes com HBsAg. No entanto, o melhor ponto de corte para detectar a presença de anti-HCV foi 18 UI para AST (sensibilidade 73,8% e especificidade de 55,4%) e 16 UI para ALT (sensibilidade 61,2% e especificidade de 73%). Os autores propuseram reduções do LSN de 45% para AST e de 34% para a ALT no sentido de melhorar a acurácia para o diagnóstico do anti-HCV(46).

Avaliando 22 pacientes com DRC em HD, com anti-HCV negativo e a pesquisa do HCV-RNA positiva, Caramelo e cols demonstraram que os níveis séricos de ALT e AST, podem ser úteis no diagnóstico da infecção pelo HCV, em locais onde a pesquisa do HCV-RNA não esteja disponível. Estes autores encontraram HCV-RNA positivo em 28,2% dos pacientes com anti-HCV negativo pesquisados por ELISA de segunda geração. Dentro do grupo com anti-HCV negativo, os valores médios de AST e ALT foram maiores ($P < 0,001$ e $P < 0,001$) nos casos com HCV-RNA positivos do que nos negativos (50).

Da mesma forma, outros autores, investigando a correlação entre as aminotransferases e viremia, demonstraram associação entre o HCV-RNA e os níveis séricos de AST e ALT (25,31,49,51). Fabrizi e cols demonstraram que pacientes com HCV-RNA positivo apresentaram níveis séricos de AST ($p < 0,008$) e ALT ($p < 0,0001$) superiores aos dos pacientes negativos (25). Igualmente, Espinosa e cols demonstraram que os níveis séricos de ALT podem ser preditores de viremia em pacientes com DRC em HD com anti-HCV positivo. Neste estudo, níveis séricos de ALT acima de 27 UI apresentaram 50% de sensibilidade e 100% de especificidade na detecção de viremia (51). Quando utilizaram este mesmo valor de ALT, Milotic e cols encontraram diferenças ($p < 0,05$) entre pacientes com

HCV-RNA positivo (40%) e negativo (9,6%). Entretanto, 60% dos pacientes com HCV-RNA positivo ainda apresentavam níveis séricos de ALT abaixo de 27 UI (49).

De maneira semelhante, Fabrizi e cols observaram que os pacientes infectados pelo HBV e com HBV-DNA positivo apresentaram níveis séricos de aminotransferase mais elevados do que os HBV-DNA negativos $AST\ 22,8 \pm 31,3\ UI/L$ vs. $14,2 \pm 9,7\ UI/L$ ($p = 0,00001$); e $ALT\ 25,0 \pm 41,6\ UI/L$ vs. $13,9 \pm 41,6\ UI/L$ ($p = 0,00001$) (33).

Diferentemente, Li e cols avaliaram 32 pacientes com DRC em HD e anti-HCV positivo. Destes, 12 pacientes (37,5%) apresentavam HCV-RNA positivo e 20 pacientes (62,5%) HCV-RNA negativo. A média de ALT dos pacientes com HVC-RNA positivo foi $15,4 \pm 6,4\ UI/L$ e dos pacientes com HCV-RNA negativo de $14,8 \pm 6,4\ UI/L$ ($p = 0.793$). Ou seja, não houve diferenças entre os níveis séricos de ALT em pacientes com DRC em HD com anti-HCV com ou sem viremia (52). Talvez, neste estudo, o número de pacientes em cada subgrupo tenha sido insuficiente para revelar diferenças.

Como nos pacientes com função renal preservada, as aminotransferases isoladamente não apresentam relação com a histologia hepática em pacientes infectados pelo HCV em HD (53,54). No entanto, o grau de fibrose hepática pode ser avaliado através da razão entre os níveis séricos de AST e o número de plaquetas (APRI). De fato, Schiavon e cols avaliaram 203 pacientes com hepatite crônica pelo HCV e DRC em HD e encontraram fibrose hepática mais avançada em 24% destes pacientes. A área sobre a curva ROC para a APRI foi 0,81. Nos pacientes com APRI menor do que 0,40 foi possível identificar com precisão os pacientes sem ou com fibrose hepática leve. Estes autores afirmaram que conforme a pontuação do APRI cerca de metade das biópsias poderia ter sido evitada (55). Estes resultados também foram corroborados em estudo com 279 pacientes realizado por Liu e cols, em que o APRI poderia diagnosticar a fibrose corretamente em cerca de 60% dos pacientes (56).

Em pacientes com DRC em HD, a GGT pode ser marcador útil e de baixo custo, como as aminotransferases, no diagnóstico de infecção crônica pelo HCV (57). De fato, Fabrizi e cols encontraram associação, através de análise multivariada, entre os níveis séricos de GGT e as hepatites pelo HBV e HCV. Após análise da curva ROC, estes autores determinaram que o melhor ponto de corte para detecção de HBsAg e anti-HCV seria 23 UI/L (sensibilidade de 62% e especificidade de 62%) e 18 UI/L (sensibilidade 61% e especificidade de 50%), respectivamente. Estes valores de GGT representariam redução de 54% e 64% do LSN (50 UI/L) para a detecção de HBsAg e anti-HCV, respectivamente. Sugeriram que os níveis de GGT deveriam ser dosados mensalmente nos pacientes em HD tal como se faz com a dosagem da ALT (24).

Souza e cols, também encontraram níveis séricos mais elevados de GGT em pacientes em HD com infecção pelo HCV em relação aqueles com anti-HCV negativo, 94,8 UI/L e 49,8 UI/L, respectivamente ($p < 0,05$) e sugeriram a utilidade da GGT como marcador indireto na detecção de doença hepática nestes pacientes (58).

Finalmente, os pacientes com DRC em HD apresentam níveis séricos reduzidos de aminotransferases. A diminuição das aminotransferases tem início, provavelmente, antes dos estágios mais avançados de DRC e deve ser decorrente: da hemodiluição encontrada nos pacientes imediatamente antes da terapia dialítica; dos menores níveis séricos de piridoxina ou dos níveis mais elevados de homocisteína.

Pacientes com DRC em HD e infectados pelo HBV ou HCV também apresentam níveis séricos de aminotransferases diminuídos em relação àqueles pacientes infectados sem DRC. Esta redução deve-se tanto aos fatores relacionados à DRC como pela menor viremia ocasionada pelo método dialítico, à produção de HGF ou de α -Interferon endógeno ou à ativação linfocitária, que diminuiriam a ação viral sobre o tecido hepático. A redução do LSN da ALT para níveis em torno de 60% dos níveis atuais poderia melhor diagnosticar aqueles pacientes com hepatites virais com DRC em HD.

Encontram-se poucos estudos sobre os níveis séricos de GGT nos pacientes com DRC em HD, tornando difícil maiores conclusões. Aparentemente a GGT, em pacientes com DRC em HD, apresenta níveis séricos semelhantes aos dos pacientes com função renal preservada. Contudo, os níveis séricos de GGT poderiam estar elevados em virtude do aumento do estresse oxidativo induzido pela DRC ou pelo uso de medicamentos. No entanto, esta elevação não seria tão expressiva em virtude da redução dos seus níveis séricos induzida pela hemodiluição. Assim como as aminotransferases, a GGT parece ser útil na identificação de viremia durante o acompanhamento de pacientes com hepatites virais com DRC em HD.

Futuros estudos envolvendo maior número de pacientes são necessários para avaliar os fatores envolvidos na diminuição das aminotransferases e no comportamento da GGT em pacientes com DRC em HD.

CONCLUSÃO

Nos pacientes com DRC em HD com ou sem infecção pelo HCV, os níveis séricos de aminotransferases encontram-se diminuídos em relação àqueles com função renal preservada e esta redução tem origem multifatorial.

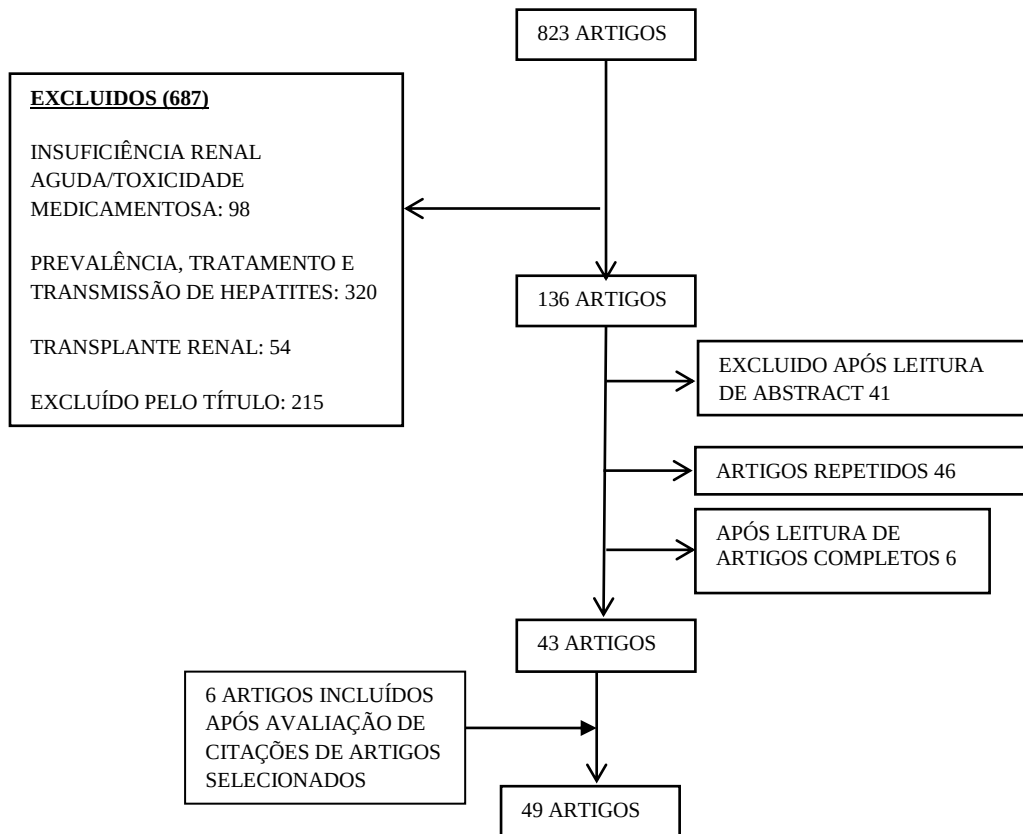


Figura 1. Diagrama de Fluxo de Seleção dos Artigos

AUTOR	PERIÓDICO	PAÍS	ANO	POPULAÇÃO ESTUDADA(N)	ENZIMAS AVALIADAS	RESULTADOS	OBSERVAÇÕES
Liberato et al. (10)	Clinics	Brasil	2012	40 HD	AST, ALT e GGT	Elevação de ALT, AST e GGT após HD	Hemodiluição associado a redução dos níveis das enzimas hepáticas
Wolf et al. (11)	Clinical chemistry	Estados Unidos	1972	19 HD	AST	11 AST diminuídos	Constatação de diminuição de aminotransferases
Jung et al. (12)	Clinica chimica acta	Alemanha	1981	17 HD 108 controles	AST e ALT	Não houve aumento nos níveis de ALT ou AST após adição de piridoxina	Não houve influencia da piridoxina
Gressner and Sittel (13)	Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry	Alemanha	1985	26 HD 20 DRC sem HD	AST e ALT	Não houve relação entre níveis séricos de piridoxina e os níveis de ALT ou AST	Não houve influencia da piridoxina
Ono et al. (14)	Clinical Nephrology	Japão	1995	52 HD	AST e ALT	ALT e AST reduzidas em função dos baixos níveis de piridoxina	Piridoxina reduzida
Crawford et al. (15)	Nephron	Estados Unidos	1978	16 HD	AST e ALT	Elevação da ALT e AST após HD	Suspeita de fator circulante diminuindo aminotransferases
Yasuda et al. (16)	Gastroenterology	Japão	1995	305 HD 556 controles sadios	AST e ALT	Diminuição de ALT e AST pacientes em HD não relacionado aos níveis séricos de piridoxina	Não houve influência da piridoxina
Lopes et al. (17)	Clinics	Brasil	2009	146 HD	ALT	Aumento de 28% nos níveis séricos de ALT após HD	Hemodiluição como fator associado a diminuição da ALT
Sombolos et al. (18)	<i>American Society for Artificial Internal Organs journal</i>	Grécia	2013	53 HD	AST e ALT	Aumento da ALT e AST após HD com perda de peso	Não ocorreu alteração dos níveis séricos de aminotransferases quando a HD foi isovolêmica
Huang et al. (19)	<i>American Journal of Kidney diseases</i>	Taiwan	2002	145 HD	AST	Correlação entre hiperhomocisteinemia e níveis reduzidos de AST	Influencia da homocisteína sérica nos níveis de AST
Hung et al. (20)	<i>Nephrology, dialysis transplantation</i>	China	1997	90 DP 526 saudáveis	AST e ALT	Paciente em DP apresentam ALT e AST diminuídos em relação aos controles saudáveis	Diminuição em pacientes submetidos a DP
Fabrizi et al. (21)	<i>American Journal of Kidney Disease</i>	Italia	2001	407 DRC 431 saudáveis 171 HD	AST e ALT	ALT e AST diminuem a proporção do declínio da função renal	Diminuição em pacientes com DRC conservador
Fine et al. (22)	Scottish medical journal	Escócia	1975	32 pacientes com DRC	GGT	Aumento de GGT em 37% dos pacientes	Elevação em pacientes com DRC
Pierides et al. (23)	Clinica chimica acta	Estados Unidos	1977	108 DRC conservador 110 HD	GGT	Elevação de GGT em 11% dos pacientes com DRC em tratamento conservador e 14% nos pacientes em HD	Não são diferentes entre pacientes com DRC
Fabrizi et al. (24)	The International journal of artificial organs	Itália	2007	757 HD (14 HBsAg e anti-HCV positivos; 24 HBsAg positivo e anti-HCV positivos; 146 HBsAg negativo e anti-HCV; 573 sorologias negativas) 343 controles saudáveis	GGT	Não se observou diferença nos níveis séricos de GGT nos pacientes em HD em relação aos indivíduos saudáveis.	Sugeriu-se redução de 54% e 64% do LSN para a detecção de HBsAg e anti-HCV respectivamente

Tabela 1 Estudos que Correlacionam Enzimas Hepáticas e Pacientes com DRC em HD sem Hepatites, 2013

Tabela 2 Estudos que Correlacionam Enzimas Hepáticas e Pacientes com DRC em HD com Hepatites, 2013

AUTOR	PERIÓDICO	PAÍS	ANO	POPULAÇÃO ESTUDADA (N)	ENZIMAS AVALIADAS	RESULTADOS
Fabrizi et al. (25)	Nephrology Dialysis Transplantation	Itália	1997	506 HD	AST e ALT	Níveis séricos de AST e ALT maiores em pacientes com anti-HCV ou HCV-RNA positivos.
Furusyo et al. (26)	Digestive diseases and sciences	Japão	2000	233 HD	ALT	Níveis séricos de ALT maiores em HCV +.
Maia et al. (27)	Journal of medical virology	Brasil	2009	395 HD	ALT	Níveis séricos de ALT maiores em portadores de HCV. Ativação linfocitária (CD69+) seria fator protetor contra o HCV.
Mondelli et al. (28)	Nephrology, dialysis, transplantation	Itália	1991	??	ALT	Níveis séricos de ALT maiores em portadores de HCV.
Alfurayh et al. (29)	Nephrology, dialysis, transplantation	Arábia Saudita	1992	52 HD	AST e ALT	Níveis séricos de AST e ALT maiores em portadores de HCV.
Yuki et al. (30)	Journal of clinical gastroenterology	Japão	2000	111 HD e HCV 66 HCV sem DRC	ALT	Níveis séricos de ALT maiores em portadores de HCV
Olut et al. (31)	The Journal of International Medical Research	Turquia	2005	473 HD	AST e ALT	Níveis séricos de AST e ALT maiores em pacientes com anti-HCV ou HCV-RNA positivos.
Hu et al. (32)	American Journal of Gastroenterology	Estados Unidos	2005	91 HD 159 HCV sem DRC	ALT	Níveis séricos de ALT maiores HCV +.
Fabrizi et al. (33)	The International journal of artificial organs	Itália	2003	48 HD com HBV 679 HD sem HBV	AST e ALT	Níveis séricos de ALT e AST maiores em pacientes com AgHBs ou HBV-DNA positivos
Dzekova-Vidimliski et al. (34)	Bratislava Medical Journal	República da Macedônia	2011	80 HD com anti-HCV +	ALT	ALT não se correlacionou com a progressão da doença.
Cotler et al. (35)	Journal of clinical gastroenterology	Estados Unidos	2002	46 HD com HCV 46 com HCV sem DRC	ALT	Níveis séricos de ALT maiores nos HCV +.
Tseng et al. (36)	Renal Failure	Taiwan	2008	30 HD e HBV		Diminuição da viremia após sessão de HD.
Badalamenti et al. (37)	American journal of kidney diseases	Itália	2003	11 HD e HCV		Diminuição da viremia e elevação dos níveis de INF- α após sessão de HD.
Kaiser et al. (38)	Journal of medical virology	Alemanha	2008	20 sessões de HD		Redução de 77% dos títulos de anti-HCV e de 73% do HCV-RNA ao término da HD.
Azevedo et al. (39)	Journal of nephrology	Brasil	2007	66 HD com HCV 264 com HCV sem DRC	ALT	Níveis menores de ALT em pacientes em HD e cargas virais semelhantes.
Rampino et al. (40)	Kidney international	Itália	1999	11 HD		Elevação de HGF após HD.
Trevizoli et al. (41)	Clinical journal of the American Society of Nephrology	Brasil	2008	36 HD com HCV 36 com HCV		Fibrose e inflamação hepática foram mais frequentes em pacientes com função renal normal do que naqueles em HD.
Sezer et al. (42)	Renal failure	Turquia	2001	68 HD com HCV		Cirrose foi encontrada em apenas 5,9% dos pacientes.
Saab et al. (43)	American journal of kidney diseases	Estados Unidos	2001	5000 HD	ALT	ALT não é custo efetivo no rastreamento de novas infecções por HCV em relação ao Anti-HCV ELISA.
Saab et al. (44)	American journal of kidney diseases	Estados Unidos	2001	2440 HD	ALT	ALT é sensível e específico para infecções agudas pelo HCV mas não

							apresenta acurácia para crônicas .
Lampe et al. (45)	Nephrology	Brasil	2008	72 HD 5 casos novos de infecção pelo HCV	ALT		Elevação da ALT quando comparado aos níveis basais prévios dos pacientes.
Guh et al. (46)	Nephron	Taiwan	1995	217 HD (103 HCV+ e 20 HBV+)	AST e ALT		Níveis séricos de AST e ALT foram incapazes de detectar infecção por HBV e apresentaram baixa acurácia em detectar pacientes infectados pelo HCV. Reduzir o LSN de 45% para AST e de 34% para a ALT no para o diagnóstico do anti-HCV
Lopes et al. (47)	Journal of CLinical Virology	Brasil	2006	217 HD (8,3% anti HCV + e 7,8 HCV-RNA +)	ALT		O valor de corte de ALT para distinguir o anti-HCV positivo de pacientes negativos foi 50% do LSN e de 45% do LSN de acordo com o HCV-RNA
Gouveia et al. (48)	Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical	Brasil	2004	202 HD (7,4% anti-HCV +)	ALT		Ponto de corte de maior acurácia para detecção da infecção pelo HCV foi 60% do LSN
Milotic et al. (49)	Scandinavian journal of urology and nephrology	Croacia	2002	125 HD (23% anti-HCV +)	ALT		Utilizando 73% do LSN aumentou detecção de pacientes infectados pelo HCV com HCV-RNA +
Caramelo et al. (50)	Kidney International	Espanha	1996	112 HD (28% HCV +; 22 pacientes HCV - e HCV-RNA +)	AST, ALT e GGT		AST, ALT e GGT foram úteis na detecção de viremia
Espinosa et al. (51)	Clinical nephrology	Espanha	2000	218 HD (anti-HCV - e HCV-RNA -) 9 HD (anti-HCV + HCV-RNA -) 24 HD (anti-HCV+ e HCV-RNA +) 88 sem DRC (anti-HCV - e HCV-RNA -)	ALT		ALT constitui um marcador preditor de viremia em pacientes em HD
Li et al. (52)	Chinese medical journal	China	2010	192 HD (16,7% anti-HCV +)	AST e ALT		Não houve diferença entre os níveis séricos de ALT e AST em pacientes com HCV-RNA positivo e negativos
Al-Wakeel et al. (53)	Nephrology, dialysis, transplantation.	Arabia Saudita	1996	65 HD (23% anti-HCV +)	AST e ALT		ALT e AST não se correlacionaram com achados histológicos
Boyacioglu et al. (54)	Transplantation Proceedings	Turquia	2004	95 HD com anti-HCV +	AST e ALT		ALT e AST não se correlacionaram com achados histológicos mesmo após redução para 66% do LSN
Schiavon et al. (55)	Hepatology	Brasil	2007	203 HD com anti-HCV +	AST		A razão entre os níveis séricos de AST e de plaquetas podem identificar pacientes com ou sem fibrose hepática leve
Liu et al. (56)	Kidney International	Taiwan	2010	279 HD com anti-HCV +	AST		A razão entre os níveis séricos de AST e de plaquetas podem diagnosticar fibrose hepática corretamente em cerca de 60% dos pacientes
Poux et al. (57)	Nephrology, dialysis, transplantation	França	1998	16 HD anti HCV + 32 HCV + sem DRC 16 DRC anti-HCV - 16 saudáveis	GT		GGT maiores em pacientes infectados pelo HCV em relação aos não infectados
Souza et al. (58)	Transplantation Proceedings	Brasil	2008	87 HD (19,5% anti-HCV +)	GGT		Níveis séricos elevados de GGT em pacientes em HD com infecção pelo HCV em relação aqueles com

REFERÊNCIAS

1. Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *The New England journal of medicine*. 2000 Apr 27;342(17):1266–71.
2. Katkov WN. Elevated Serum Alanine Aminotransferase Levels in Blood Donors: The Contribution of Hepatitis C Virus. *Annals of Internal Medicine*. 1991 Dec 1;115(11):882.
3. Schindhelm RK, Diamant M, Dekker JM, Tushuizen ME, Teerlink T, Heine RJ. Alanine aminotransferase as a marker of non-alcoholic fatty liver disease in relation to type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2006;22(6):437–43.
4. Alvarez F, Berg P a, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs a K, Cancado EL, et al. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 1999 Nov;31(5):929–38.
5. Allen KJ, Gurrin LC, Constantine CC, Osborne NJ, Delatycki MB, Nicoll AJ, et al. Iron-overload-related disease in HFE hereditary hemochromatosis. *The New England journal of medicine*. 2008 Jan 17;358(3):221–30.
6. Sorbi D, Boynton J, Lindor KD. The ratio of aspartate aminotransferase to alanine aminotransferase: potential value in differentiating nonalcoholic steatohepatitis from alcoholic liver disease. *The American journal of gastroenterology*. 1999 Apr;94(4):1018–22.
7. Kim YJ, Jang BK, Kim ES, Park KS, Cho KB, Chung WJ, et al. Rapid normalization of alanine aminotransferase predicts viral response during combined peginterferon and ribavirin treatment in chronic hepatitis C patients. *The Korean journal of hepatology*. 2012 Mar;18(1):41–7.
8. Whitfield JB. Gamma glutamyl transferase. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 2001 Aug;38(4):263–355.
9. Villela-Nogueira CA, Perez RM, De Segadas Soares JA, Coelho HSM. Gamma-glutamyl transferase (GGT) as an independent predictive factor of sustained virologic response in patients with hepatitis C treated with interferon-alpha and ribavirin. *Journal of clinical gastroenterology*. 2005 Sep;39(8):728–30.
10. Liberato I, Lopes E, Cavalcante M, Pinto T, Moura I, Loureiro-Jr L. Liver enzymes in patients with chronic kidney disease undergoing peritoneal dialysis and hemodialysis. *Clinics*. 2012 Feb 9;67(2):131–4.
11. Wolf PL, Williams D, Coplon N, Coulson AS. Low aspartate transaminase activity in serum of patients undergoing chronic hemodialysis. *Clinical chemistry*. 1972 Jun;18(6):567–8.

12. Jung K, Mildner D, Jacob B, Scholz D, Precht K. On the pyridoxal-5'-phosphate stimulation of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in serum and erythrocytes of patients undergoing chronic haemodialysis and with kidney transplants. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 1981 Sep 10;115(2):105–10.
13. Gressner AM, Sittel D. Plasma pyridoxal 5'-phosphate concentrations in relation to apo-aminotransferase levels in normal, uraemic, and post-myocardial infarct sera. *Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry. Zeitschrift für klinische Chemie und klinische Biochemie*. 1985 Oct;23(10):631–6.
14. Ono K, Ono T, Matsumata T. The pathogenesis of decreased aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activity in the plasma of hemodialysis patients: the role of vitamin B6 deficiency. *Clinical nephrology*. 1995 Jun;43(6):405–8.
15. Crawford DR, Reyna RS, Weiner MW. Effects of in vivo and in vitro dialysis on plasma transaminase activity. *Nephron*. 1978. p. 418–22.
16. Yasuda K, Okuda K, Endo N, Ishiwatari Y, Ikeda R, Hayashi H, et al. Hypoaminotransferasemia in patients undergoing long-term hemodialysis: clinical and biochemical appraisal. *Gastroenterology*. 1995 Oct;109(4):1295–300.
17. Lopes EP, Sette LHBC, Sette JBC, Luna CF, Andrade AM, Moraes M, et al. Serum alanine aminotransferase levels, hematocrit rate and body weight correlations before and after hemodialysis session. *Clinics*. 2009 Jan;64(10):941–5.
18. Sombolos KI, Fragidis SK, Bamichas GI, Hatsiou VN, Bantis CK, Tsantekidou HS, et al. Dogma disputed: postdialysis increase of aminotransferase values cannot be attributed to an inhibitor removal by hemodialysis. *ASAIO journal*. 2012;58(6):612–5.
19. Huang J, Yen C, Pai M, Wu K, Tsai T, Hsieh B. Association between serum aspartate transaminase and homocysteine levels in hemodialysis patients. *American journal of kidney diseases*. 2002 Dec;40(6):1195–201.
20. Hung KY, Lee KC, Yen CJ, Wu KD, Tsai TJ, Chen WY. Revised cutoff values of serum aminotransferase in detecting viral hepatitis among CAPD patients: experience from Taiwan, an endemic area for hepatitis B. *Nephrology, dialysis, transplantation*. 1997 Jan;12(1):180–3.
21. Fabrizi F, Lunghi G, Finazzi S, Colucci P, Pagano A, Ponticelli C, et al. Decreased serum aminotransferase activity in patients with chronic renal failure: impact on the detection of viral hepatitis. *American journal of kidney diseases*. 2001 Nov;38(5):1009–15.
22. Fine A, McIntosh WB. Elevation of serum gamma-glutamyl transpeptidase in end-stage chronic renal failure. *Scottish medical journal*. 1975 May;20(3):113–5.
23. Pierides AM, Skillen AW. Serum gamma-glutamyl transferase activity in chronic renal failure during regular hemodialysis and after successful renal transplantation. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 1977 May 16;77(1):83–9.

24. Fabrizi F, De Vecchi a F, Qureshi a R, Aucella F, Lunghi G, Bruchfeld a, et al. Gamma glutamyltranspeptidase activity and viral hepatitis in dialysis population. *The International journal of artificial organs*. 2007 Jan;30(1):6–15.
25. Fabrizi F, Lunghi G, Andrulli S, Pagliari B, Mangano S, Faranna P, et al. Influence of hepatitis C virus (HCV) viraemia upon serum aminotransferase activity in chronic dialysis patients. *Nephrology, dialysis, transplantation*. 1997 Jul;12(7):1394–8.
26. Furusyo N, Hayashi J, Kanamoto-Tanaka Y, Ariyama I, Etoh Y, Shigematsu M, et al. Liver damage in hemodialysis patients with hepatitis C virus viremia: a prospective 10-year study. *Digestive diseases and sciences*. 2000 Nov;45(11):2221–8.
27. Maia LPV, Martins-Filho OA, Teixeira-Carvalho A, Speziali E, Vermhren R, Lira EF, et al. Hepatitis C virus screening and clinical monitoring of biomarkers in patients undergoing hemodialysis. *Journal of medical virology*. 2009 Jul;81(7):1220–31.
28. Mondelli MU, Smedile V, Piazza V, Villa G, Barbieri C, Gattarello G, et al. Abnormal alanine aminotransferase activity reflects exposure to hepatitis C virus in haemodialysis patients. *Nephrology, dialysis, transplantation*. 1991 Jan;6(7):480–3.
29. Alfurayh O, Sobh M, Buali A, Ali MA, Barri Y, Qunibi W, et al. Hepatitis C virus infection in chronic haemodialysis patients, a clinicopathologic study. *Nephrology, dialysis, transplantation*. 1992 Jan;7(4):327–32.
30. Yuki N, Ishida H, Inoue T, Tabata T, Matsushita Y, Kishimoto H, et al. Reappraisal of biochemical hepatitis C activity in hemodialysis patients. *Journal of clinical gastroenterology*. 2000 Mar;30(2):187–94.
31. Olut a I, Ozsakarya F, Dilek M. Seroprevalence of hepatitis C virus infection and evaluation of serum aminotransferase levels among haemodialysis patients in Izmir, Turkey. *The Journal of international medical research*. 2005;33(6):641–6.
32. Hu K-Q, Lee SM, Hu SX, Xia VW, Hillebrand DJ, Kyulo NL. Clinical presentation of chronic hepatitis C in patients with end-stage renal disease and on hemodialysis versus those with normal renal function. *The American journal of gastroenterology*. 2005 Sep;100(9):2010–8.
33. Fabrizi F, Mangano S, Alongi G, Bisegna S, Finazzi S, Lunghi G, et al. Influence of hepatitis B virus virema upon serum aminotransferase activity in dialysis population. *The International journal of artificial organs*. 2003 Dec;26(12):1048–55.
34. Dzekova-Vidimliski P, Severova-Andreevska G, Trajceska L, Pusevski V, Selim G, Gelev S, et al. Aminotransferase activity as a poor predictor of liver disease progression in dialysis patients with chronic hepatitis C. *Bratislavské lekárske listy*. 2011 Jan;112(10):568–71.
35. Cotler SJ, Diaz G, Gundlapalli S, Jakate S, Chawla A, Mital D, et al. Characteristics of hepatitis C in renal transplant candidates. *Journal of clinical gastroenterology*. 2002 Aug;35(2):191–5.

36. Tseng G-Y, Lin H-J, Fang C-T, Cheng Y-T, Huang C-H, Tseng G-C, et al. Hemodialysis reduces the viral load in uremic patients with chronic hepatitis B infection. *Renal failure*. 2008 Jan;30(10):1000–5.
37. Badalamenti S, Catania A, Lunghi G, Covini G, Bredi E, Brancaccio D, et al. Changes in viremia and circulating interferon- α during hemodialysis in hepatitis C virus-positive patients: only coincidental phenomena? *American Journal of Kidney Diseases*. 2003 Jul;42(1):143–50.
38. Kaiser T, Damerow HC, Tenckhoff S, Finger A, Böttcher I, Hafer C, et al. Kinetics of hepatitis C viral RNA and HCV-antigen during dialysis sessions: evidence for differential viral load reduction on dialysis. *Journal of medical virology*. 2008 Jul;80(7):1195–201.
39. Azevedo HA, Villela-Nogueira CA, Perez RM, Segadas-Soares JA, Takahashi C, Gaburo N, et al. Similar HCV viral load levels and genotype distribution among end-stage renal disease patients on hemodialysis and HCV-infected patients with normal renal function. *Journal of nephrology*. 2007;20(5):609–16.
40. Rampino T, Arbustini E, Gregorini M, Guallini P, Libetta C, Maggio M, et al. Hemodialysis prevents liver disease caused by hepatitis C virus: role of hepatocyte growth factor. *Kidney international*. 1999 Dec;56(6):2286–91.
41. Trevizoli JE, De Paula Menezes R, Ribeiro Velasco LF, Amorim R, De Carvalho MB, Mendes LS, et al. Hepatitis C is less aggressive in hemodialysis patients than in nonuremic patients. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. 2008 Sep;3(5):1385–90.
42. Sezer S, Ozdemir BH, Arat Z, Turan M, Ozdemir NF, Haberal M. Spectrum of liver damage and correlation with clinical and laboratory parameters in HCV infected hemodialysis patients. *Renal failure*. 2001 Nov;23(6):807–18.
43. Saab S, Brezina M, Gitnick G, Martin P, Yee HF. Hepatitis C screening strategies in hemodialysis patients. *American journal of kidney diseases*. 2001 Jul;38(1):91–7.
44. Saab S, Martin P, Brezina M, Gitnick G, Yee HF. Serum alanine aminotransferase in hepatitis C screening of patients on hemodialysis. *American journal of kidney diseases*. 2001 Mar;37(2):308–15.
45. Lampe E, Yoshida CFT, De Oliveira RV, Lauer GM, Lewis-Ximenez LL. Molecular analysis and patterns of ALT and hepatitis C virus seroconversion in haemodialysis patients with acute hepatitis. *Nephrology (Carlton, Vic.)*. 2008 Jun;13(3):186–92.
46. Guh JY, Lai YH, Yang CY, Chen SC, Chuang WL, Hsu TC, et al. Impact of decreased serum transaminase levels on the evaluation of viral hepatitis in hemodialysis patients. *Nephron*. 1995 Jan;69(4):459–65.
47. Lopes EPA, Gouveia EC, Albuquerque a CC, Sette LHBC, Mello L a, Moreira RC, et al. Determination of the cut-off value of serum alanine aminotransferase in patients

- undergoing hemodialysis, to identify biochemical activity in patients with hepatitis C viremia. *Journal of clinical virology*. 2006 Mar;35(3):298–302.
48. Gouveia EC, Lopes EPA, Moura I, Cruz M, Kosminsky L, Pernambuco JR. Identification of the cutoff value for serum alanine aminotransferase in hepatitis C screening of patients with chronic renal failure on hemodialysis. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2004;37(1):18–21.
 49. Milotic I, Pavic I, Maleta I, Troselj-Vukic B, Milotic F. Modified range of alanine aminotransferase is insufficient for screening of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. *Scandinavian journal of urology and nephrology*. 2002 Jan;36(6):447–9.
 50. Caramelo C, Bartolomé J, Albalade M, De Sequera P, Navas S, Bermejillo T, et al. Undiagnosed hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: value of HCV RNA and liver enzyme levels. *Kidney international*. 1996 Dec;50(6):2027–31.
 51. Espinosa M, Martin-Malo A, Alvarez de Lara MA, Soriano S, Aljama P. High ALT levels predict viremia in anti-HCV-positive HD patients if a modified normal range of ALT is applied. *Clinical nephrology*. 2000 Aug;54(2):151–6.
 52. Li H, Wang S-X. Hepatitis C viral infection in a Chinese hemodialysis unit. *Chinese medical journal*. 2010 Dec;123(24):3574–7.
 53. Al-Wakeel J, Malik GH, Al-Mohaya S, Mitwalli A, Baroudi F, El Gamal H, et al. Liver disease in dialysis patients with antibodies to hepatitis C virus. *Nephrology, dialysis, transplantation*. 1996 Nov;11(11):2265–8.
 54. Boyacioğlu S, Gür G, Yilmaz U, Korkmaz M, Demirhan B, Bilezikçi B, et al. Investigation of possible clinical and laboratory predictors of liver fibrosis in hemodialysis patients infected with hepatitis C virus. *Transplantation proceedings*. 2004;36(1):50–2.
 55. Schiavon LL, Schiavon JLN, Filho RJC, Sampaio JP, Lanzoni VP, Silva AEB, et al. Simple blood tests as noninvasive markers of liver fibrosis in hemodialysis patients with chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2007 Aug;46(2):307–14.
 56. Liu C-H, Liang C-C, Liu C-J, Hsu S-J, Lin J-W, Chen S-I, et al. The ratio of aminotransferase to platelets is a useful index for predicting hepatic fibrosis in hemodialysis patients with chronic hepatitis C. *Kidney international*. Nature Publishing Group; 2010 Jul;78(1):103–9.
 57. Poux JM, Cadranet JF, Fievet P, Dumouchel P, Collot G. Measurement of gamma glutamyl transpeptidase activity: a useful and low-cost tool for the detection of HCV infection in haemodialysed patients. *Nephrology, dialysis, transplantation*. 1998 May;13(5):1324.
 58. Souza JF, Longui C a, Miorin L a, Sens Y a. Gamma-glutamyltransferase activity in chronic dialysis patients and renal transplant recipients with hepatitis C virus infection. *Transplantation proceedings*. 2008 Jun;40(5):1319–23.

APÊNDICE B

ARTIGO ORIGINAL 1

A redução dos níveis séricos de aminotransferases é proporcional ao declínio da taxa de filtração glomerular em pacientes com doença renal crônica em tratamento conservador: corte transversal

Luís Henrique Bezerra Cavalcanti Sette; Edmundo Pessoa de Almeida Lopes

Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal de Pernambuco- UFPE, Brazil.

RESUMO

OBJETIVO: Correlacionar os níveis séricos de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) com a taxa de filtração glomerular (TFG) em pacientes com doença renal crônica (DRC) em tratamento conservador.

MÉTODOS: No período de setembro de 2011 a maio de 2012, foi realizado estudo transversal com pacientes atendidos no ambulatório de DRC do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE). A função renal foi avaliada por estimativa da TFG utilizando a fórmula proposta por Cockcroft-Gault. Os pacientes foram classificados em estágios da DRC, de acordo com a definição das diretrizes do Kidney Disease Outcomes Quality Initiative. As dosagens das aminotransferases e da creatinina foram realizadas por método automatizado no Laboratório Central do HC-UFPE.

RESULTADOS: Foram avaliados 142 pacientes com DRC, sendo 72 do sexo masculino (52,1%) com média de idade de 64 ± 16 anos. A média da TFG foi $29,1 \pm 13$ mL/min/1,73m². Os pacientes apresentaram a seguinte distribuição conforme os estágios da DRC: 15 (10,5%) pacientes estágio 5; 70 (49,3%) estágio 4; 54 estágio 3 (38%) e 3 (2,1%) pacientes estágio 2. As médias dos níveis séricos de AST e ALT apresentaram redução proporcional à diminuição da TFG ($p = 0,006$, $r = 0,23$ e $p = 0,049$ e $r = 0,164$, respectivamente). Os níveis séricos de ALT foram maiores entre os 57 pacientes com estágios 2 e 3 quando comparados com os 85 pacientes com estágios 4 e 5 ($p < 0,03$).

CONCLUSÕES: Em pacientes com DRC pré-diálise os níveis séricos de ALT e AST apresentam correlação com a TFG havendo queda dos níveis enzimáticos de acordo com a progressão da doença renal.

Palavras-chave: Transaminases. Aspartato aminotransferase. Alanina aminotransferase. Insuficiência renal crônica. Doença renal crônica.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To correlate serum levels of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) with glomerular filtration rate (GFR) in patients with chronic kidney disease (CKD) undergoing conservative treatment (pre-dialysis).

METHODS: Between September 2011 and may 2012 was conducted a cross sectional study of patients in the ambulatory of CKD in the clinic of Nephrology at the Hospital of Clinics of the Federal University of Pernambuco (HC-UFPE). Renal function was assessed by estimated GFR using the formula proposed by Cockcroft-Gault. Patients were classified into stages of CKD, according to the definition of the Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K / DOQI). Dosages of aminotransferases and creatinine were performed by the automated method at the Central Laboratory of the HC-UFPE.

RESULTS: It was assessed 142 patients with CKD, 72 male (52.1%) with a mean age of 64 ± 16 years. The mean GFR was 29.1 ± 13 mL/min/1.73m². Patients showed the following distribution according to the stages of CKD: 15 (10.5%) patients stage 5; 70 (49.3%) stage 4, 54 stage 3 (38%) and 3 (2.1%) patients stage 2. The average serum AST and ALT levels decreased proportionally to the decrease in GFR ($p = 0.006$, $r = 0.23$ and $p = 0.049$ and $r = 0.164$, respectively). The serum ALT levels were higher in the 57 patients with stages 2 and 3 compared to 85 patients at stages 4 and 5 ($p < 0.03$).

CONCLUSIONS: In patients with CKD pre-dialysis serum ALT and AST have been correlated with GFR thus reducing enzyme levels in accordance with the progression of renal disease

KEYWORDS: Transaminases. Aspartate aminotransferase. Alanine aminotransferase. Chronic kidney failure. Chronic renal insufficiency.

INTRODUÇÃO

As enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) constituem marcadores de agressão ao hepatócito e auxiliam no diagnóstico, tratamento e seguimento de pacientes com doenças hepáticas, uma vez que refletem atividade inflamatória no fígado (1–3). No entanto, pacientes com doença renal crônica (DRC) em hemodiálise (HD) apresentam menores níveis séricos de aminotransferases do que aqueles com função renal normal e este perfil pode comprometer a avaliação dos pacientes com DRC acometidos por doenças hepáticas. (4,5).

Alguns fatores são implicados na redução dos níveis séricos da ALT e AST no paciente com DRC em HD: hemodiluição; menores níveis séricos de piridoxina e níveis mais elevados de homocisteína (6–8). Nos pacientes em HD e infectados pelo vírus da hepatite B (HBV) e da hepatite C (HCV) outros fatores também contribuem para a diminuição dos níveis séricos de aminotransferases, tais como: menor viremia ocasionada pelo procedimento dialítico, possivelmente pelo sequestro do vírus pelo dialisador; maior produção de fator de crescimento do hepatócito (HGF), induzida pela diálise, que acelera a regeneração hepática e, finalmente, elevação dos níveis séricos de α -Interferon endógeno e a ativação linfocitária que, em conjunto, combateriam o agente viral (9–11).

A maioria dos estudos avaliando os níveis séricos de aminotransferases envolveram pacientes com DRC em HD. Encontra-se apenas um estudo elaborado por Fabrizi e cols que observaram que os níveis séricos de aminotransferases encontravam-se diminuídos em pacientes com DRC em tratamento conservador, quando comparados a indivíduos saudáveis, no entanto, apenas os níveis séricos de AST foram correlacionados com a concentração de creatinina (12).

Entretanto, estes autores não relacionaram as aminotransferases com a TFG, que é medida mais fidedigna da função renal, uma vez que a creatinina sofre influência da idade, do sexo e do peso, nem avaliaram as aminotransferases de acordo com os estágios da DRC (13). De fato, ainda não se sabe quando começa a redução dos níveis séricos de AST e ALT nos pacientes com DRC.

Portanto, este estudo teve como objetivo correlacionar os níveis séricos de AST e ALT com a taxa de filtração glomerular (TFG) e com os estágios da DRC em pacientes renais crônicos em tratamento conservador (pré-diálise).

PACIENTES E MÉTODOS

No período de setembro de 2011 a maio de 2012, foi realizado estudo de corte transversal incluindo todos os pacientes maiores de 18 anos atendidos no ambulatório de DRC do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE) com diagnóstico de DRC há pelo menos 3 meses.

Os pacientes foram selecionados consecutivamente por critério de chegada ao ambulatório. Foram excluídos aqueles que apresentavam marcadores sorológicos positivos para hepatites virais ou HIV; portadores de doença hepática crônica; pacientes com doença infecciosa manifesta ou em uso de antibióticos no último mês, assim como, aqueles com consumo de álcool maior que 210 g/ semana para homens ou 140 g/semana para mulheres; gestantes ou puérperas.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco sob o registro número 335/11, CAAE 0314.0.172.000-11, que seguem os preceitos estabelecidos na resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Os pacientes que desejavam participar assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e foram submetidos a questionário que continha dados demográficos, socioeconômicos, antropométricos e clínicos, e à coleta de 5 mL de sangue para realização dos testes bioquímicos com o analisador químico COBAS C501 ROCHE que incluíram: ALT (< 41 U/L para homens e < 33 U/L para mulheres); AST (< 37 U/L) e creatinina, (0,7-1,2 mg/dL em homens e 0,5-0,9 mg/dL em mulheres).

Quando indicado, os resultados dos testes foram normatizados por sexo, calculando a razão do valor encontrado pelo método e o limite superior da normalidade (LSN). Os pacientes que apresentavam valores de ALT e AST maiores do que 5 vezes o LSN foram excluídos das análises. A função renal foi avaliada por estimativa da TFG utilizando a fórmula proposta por Cockcroft-Gault (13) corrigido para área de superfície corpórea (14).

Os pacientes foram classificados em diferentes estágios da DRC, de acordo com a TFG (mL/min/1,73m²), conforme definido nas diretrizes do Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI): TFG > 90 estágio 1; entre 60 – 89 estágio 2; entre 30 – 59

estágio 3; entre 15 – 29 estágio 4 e < 15 ou em diálise estágio 5. Foram definidos como estágios iniciais da DRC os estágios 2 ou 3 e avançados 4 ou 5.

Inicialmente, foi realizada descrição da população por meio da distribuição de frequência, quando a variável era do tipo categórica, e calculadas as médias e desvios padrões, quando a variável era quantitativa.

Foi aplicado o teste de normalidade de Komogorov-Smirnov e, quando houve distribuição não normal, os dados foram expressos em mediana e respectivos quartis. Para comparação de medianas, foi utilizado o teste de Mann-Whitney (duas medianas) ou de Kruskal-Wallis (mais de duas medianas). Foram aplicados na comparação das médias, quando a variável era categórica e apresentava distribuição normal, o teste t de student (até 2 variáveis) ou ANOVA seguida do pós-teste de Bonferroni (> 2 variáveis).

Na avaliação das correlações, para as variáveis com distribuição normal foi calculada a correlação de Pearson, caso contrário a correlação de Spearman. Na comparação das variáveis categóricas foi utilizado o teste Qui-Quadrado de Pearson. Todos os testes foram analisados assumindo significância de 5% ($p < 0,05$). O software utilizado para a análise foi o STATA versão 12.0.

RESULTADOS

Durante o período do estudo, foram atendidos 191 pacientes, mas, 28 (14,6%) não foram selecionados: 15 por recusa em participar e 13 por apresentar menos de 3 meses de acompanhamento. Outros 18 (9,4%) foram excluídos: 5 etilistas ativos, 4 hepatite C, 4 doença hepática crônica, 3 pacientes com HIV, 1 hepatite B e 1 puérpera. Permaneceram 145 pacientes e, destes, 3 foram excluídos por apresentarem níveis séricos de ALT e AST acima de 5 vezes o LSN, totalizando 142 pacientes avaliados.

A média de idade foi 64 ± 16 anos e 51% dos pacientes eram do sexo masculino. A TFG média foi $29,1 \pm 13$ mL/min/1,73m². Os pacientes apresentaram a seguinte distribuição conforme os estágios da DRC: 15 (10,5%) pacientes estágio 5; 70 (49,3%) estágio 4; 54 estágio 3 (38%) e 3 (2,1%) pacientes estágio 2. Em virtude do pequeno número de pacientes e

à proximidade nas medidas da TFG, os pacientes do estágio 2 foram reagrupados no estágio 3 para análises estatísticas (Tabela 1).

A média dos níveis séricos, divididos pelo LSN, de AST foi 0,55 e de ALT 0,29. Níveis séricos de AST e ALT acima do LSN foram encontrados em apenas 6 (4,2%) e 2 (1,4%) pacientes, respectivamente.

Os níveis séricos de ALT ($r = 0,23$, $p = 0,006$) e AST ($r = 0,16$, $p = 0,049$) apresentaram correlação direta com a TFG (Tabela 2). Ou seja, à medida que a TFG diminuiu, observou-se queda dos níveis séricos das aminotransferases, conforme demonstrado na Figura 1. Não se encontrou diferença significativa nos níveis séricos de AST e ALT de acordo com cada um dos estágios da DRC ($p = 0,2$ e $p = 0,15$, respectivamente). No entanto, quando se comparou os estágios mais precoces da DRC (2 e 3) com os mais avançados (4 e 5), verificou-se diferença significativa nos níveis séricos de ALT ($p = 0,03$), e tendência para significância estatística nos de AST ($p = 0,06$), conforme demonstrado na Tabela 3.

DISCUSSÃO

Os níveis séricos de aminotransferases estão diminuídos nos pacientes com DRC submetidos a HD (15), mas pouco se sabe se estes pacientes iniciam o tratamento dialítico com níveis enzimáticos já reduzidos. Apenas um estudo descreveu os níveis séricos destas enzimas em pacientes com DRC na fase pré-dialítica (12).

Este foi o primeiro estudo onde se constatou relação direta entre a redução da TFG e das aminotransferases, e que os níveis séricos de ALT são maiores nos estágios iniciais quando comparados aos estágios mais avançados da DRC. Possivelmente, o aumento do número de pacientes poderia revelar queda mais relevante dos níveis séricos de AST, à semelhança do ocorrido com a ALT, uma vez que se observou tendência para significância estatística ($p = 0,06$).

Algumas hipóteses são aventadas para explicar a redução dos níveis séricos de aminotransferases em pacientes com DRC em HD, como por exemplo: deficiência de piridoxina, hemodiluição e hiperhomocisteinemia (6–8). De fato, Ono e cols constataram que pacientes com DRC em HD e deficiência de piridoxina apresentam menores níveis séricos de aminotransferases comparados aos pacientes sem deficiência desta vitamina (7). Já a hemodiluição foi observada por Lopes e cols que descreveram associação inversa entre a

perda de peso durante a HD e a elevação dos níveis séricos de ALT ($r = 0,3$; $p < 0,001$) (6). Huang e cols, por sua vez, avaliaram níveis séricos de homocisteína em 145 pacientes em HD e encontraram relação inversa com a AST ($r = 0,4$; $p < 0,001$). Assim, os níveis séricos de AST poderiam refletir a atividade metabólica elevada da homocisteína e influenciar seus níveis séricos (8). Cabe lembrar, todavia, que estas hipóteses foram levantadas para pacientes com DRC em HD e não em pré-dialíticos

Interessante notar que neste estudo a quase totalidade dos pacientes apresentaram níveis séricos de aminotransferases abaixo do LSN, mesmo em uso de diversos medicamentos (média de 4 por paciente) potencialmente hepatotóxicos, como as estatinas, utilizadas por cerca de 60% dos pacientes (16). Além disso, percentual considerável destes pacientes apresentava diabetes mellitus que, por sua vez, poderia acarretar inflamação hepática (esteato-hepatite) e, conseqüentemente, elevação das aminotransferases (17).

Adicionalmente, ocorreu redução significativa do IMC de acordo com a progressão da DRC. Este comportamento pode ser explicado tanto pelo envolvimento do peso dos pacientes no cálculo da TFG, como também pela desnutrição decorrente da própria DRC (13,18,19). Com efeito, a queda progressiva do IMC poderia reduzir a dislipidemia, promover regressão de possível doença hepática gordurosa subjacente e contribuir para diminuição dos níveis séricos das aminotransferases (20).

Da mesma maneira, a desnutrição poderia reduzir os estoques de vitaminas do complexo B, em especial a piridoxina, que atua como co-fator na síntese de aminotransferases, reduzindo, portanto, a produção destas enzimas (21).

Pacientes do sexo masculino apresentaram menores taxas de filtração glomerular quando comparados aos do sexo feminino. Esse achado está relacionado, possivelmente, a velocidade de progressão da DRC que se encontra aumentada nos pacientes do sexo masculino e, portanto, existe maior chance destes pacientes encontrarem-se em estágios mais avançados da doença (22).

Enfim, este estudo revelou que os pacientes com DRC em tratamento conservador apresentam redução progressiva das aminotransferases à medida que ocorre piora da insuficiência renal. Constatou-se, dessa forma, que a diminuição dos níveis séricos de AST e ALT ocorre antes do início do tratamento dialítico e que as aminotransferases diminuem independentemente de fatores associados a HD.

Futuros estudos, entretanto, serão necessários para avaliar os motivos para a redução dos níveis séricos de aminotransferases nestes pacientes, uma vez que estas enzimas são de

fundamental importância no manejo clínico e diagnóstico dos pacientes com DRC e doenças hepáticas.

CONCLUSÃO

Em pacientes com DRC ainda em tratamento conservador, os níveis séricos de ALT e AST apresentam correlação com a TFG, havendo queda dos níveis enzimáticos de acordo com a progressão da insuficiência renal.

Tabela 1. Distribuição das características clínicas e epidemiológicas de acordo com os estágios da Doença renal crônica de 142 pacientes em tratamento conservador, Recife, 2013.

Características	ESTÁGIOS DA DRC			p-valor
	Estágio 2 e 3	Estágio 4	Estágio 5	
N	57	70	15	
Idade* (anos)	65,3 ± 12,9	63,2 ± 17,4	60,2 ± 22,1	0,506
IMC* (Kg/m ²)	27,6 ± 4,4	25,7 ± 4,8	23,6 ± 2,4	0,003 ^{a,b}
Diabético**				
Sim (%)	27 (47,3)	24 (34,2)	07 (46,6)	0,400
Não (%)	30 (52,7)	46 (65,8)	08 (53,3)	
Uso de estatina**				
Sim (%)	37 (64,9)	38 (54,2)	8 (53,3)	0,601
Não (%)	20 (35,1)	32 (45,8)	7 (46,6)	
Número de Medicamentos	4,4 ± 2,1	4,4 ± 2,2	4,6 ± 2,2	0,926

* Teste Kruskal-Wallis, medidas representadas pela mediana (P₂₅; P₇₅)

** Teste Qui-quadrado de Pearson

^a Diferença estatística significativa entre os pacientes com estágio 2 e 3 versus estágio 4

^b Diferença estatística significativa entre os pacientes com estágio 2 e 3 versus estágio 5

Tabela 2. Modelo de regressão para a explicação da variação da TFG em 142 pacientes com doença renal crônica em tratamento conservador, Recife, 2013.

<i>Variáveis</i>	<i>TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR</i>	
	Coef.	p-valor
Características biológicas e clínicas		
Idade* (anos)	0,06	0,481
Sexo**		
Masculino	25,4 ± 12,2	0,001
Feminino	32,3 ± 13,4	
IMC* (Kg/m ²)	0,289	0,000
Diabético**		
Sim	29,6 ± 13,3	0,546
Não	28,2 ± 13,2	
Uso de estatina**		
Sim	30,0 ± 14,1	0,171
Não	27,0 ± 11,7	
Número de medicamentos*	0,063	0,445
Laboratoriais*		
AST/LSN	0,231	0,006
ALT /LSN	0,164	0,049

Coeficiente de correlação de Spearman

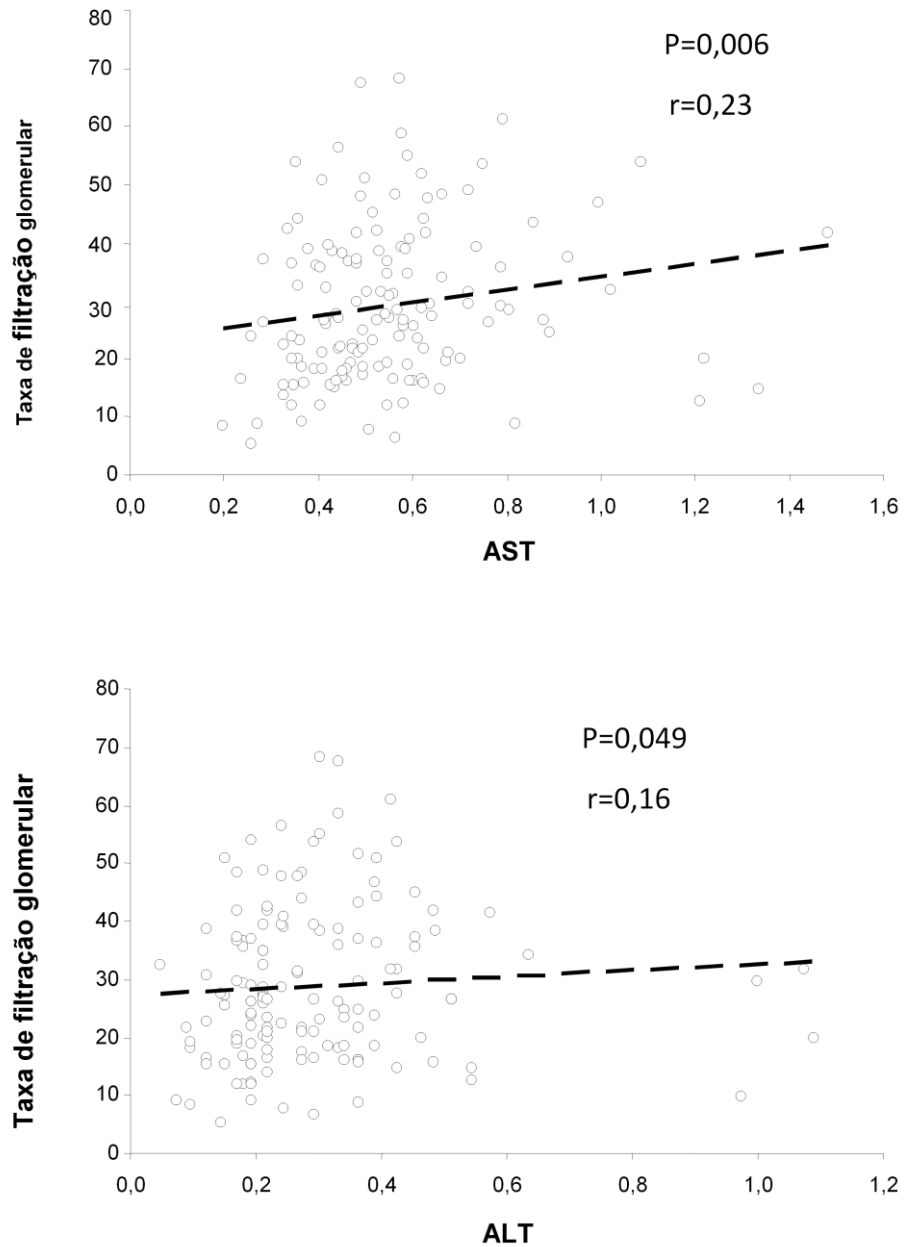
****Teste t student**

LSN limite superior da normalidade

Tabela 3. Níveis séricos das aminotransferases nos estágios iniciais (2 e 3) e avançados (4 e 5) de 142 pacientes com doença renal crônica , Recife, 2013

Variáveis Laboratoriais*	Estágio 2 e 3	Estágio 4 e 5	p-valor
AST / LSN	0,546 (0,454; 0,632)	0,494 (0,411; 0,603)	0,066
ALT / LSN	0,273 (0,212; 0,394)	0,219 (0,181; 0,341)	0,030
*Teste Mann-Whitney, medidas representadas pela mediana (P ₂₅ ; P ₇₅) LSN limite superior da normalidade			

Figura 1 Correlação entre os níveis séricos de aminotransferases AST e ALT, corrigidos pelo limite superior da normalidade e a taxa de filtração glomerular de 142 pacientes com doença renal crônica em tratamento conservador, Recife, 2013



REFERÊNCIAS

1. Kim YJ, Jang BK, Kim ES, Park KS, Cho KB, Chung WJ, et al. Rapid normalization of alanine aminotransferase predicts viral response during combined peginterferon and ribavirin treatment in chronic hepatitis C patients. *The Korean journal of hepatology*. 2012 Mar;18(1):41–7.
2. Whitfield JB. Gamma glutamyl transferase. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 2001 Aug;38(4):263–355.
3. Villela-Nogueira CA, Perez RM, de Segadas Soares JA, Coelho HSM. Gamma-glutamyl transferase (GGT) as an independent predictive factor of sustained virologic response in patients with hepatitis C treated with interferon-alpha and ribavirin. *Journal of clinical gastroenterology*. 2005 Sep;39(8):728–30.
4. Wolf PL, Williams D, Coplon N, Coulson AS. Low aspartate transaminase activity in serum of patients undergoing chronic hemodialysis. *Clinical chemistry*. 1972 Jun;18(6):567–8.
5. Chimata M, Masaoka H, Fujimaki M, Hamada N, Oda K, Sudo M, et al. Low serum aminotransferase activity in patients undergoing regular hemodialysis. *Nihon Jinzo Gakkai shi*. 1994 Apr;36(4):389–95.
6. Lopes EP, Sette LHBC, Sette JBC, Luna CF, Andrade AM, Moraes M, et al. Serum alanine aminotransferase levels, hematocrit rate and body weight correlations before and after hemodialysis session. *Clinics*. 2009 Jan;64(10):941–5.
7. Ono K, Ono T, Matsumata T. The pathogenesis of decreased aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activity in the plasma of hemodialysis patients: the role of vitamin B6 deficiency. *Clinical nephrology*. 1995 Jun;43(6):405–8.
8. Huang J, Yen C, Pai M, Wu K, Tsai T, Hsieh B. Association between serum aspartate transaminase and homocysteine levels in hemodialysis patients. *American journal of kidney diseases*. 2002 Dec;40(6):1195–201.
9. Badalamenti S, Catania A, Lunghi G, Covini G, Bredi E, Brancaccio D, et al. Changes in viremia and circulating interferon- α during hemodialysis in hepatitis C virus-positive patients: only coincidental phenomena? *American Journal of Kidney Diseases*. 2003 Jul;42(1):143–50.
10. Rampino T, Arbustini E, Gregorini M, Guallini P, Libetta C, Maggio M, et al. Hemodialysis prevents liver disease caused by hepatitis C virus: role of hepatocyte growth factor. *Kidney international*. 1999 Dec;56(6):2286–91.
11. Maia LPV, Martins-Filho OA, Teixeira-Carvalho A, Speziali E, Vermhoren R, Lira EF, et al. Hepatitis C virus screening and clinical monitoring of biomarkers in patients undergoing hemodialysis. *Journal of medical virology*. 2009 Jul;81(7):1220–31.
12. Fabrizi F, Lunghi G, Finazzi S, Colucci P, Pagano A, Ponticelli C, et al. Decreased serum aminotransferase activity in patients with chronic renal failure: impact on the detection of viral hepatitis. *American journal of kidney diseases*. 2001 Nov;38(5):1009–15.

13. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976 Jan;16(1):31–41.
14. Du BOIS D. A Formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Archives of Internal Medicine*. 1916 Jun 1;XVII(62):863.
15. Yasuda K, Okuda K, Endo N, Ishiwatari Y, Ikeda R, Hayashi H, et al. Hypoaminotransferasemia in patients undergoing long-term hemodialysis: clinical and biochemical appraisal. *Gastroenterology*. 1995 Oct;109(4):1295–300.
16. Bhardwaj SS, Chalasani N. Lipid-lowering agents that cause drug-induced hepatotoxicity. *Clinics in liver disease*. 2007 Aug;11(3):597–613, vii.
17. Meltzer a a, Everhart JE. Association between diabetes and elevated serum alanine aminotransferase activity among Mexican Americans. *American journal of epidemiology*. 1997 Oct 1;146(7):565–71.
18. Chung S. Malnutrition in patients with chronic kidney disease. *Open Journal of Internal Medicine*. 2012;02(02):89–99.
19. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paulter F, Diczfalusy U, Wang T, Berglund L, et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney international*. 1999 May;55(5):1899–911.
20. Hickman JJ. Modest weight loss and physical activity in overweight patients with chronic liver disease results in sustained improvements in alanine aminotransferase, fasting insulin, and quality of life. *Gut*. 2004 Mar 1;53(3):413–9.
21. Kopple JD, Mercurio K, Blumenkrantz MJ, Jones MR, Tallos J, Roberts C, et al. Daily requirement for pyridoxine supplements in chronic renal failure. *Kidney international*. 1981 May;19(5):694–704.
22. Neugarten J, Acharya a, Silbiger SR. Effect of gender on the progression of nondiabetic renal disease: a meta-analysis. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*. 2000 Feb;11(2):319–29.

APÊNDICE C

ARTIGO ORIGINAL 2

Marcadores de inflamação e de estresse oxidativo em pacientes com doença renal crônica em tratamento conservador

Luís Henrique Bezerra Cavalcanti Sette¹; Edmundo Pessoa de Almeida Lopes¹, André Martins Galvão², Joao Geraldo Carvalho Fernandes²

¹ Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal de Pernambuco(UFPE), Brasil

² Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami- LIKA- UFPE, Brasil

RESUMO

OBJETIVO: Avaliar os níveis séricos de ferritina, proteína C reativa (PCR), albumina, gama glutamil transferase (GGT) e de marcadores de estresse oxidativo (EO) em pacientes com doença renal crônica (DRC) em tratamento conservador (pré-diálise).

MÉTODO: Entre setembro de 2011 e maio de 2012, foram avaliados pacientes atendidos no ambulatório de DRC do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da UFPE. A taxa de filtração glomerular (TFG) foi estimada pela fórmula de Cockcroft-Gault e os pacientes foram classificados em cinco estágios de DRC. Foram dosados os níveis séricos dos marcadores de inflamação: ferritina, PCR, albumina; e dos marcadores de EO: TBARS, Tiol, Catalase, Carbonil e GGT.

RESULTADO: Foram incluídos 140 pacientes com idade média de 64,4 anos sendo 51,4% do sexo masculino. A média da TFG foi 28,8 mL/min/1,73m² e os pacientes apresentaram a seguinte distribuição conforme os estágios da DRC: 16 (11,4%) pacientes estágio 5; 69 (49,2%) estágio 4, 52 estágio 3 (37,1%) e 3 pacientes estágio 2 (2,1%). Entre os marcadores avaliados, observou-se elevação dos níveis séricos de ferritina e redução dos de albumina de acordo com a diminuição da TFG e progressão da DRC. Não houve associação entre os níveis séricos de GGT, PCR e dos marcadores de EO com a TFG ou com os estágios da DRC.

CONCLUSÃO: Em pacientes com DRC em tratamento conservador, observou-se elevação dos níveis séricos de ferritina e redução dos de albumina conforme declínio da TFG e progressão da insuficiência renal.

Palavras-chave: Gama-glutamyltransferase. Insuficiência renal crônica. Estresse oxidativo. Proteína C reativa. Ferritina. Albumina.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To evaluate the serum ferritin, C-reactive protein (CRP), albumin, gamma-glutamyl transferase (GGT) and markers of oxidative stress (OS) in patients with chronic kidney disease (CKD) under conservative treatment (pre-dialysis).

METHODS: Between September 2011 and may 2012 were evaluated patients in the ambulatory of CKD in the clinic of Nephrology at the Hospital of Clinics of the Federal University of Pernambuco (HC-UFPE). Glomerular filtration rate (GFR) was estimated by the Cockcroft-Gault formula and the patients were classified into five stages of CKD. Were measured in serum: markers of inflammation: ferritin, CRP, albumin, GGT, and markers of EO: TBARS, thiol, carbonyl and catalase.

RESULTS: Were included 140 patients with a mean age of 64.4 years and 51.4% male. Mean GFR was 28.8 mL/min/1,73m² and patients showed the following distribution according to the stages of CKD: 16 (11.4%) stage 5 patients, 69 (49.2%) stage 4, 52 stage 3 (37.1%) and 3 stage 2 patients (2.1%). Among the markers of inflammation assessed it was observed an increase in serum ferritin and reduction of albumin in accordance to the GFR and the progression of CKD. There was no association between serum GGT, CRP and markers of EO with the GFR or the stages of CKD.

CONCLUSION: In patients with CKD pré-dialysis, there was an increase in serum ferritin and reduction of albumin as GFR decline and progression of renal failure.

Keywords: Gamma-glutamyl transferase. Chronic renal failure. Oxidative stress. C-reactive protein. Ferritin. Albumin.

INTRODUÇÃO

A Doença Renal Crônica (DRC) caracteriza-se pela perda progressiva e irreversível da função renal e apresenta altas taxas de mortalidade devido, na maioria das vezes, à doença cardiovascular (1,2). A DRC é classificada em cinco estágios de acordo com a taxa de filtração glomerular (TFG) e serve como base para avaliação, estratificação de risco e acompanhamento destes pacientes (3).

Apesar da ocorrência de fatores de risco tradicionais, como diabetes, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia, ser elevada em pacientes com DRC, a extensão e severidade das complicações cardiovasculares são desproporcionais quando se avalia o perfil de risco destes pacientes. É sabido que fatores de risco cardiovasculares não tradicionais como: inflamação, desnutrição e estresse oxidativo (EO) também promovem e aceleram a aterosclerose nos pacientes com DRC (4,5).

A inflamação na DRC pode ser avaliada através da dosagem dos níveis séricos de ferritina, proteína C reativa (PCR) e de albumina, e estão associados à desnutrição, aterosclerose e elevada mortalidade cardiovascular (6–9).

O dano celular provocado pelo EO em pacientes com DRC pode ser avaliado por meio da dosagem dos níveis séricos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), carbonil, catalase, tiol, entre outras, e apresentam alterações séricas proporcionais à perda da função renal (10–13). No entanto, não se sabe quais destes marcadores de EO relacionam-se à resposta terapêutica ou à melhor evolução clínica destes pacientes (14).

Na prática diária, a gama glutamil transferase (GGT) é utilizada tanto como marcador sérico na avaliação de alterações das vias biliares quanto do consumo de álcool e outras drogas. No entanto, recentemente, tem-se postulado que a GGT poderia ser marcador simples e prático para avaliação do EO (15,16). A GGT está presente nas superfícies celulares e tem como função catabolizar a glutatona, principal antioxidante dos seres humanos (17).

Níveis séricos elevados de GGT têm sido associados ao aumento do risco cardiovascular observado em pacientes com DRC em hemodiálise (HD), assim como na população obesa e diabética, e também confere maior risco cardiovascular na população geral (15,17–19).

Assim, pacientes com DRC poderiam apresentar alterações séricas dos marcadores de inflamação e de EO de modo progressivo, conforme o comprometimento da função renal. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os níveis séricos de ferritina, proteína C reativa,

albumina, GGT e marcadores de EO (TBARS, catalase, carbonil e tiol) em pacientes com DRC, bem como correlacionar os níveis de GGT com os de EO.

PACIENTES E MÉTODO

No período de setembro de 2011 a maio de 2012, foi realizado estudo transversal com todos os pacientes maiores de 18 anos de ambos os sexos atendidos no ambulatório de DRC do Serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE) com DRC há pelo menos 3 meses.

Os pacientes foram selecionados consecutivamente por critério de chegada ao ambulatório. Foram excluídos aqueles que apresentavam marcadores sorológicos positivos para hepatites virais ou HIV; portadores de doença hepática crônica; pacientes com doença infecciosa manifesta ou em uso de antibióticos no último mês, assim como, aqueles com consumo de álcool maior que 210 g/ semana para homens ou 140 g/semana para mulheres, gestantes ou puérperas.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco sob o registro número 335/11, CAAE 0314.0.172.000-11, que seguem os preceitos estabelecidos na resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Os pacientes que desejaram participar assinaram termo de consentimento livre e esclarecido e responderam questionário que continha dados demográficos, socioeconômicos, antropométricos e clínicos. Posteriormente foram submetidos à coleta de 10 mL de sangue para dosagens bioquímicas e medição de TBARS, tiol, catalase e carbonil.

Os testes bioquímicos foram realizados pelo método automatizado no analisador químico COBAS C501 ROCHE e incluíram: GGT (< 60 U/L para homens e < 40 U/L para mulheres); albumina (3,5-5,2 g/dL); ferritina (30-400 mg/dL para homens; mulheres < 50 anos: 15-150 mg/dL e > 50 anos: 30-400 mg/dL); proteína C reativa (< 0,5 mg/dL) e creatinina (0,7-1,2 mg/dL para homens e 0,5-0,9 mg/dL para mulheres).

Quando indicado, os resultados dos testes foram normatizados por sexo ou idade, calculando a razão do valor encontrado pelo método e o limite superior da normalidade (LSN). Foram excluídos das análises pacientes que apresentavam valores maiores do que 5 vezes o LSN. Pacientes em uso corrente ou nos últimos 30 dias de ferro oral ou venoso foram

excluídos das análises de ferritina sérica conforme sugerido nas diretrizes *do Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI)*.

A função renal foi avaliada por estimativa da TFG utilizando a fórmula proposta por Cockcroft-Gault corrigido para área de superfície corpórea (20)(21). Os pacientes foram classificados em diferentes estágios da DRC conforme a TFG (mL/min/1,73m²) de acordo com as diretrizes do K/DOQI em: TFG > 90 estágio 1; entre 60 – 89 estágio 2; entre 30 – 59 estágio 3; entre 15 – 29 estágio 4 e < 15 ou em diálise estágio 5 (22).

As mensurações dos marcadores de EO (TBARS, catalase, tiol e carbonil) foram realizadas no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da UFPE.

A análise do TBARS foi realizada após as amostras de plasma serem homogeneizadas, misturada ao ácido tricloroacético a 15% e centrifugadas e o sobrenadante misturado com igual volume de ácido tiobarbitúrico 0,67%. As dosagens do TBARS foram determinadas por absorvância a 535 nm e os resultados foram expressos como nmol de TBARS/mg de proteína.

A análise do carbonil foi realizada com base em uma reação com dinitrofenilhidrazina (DNPH). As proteínas foram precipitadas por adição de 20% de ácido tricloroacético e reagiu com DNPH. As amostras foram, em seguida, redissolvidas em cloridrato de guanidina 6 M e os conteúdos de carbonil foram determinadas por medição da absorvância a 370 nm usando um coeficiente de absorção molar de 22.000 M. Os resultados foram expressos em nmol de carbonil /mg de proteína

Para determinar a atividade da catalase, o plasma foi homogeneizado, a suspensão resultante foi centrifugada e o sobrenadante foi utilizado para o ensaio enzimático. A atividade da catalase foi medida pela taxa de diminuição da absorvância de peróxido de hidrogênio a 240 nm e expressa em U/mg de proteína.

O teor de tiol total no plasma foi determinado utilizando o método DTNB. Foram misturados 30 µL de plasma que foram misturados a 1 ml de PBS/1mM EDTA (pH 7,5). A reação foi iniciada pela adição de 30 µL de solução de estoque 10 mM de DTNB em PBS. A absorvância a 412 nm foi medida e os valores de DTNB formado (equivalente à quantidade de tiol total) foram calculados e expressos em nmol/mg de proteína.

Inicialmente, foi realizada descrição da população por meio da distribuição de frequência, quando a variável era do tipo categórica, e calculadas as médias e desvios padrões, quando a variável era quantitativa. Foi aplicado o teste de normalidade de Komogorov-Smirnov e, quando houve distribuição não normal, os dados foram expressos em medianas e respectivos quartis. Consequentemente, para comparação de medianas, foi utilizado o teste de

Kruskal-Wallis. Foram aplicados na comparação das médias, quando a variável era categórica e apresentava distribuição normal, o teste t de student (até 2 variáveis) ou ANOVA seguida do pós-teste de Bonferroni (> 2 variáveis).

Na avaliação das correlações, para as variáveis com distribuição não normal foi calculada a correlação de Spearman. Na comparação das variáveis categóricas foi utilizado o teste Qui-Quadrado de Pearson. Todos os testes foram analisados assumindo uma significância de 5% ($p < 0,05$). O software utilizado para a análise foi o STATA versão 12.0.

RESULTADOS

Durante o período do estudo, foram investigados 191 pacientes, mas, 28 (14,6%) não foram selecionados: 15 por recusa em participar e 13 por apresentar menos de 3 meses de acompanhamento. Outros 18 (9,4%) foram excluídos: 5 etilistas ativos, 4 hepatite C, 4 doença hepática crônica, 3 pacientes com HIV, 1 hepatite B e 1 puérpera. Permaneceram 145 pacientes, destes, 5 foram excluídos das análises por apresentarem níveis séricos de GGT acima de 5 vezes o LSN, totalizando 140 pacientes. Sete pacientes estavam em uso corrente de ferro oral ou venoso e foram excluídos das análises da ferritina.

A média de idade foi $64,4 \pm 16$ anos, sendo 51,4% dos pacientes masculinos. A TFG média foi $28,8 \pm 13,2$ mL/min/1,73m². Foi encontrada a seguinte distribuição conforme os estágios da DRC: 16 (11,4%) pacientes estágio 5; 69 (49,2%) estágio 4; 52 estágio 3 (37,1%) e 3 (2,1%) pacientes estágio 2. Em virtude do pequeno número de pacientes e devido à proximidade nas medidas da TFG, os pacientes do estágio 2 foram reagrupados no estágio 3 para análises estatísticas.

O percentual de pacientes com níveis séricos de ferritina, PCR e GGT acima do LSN foi: 20%, 29% e 22,8%, respectivamente. Os níveis séricos de albumina, por sua vez, estavam diminuídos em 12,5% dos pacientes. As correlações das variáveis clínicas e laboratoriais com a TFG e com os estágios da DRC são demonstradas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente. Após avaliar as relações entre os níveis séricos de GGT e dos marcadores de EO, não houve associação entre eles (TBARS: $r = -0,041$, $p = 0,633$; Catalase: $r = 0,058$, $p = 0,495$; Carbonil: $r = -0,076$ e $p = 0,375$; Sulfidril: $r = 0,03$, $p = 0,971$).

DISCUSSÃO

Neste estudo verificou-se elevação dos níveis séricos de ferritina e diminuição dos de albumina conforme o declínio da TFG. Constatou-se, também, que os níveis séricos dos marcadores de EO não se correlacionaram com os de GGT, sendo um dos primeiros que analisou os níveis séricos destes marcadores de acordo com o declínio da TFG e progressão dos estágios da DRC.

Na literatura encontram-se poucos estudos avaliando os níveis séricos de marcadores de inflamação e de estresse oxidativo em pacientes com DRC ainda em tratamento conservador.

Realmente, pacientes com DRC apresentam ferropenia à medida que há progressão da doença devido à desnutrição, às restrições alimentares e à perda do paladar para alimentos ricos em ferro (23). No entanto, a diminuição da ferritina sérica está presente em apenas 40-50% destes pacientes conforme estudo realizado por HSU e cols. (24). Postula-se que o aumento da inflamação sistêmica, decorrente da progressão da DRC, cause elevação da ferritina sérica contrabalanceando a ferropenia (8). Provavelmente, neste estudo, o “componente inflamatório” foi mais preponderante, uma vez que se encontrou correlação negativa entre a TFG e a ferritina.

Houve correlação positiva entre os níveis séricos de albumina e a TFG. No entanto, a redução do IMC associada à redução dos níveis de albumina poderia ser decorrente de hiporexia e do estado hipercatabólico da DRC, com consequente desnutrição e hipoalbuminemia. Esta associação entre a queda da albumina proporcional a piora da TFG reforça a hipótese de que a elevação da ferritina estaria refletindo a inflamação que ocorre na DRC e não os estoques de ferro do organismo.

Adicionalmente, como foi observado, já era esperada a diminuição do IMC na proporção da progressão da DRC, visto que o peso está envolvido diretamente no cálculo da TFG (20).

Pacientes do sexo masculino apresentaram menores taxas de filtração glomerular quando comparados aos do sexo feminino. Esse achado está relacionado, possivelmente, a velocidade de progressão da DRC que se encontra aumentada nos pacientes do sexo masculino e, portanto, existe maior chance destes pacientes encontrarem-se em estágios mais avançados da doença (25).

Ao contrario do encontrado neste estudo, Razeghi e cols, avaliaram 100 pacientes com DRC em tratamento conservador e observaram que os níveis séricos de PCR se elevaram a

medida que ocorreu declínio da TFG (26). Contudo, Menon e cols, avaliando 697 pacientes com DRC em tratamento conservador não encontraram associação entre a elevação da PCR e o declínio da TFG (27). No entanto, este último estudo avaliou predominantemente pacientes não diabéticos, com pressão arterial controlada e sem comorbidades cardiovasculares prévias que poderiam interferir na medida dos níveis séricos de PCR, uma vez que provocam inflamação sistêmica.

Neste estudo, não se observou correlação entre os níveis séricos dos marcadores de EO com a TFG ou com os estágios da DRC, como descrito em artigos anteriores (11,12). Talvez, outras comorbidades clínicas não avaliadas, como insuficiência cardíaca ou descontrole do diabetes e da hipertensão possam ter interferido como viés de confusão, dificultando a associação entre os marcadores de EO e os estágios da DRC (28–31).

Não foram encontradas relações entre os níveis séricos de GGT com a TFG ou com os estágios da DRC. Observou-se que 22,8% dos pacientes apresentavam níveis séricos de GGT acima do LSN, maiores do que os encontrados por Pierides e cols, que encontraram elevação desta enzima em 11% dos 108 pacientes avaliados com DRC em tratamento conservador (32). No entanto, este estudo foi realizado na década de 70, quando o manejo clínico e as comorbidades dos pacientes com DRC eram distintos das atuais. Apesar de não haver diferenças entre o número de medicações utilizadas nos diferentes estágios da DRC, a ocorrência de doença hepática gordurosa não alcoólica, dislipidemia ou diabetes poderia ter elevado os níveis séricos de GGT (33,34).

Em contrapartida, a sobrecarga volêmica presente nos pacientes com DRC poderia ter propiciado hemodiluição com consequente diminuição da concentração dos níveis séricos de GGT, como postulado por Liberato e cols (35). Estes autores avaliaram os níveis séricos de GGT imediatamente antes e após o procedimento dialítico em 40 pacientes com DRC em HD e observaram elevação significativa dos níveis séricos de GGT após a HD.

Adicionalmente, não foram observadas correlações entre os níveis séricos de GGT e os marcadores de EO, contudo, não foram avaliados os níveis séricos de moléculas de EO diretamente relacionados ao metabolismo do GGT como a Glutathione e a Glutathione peroxidase.

Futuras pesquisas, entretanto, serão necessárias para confirmar estes achados e reavaliar outros marcadores de inflamação e de EO, além dos que foram aqui analisados.

CONCLUSÃO

Em pacientes com DRC em tratamento conservador, observou-se elevação dos níveis séricos de ferritina e redução dos de albumina conforme declínio da TFG e progressão da insuficiência renal.

Tabela 1. Modelo de regressão para a explicação da variação da taxa de filtração glomerular em 140 pacientes com doença renal crônica em tratamento conservador, Recife, 2013.

<i>Variáveis</i>	<i>Taxa de Filtração Glomerular</i>	
	Coef.	p-valor
Clínicas		
Idade[*] (anos)	0,06	0,481
Sexo^{**}		
Masculino	25,4 ± 12,2	0,001
Feminino	32,3 ± 13,4	
IMC[*] (Kg/m²)	0,289	0,000
Diabético^{**}		
Sim	29,6 ± 13,3	0,546
Não	28,2 ± 13,2	
Uso de estatina^{**}		
Sim	30,0 ± 14,1	0,171
Não	27,0 ± 11,7	
Número de medicamentos[*]	0,063	0,445
Laboratoriais[*]		
GGT corrigida	0,063	0,460
Ferritina corrigida	-0,236	0,005
PCR (mg/dL)	0,041	0,620
TBARS (nmol/mg)	-0,060	0,468
Catalase (U/mg)	0,046	0,576
Carbonil (nmol/mg)	-0,012	0,885
Tiol (nmol/mg)	-0,146	0,076
Albumina (g/dL)	0,265	0,001

* Coeficiente de correlação de Spearman

**Teste t student

o

Tabela 2 – Distribuição das características clínico-epidemiológicas e laboratoriais de acordo com os estágios da doença renal crônica de 140 pacientes em tratamento conservador, Recife, 2013

Variáveis	Estágios da Doença Renal Crônica			p
	2 + 3	4	5	
CLÍNICAS				
Nº de pacientes	55 (39,2%)	69 (49,2%)	16 (11,4%)	
Idade*	65,3 ± 12,9	63,2 ± 17,4	60,2 ± 22,1	0,506
IMC*	27,6 ± 4,4	25,7 ± 4,8	23,6 ± 2,4	0,003^{a,b}
Diabético**				
Sim	25 (45,5%)	24 (34,7%)	07 (43,7%)	0,400
Não	30 (54,5%)	45 (65,3%)	09 (56,3%)	
Uso de estatina**				
Sim	35 (63,6%)	38 (55,0%)	10 (50,0%)	0,601
Não	20 (36,4%)	31 (45,0%)	10 (50,0%)	
Nº de medicamentos*	4,4 ± 2,1	4,4 ± 2,2	4,6 ± 2,2	0,926
LABORATORIAIS*				
GGT corrigida	0,60 (0,45; 0,85)	0,47 (0,31; 1,0)	0,85 (0,31; 1,31)	0,448
Ferritina corrigida	0,36 (0,24; 0,59)	0,53 (0,25; 0,93)	0,95 (0,35; 1,65)	0,048^b
PCR (mg/dL)	0,129 (0,034; 0,327)	0,304 (0,133; 0,575)	0,295 (0,157; 0,640)	0,112
TBARS (nmol/mg)	0,021 (0,051; 0,037)	0,032 (0,019; 0,060)	0,045 (0,026; 0,079)	0,223
Catalase (U/mg)	0,006 (0,004; 0,022)	0,005 (0,002; 0,050)	0,006 (0,002; 0,031)	0,750
Carbonil (nmol/mg)	71,0 (18,7; 341,7)	60,3 (37,8; 115,9)	57,7 (37,1; 175,1)	0,285
Tiol (nmol/mg)	0,37 (0; 2,67)	0,86 (0; 3,46)	2,16 (0,06; 6,92)	0,186
Albumina (g/dL)	4,0 (3,8; 4,3)	3,9 (3,7; 4,1)	3,8 (3,6; 4,1)	0,051^a

* Teste Kruskal-Wallis, medidas representadas pela mediana (P₂₅; P₇₅)

** Teste Qui-quadrado de Pearson

† Significância estatística (p < 0,05)

^a Diferença estatística significativa entre os pacientes com estágio 3 vs 4

^b Diferença estatística significativa entre os pacientes com estágio 3 versus estágio 5

^c Diferença estatística significativa entre os pacientes com estágio 4 versus estágio 5

REFERÊNCIAS

1. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *American journal of kidney diseases*. 1998 Nov;32(5 Suppl 3):S112–9.
2. Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Annals of internal medicine*. 2003 Jul 15;139(2):137–47.
3. Levey AS, de Jong PE, Coresh J, El Nahas M, Astor BC, Matsushita K, et al. The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. *Kidney international*. Nature Publishing Group; 2011 Jul;80(1):17–28.
4. Stenvinkel P. Coronary Artery Disease in End-Stage Renal Disease: No Longer a Simple Plumbing Problem. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2003 Jul 1;14(7):1927–39.
5. Cheung a K, Sarnak MJ, Yan G, Dwyer JT, Heyka RJ, Rocco M V, et al. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. *Kidney international*. 2000 Jul;58(1):353–62.
6. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre F, Diczfalusy U, Wang T, Berglund L, et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney international*. 1999 May;55(5):1899–911.
7. Menon V, Greene T, Wang X, Pereira A a, Marcovina SM, Beck GJ, et al. C-reactive protein and albumin as predictors of all-cause and cardiovascular mortality in chronic kidney disease. *Kidney international*. 2005 Aug;68(2):766–72.
8. Kalantar-Zadeh K, Rodriguez R a., Humphreys MH. Association between serum ferritin and measures of inflammation, nutrition and iron in haemodialysis patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2004 Jan 1;19(1):141–9.
9. Ortega O, Rodriguez I, Gallar P, Carreño A, Ortiz M, Espejo B, et al. Significance of high C-reactive protein levels in pre-dialysis patients. *Nephrology, dialysis, transplantation*. 2002 Jun;17(6):1105–9.
10. Ongajooth L, Ongajyooth S, Likidlilid A, Chantachum Y, Shayakul C, Nilwarangkur S. Role of lipid peroxidation, trace elements and anti-oxidant enzymes in chronic renal disease patients. *Journal of the Medical Association of Thailand*. 1996 Dec;79(12):791–800.
11. Khaira A, Mahajan S, Kumar A, Saraya A, Tiwari SC, Prakash S, et al. Endothelial function and oxidative stress in chronic kidney disease of varying severity and the effect of acute hemodialysis. *Renal failure*. 2011 Jan;33(4):411–7.
12. Puchades Montesa MJ, González Rico MA, Solís Salguero MA, Torregrosa Maicas I, Tormos Muñoz MC, Saez Tormo G, et al. Study of oxidative stress in advanced kidney disease. *Nefrología*. 2009 Jan;29(5):464–73.
13. Aveles PR, Criminácio CR, Gonçalves S, Bignelli AT, Claro LM, Siqueira SS, et al. Association between biomarkers of carbonyl stress with increased systemic inflammatory response in

- different stages of chronic kidney disease and after renal transplantation. *Nephron. Clinical practice*. 2010 Jan;116(4):c294–9.
14. Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney international*. 2002 Nov;62(5):1524–38.
 15. Lee DH, Silventoinen K, Jacobs DR, Jousilahti P, Tuomileto J. gamma-Glutamyltransferase, obesity, and the risk of type 2 diabetes: observational cohort study among 20,158 middle-aged men and women. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004 Nov;89(11):5410–4.
 16. Lee D, Jacobs DR, Gross M, Kiefe CI, Roseman J, Lewis CE, et al. Gamma-glutamyltransferase is a predictor of incident diabetes and hypertension: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Clinical chemistry*. 2003 Aug;49(8):1358–66.
 17. Postorino M, Marino C, Tripepi G, Zoccali C. Gammaglutamyltransferase in ESRD as a predictor of all-cause and cardiovascular mortality: another facet of oxidative stress burden. *Kidney international*. 2008 Dec;74(111):S64–6.
 18. Ruttman E, Brant LJ, Concin H, Diem G, Rapp K, Ulmer H. Gamma-glutamyltransferase as a risk factor for cardiovascular disease mortality: an epidemiological investigation in a cohort of 163,944 Austrian adults. *Circulation*. 2005 Oct 4;112(14):2130–7.
 19. Ceballos-Picot I, Witko-Sarsat V, Merad-Boudia M, Nguyen AT, Thévenin M, Jaudon MC, et al. Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free radical biology & medicine*. 1996 Jan;21(6):845–53.
 20. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976 Jan;16(1):31–41.
 21. Du BOIS D. A Formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Archives of Internal Medicine*. 1916 Jun 1;XVII(62):863.
 22. Levey AS. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *American journal of kidney diseases*. 2002 Feb;39(2 Suppl 1):S1–266.
 23. Wish JB. Assessing iron status: beyond serum ferritin and transferrin saturation. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. 2006 Sep;1 Suppl 1:S4–8.
 24. Hsu C, McCulloch CE, Curhan GC. Epidemiology of anemia associated with chronic renal insufficiency among adults in the United States: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2002 Feb;13(2):504–10.
 25. Neugarten J, Acharya a, Silbiger SR. Effect of gender on the progression of nondiabetic renal disease: a meta-analysis. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2000 Feb;11(2):319–29.

26. Razeghi E, Parkhideh S, Ahmadi F, Khashayar P. Serum CRP levels in pre-dialysis patients. *Renal failure*. 2008 Jan;30(2):193–8.
27. Menon V, Wang X, Greene T, Beck GJ, Kusek JW, Marcovina SM, et al. Relationship between C-reactive protein, albumin, and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *American Journal of Kidney Diseases*. 2003 Jul;42(1):44–52.
28. Yugar-Toledo JC, Tanus-Santos JE, Sabha M, Sousa MG, Cittadino M, Tácito LHB, et al. Uncontrolled hypertension, uncompensated type II diabetes, and smoking have different patterns of vascular dysfunction. *Chest*. 2004 Mar;125(3):823–30.
29. Haffner SM, Agil A, Mykkanen L, Stern MP, Jialal I. Plasma oxidizability in subjects with normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance, and NIDDM. *Diabetes care*. 1995 May;18(5):646–53.
30. Kameda K. Correlation of oxidative stress with activity of matrix metalloproteinase in patients with coronary artery disease Possible role for left ventricular remodelling. *European Heart Journal*. 2003 Dec;24(24):2180–5.
31. Dhalla a K, Hill MF, Singal PK. Role of oxidative stress in transition of hypertrophy to heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 1996 Aug;28(2):506–14.
32. Pierides AM, Skillen AW. Serum gamma-glutamyl transferase activity in chronic renal failure during regular hemodialysis and after successful renal transplantation. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 1977 May 16;77(1):83–9.
33. Nakanishi N, Nishina K, Li W, Sato M, Suzuki K, Tatara K. Serum gamma-glutamyltransferase and development of impaired fasting glucose or type 2 diabetes in middle-aged Japanese men. *Journal of internal medicine*. 2003 Sep;254(3):287–95.
34. Targher G, Bertolini L, Poli F, Rodella S, Scala L, Tessari R, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and risk of future cardiovascular events among type 2 diabetic patients. *Diabetes*. 2005 Dec;54(12):3541–6.
35. Liberato I, Lopes E, Cavalcante M, Pinto T, Moura I, Loureiro-Jr L. Liver enzymes in patients with chronic kidney disease undergoing peritoneal dialysis and hemodialysis. *Clinics*. 2012 Feb 9;67(2):131–4.

APÊNDICE D

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O presente termo refere-se a um convite a participação do (a) Sr (a), _____, RG: _____, a participar, voluntariamente, como sujeito da pesquisa intitulada “**Níveis Séricos da Gamaglutamiltransferase em Pacientes com Doença Renal Crônica**”, cujo objetivo é avaliar o perfil dos níveis séricos da gamaglutamiltransferase nos diversos estágios da doença renal crônica. A pesquisa será realizada por **Luís Henrique Bezerra Cavalcanti Sette**, médico, nefrologista do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e mestrando em Ciências da Saúde pela UFPE, orientado pelo Prof. Edmundo Pessoa de Almeida Lopes, os quais poderão ser consultados sempre que julgar necessário através dos seguintes contatos: Celular (81) 9747-7777 e-mail: setteluis@hotmail.com ou no endereço: da Rua Jacó Velosino, 205/801, Casa Forte Recife-PE (Luís Henrique Bezerra Cavalcanti Sette) além do comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco, situado na Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600 Tel.: 2126 8588.

Fui informado (a) que serei submetido (a) à coleta de uma amostra de sangue, que tem como risco dor e sangramento, para avaliação dos níveis séricos da gamaglutamiltransferase assim como, a dosagem de alanina-aminotransferase, aspartato-aminotransferase, ferritina, albumina e proteína C reativa, os quais serão realizados na mesma amostra de sangue e analisadas no Laboratório do Hospital das Clínicas da UFPE e do TBARS que será realizado no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) na UFPE. Além da coleta de sangue, serei submetido (a) à entrevista médica e preenchimento de questionário específico com dados do histórico da doença renal crônica. Fui alertado (a) ainda que serão coletados dados e informações que constam no meu prontuário médico. Fui esclarecido (a) sobre os benefícios da pesquisa para a ciência e que minha participação no estudo não acarretará em nenhum prejuízo à minha saúde.

Esta pesquisa pode trazer benefícios aos pacientes portadores de doenças renais crônicas na identificação daqueles com risco cardiovascular aumentado e propor tratamento mais precoce para estes pacientes.

Afirmo que aceitei participar por minha própria vontade, sem receber qualquer incentivo financeiro e com a finalidade exclusiva de colaborar para o sucesso da pesquisa, assim como fui informado (a) dos objetivos estritamente acadêmicos deste estudo.

Fui também esclarecido (a) de que o uso das informações por mim oferecidas está submetido às normas éticas destinadas à pesquisa envolvendo seres humanos, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Conselho Nacional de Saúde (CNS), do Ministério da Saúde (MS). Compreendo que minha identidade será mantida em sigilo e que os resultados da pesquisa poderão ser apresentados em eventos e publicações científicas.

O pesquisador principal do estudo ofertou-me uma cópia assinada deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme recomendações da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). Fui ainda informado (a) de que posso me retirar dessa pesquisa a qualquer momento, sem prejuízo para o meu acompanhamento ou sofrer quaisquer sanções ou constrangimentos.

Recife, ____ de _____ de _____

Assinatura do (a) participante: _____

Testemunhas:

1. _____

2. _____

Assinatura do pesquisador: _____

APÊNDICE E

QUESTIONÁRIO

NOME _____

PRONTUÁRIO _____ DN ____/____/____ IDADE _____

ENDEREÇO _____ BAIRRO _____

TELEFONE _____ CIDADE _____

DOENÇAS ASSOCIADAS

ETIOLOGIA / COMORBIDADES

- | | |
|---|---|
| ☐ DIABETES (t _____) | ☐ OBESIDADE |
| ☐ HAS (t _____) | ☐ DISLIPIDEMIA |
| ☐ DRPAD | ☐ AVC |
| ☐ ESQUISTOSSOMOSE | ☐ GLOMERULOPATIA |
| ☐ IAM | ☐ PNC |
| ☐ INDETERMINADO | ☐ NEFROLITÍASE |
| ☐ HISTÓRIA FAMILIAR | ☐ OUTRAS (_____) |

Framingham _____

SOROLOGIAS

- | | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| ☐ HCV | ☐ HIV |
| ☐ AgHbS | ☐ Anti HBS |
| ☐ Anti HBC | |

HÁBITOS

- | | | | |
|---|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| ☐ ETILISMO | ☐ Social | ☐ Diário | ☐ ex etilista |
| ☐ TABAGISMO | ☐ ativo | ☐ ex tabagista | |
| ☐ Atividade Física (_____) | Frequência | | |

CLEARENCE DE CREATININA

MDRD _____ ESTAGIO: III ☐ IV ☐ V ☐

C/G _____ ESTAGIO: III ☐ IV ☐ V ☐

CINTURA ABDOMINAL _____ cm PESO _____ Kg ALTURA _____ IMC _____

RAÇA NEGRO ☐ BRANCO ☐ PARDO ☐ AMARELA ☐

ESCOLARIDADE analfabeto ☐ fundamenta incompleto ☐ fundamental completo ☐ médio inc. ☐ Médio completo ☐ superior ☐

RESULTADO DOS EXAMES

ALT _____	FERRI _____	CREATI _____	Hb _____	GLI _____	TG _____	Na _____	Fe _____
AST _____	PCR _____	UREIA _____	Ca _____	FOS _____	FA _____	K _____	
GGT _____	ALB _____	PTH _____	CT _____	HDL _____	LDL _____	A. Úrico _____	

MEDICAÇÕES EM USO:

ANEXO A- APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
Comitê de Ética em Pesquisa
Av. da Engenharia, s/n – 1º andar – Sala 4 – Cidade Universitária
50.740-600 Recife – PE, Tel/fax: 81. 2126.8588 – cepccs@ufpe.br

Ofício nº. 090/2013 - CEP/CCS/UFPE

Recife, 22 de abril de 2013.

Ao

Dr. Luiz Henrique Bezerra Cavalcanti Sette
Hospital das Clínicas - UFPE

Registro do SISNEP FR – 433920
CAAE – 0314.0.172.000-11
Registro CEP/CCS/UFPE Nº 335/11
Título: Níveis séricos de Gamaglutamil Tranferase em pacientes portadores de doença renal crônica.
Pesquisador Responsável: Luiz Henrique Bezerra Cavalcanti Sette

Senhor (a) Pesquisador (a):

O Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) recebeu em 22/04/2013 o relatório final do protocolo em epígrafe e considera que o mesmo foi devidamente aprovado por este Comitê.

Atenciosamente

Vânia Pinheiro Ramos
Profª. Vânia Pinheiro Ramos

Vice-Coordenadora do CEP/CCS/UFPE

Vânia Pinheiro Ramos
Vice-coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa CCS/UFPE

ANEXO B- INSTRUÇÕES DOS AUTORES DA REVISTA CLINICS

Instructions to Authors

CLINICS publishes peer-reviewed articles of interest to clinicians and researchers in the medical sciences. CLINICS is registered with PubMed Central and SciELO and complies with the policies of funding agencies, such as the Wellcome Trust, the Research Councils UK (RCUK), the National Institutes of Health (NIH), and the German Research Foundation (DFG), which request or require deposition of the published articles that they fund into publicly available databases. CLINICS supports the position of the International Committee of Medical Journal Editors (<http://www.icmje.org/>) on trial registration. All trials initiated after January 1, 2012 must be prospectively registered (before patient recruitment begins) in a publicly accessible registry. Trials initiated before January 1, 2012 must be registered before submission to our journals. See the ICMJE FAQ regarding trial registration for further details. Visit http://www.who.int/ictrp/network/list_registers/en/index.html for the WHO's list of approved registries. CLINICS suggests: <http://www.clinicaltrials.gov/> as a user friendly site.

Publication Fees

CLINICS uses a business model in which expenses are recovered in part by charging a publication fee to the authors or research sponsors for each published article. Our 2013 prices are as follows: fast track: US\$ 2,000.00; original articles, review articles and rapid communications: US\$ 1,200.00. Invited reviews, editorials and letters to the editors: no charge.

** The exchange rate for payments in Brazil-Real is the commercial exchange rate of the day the article is accepted. Clinics uses the Banco do Brasil currency conversion tool.*

Manuscripts involving human subjects or the use of laboratory animals must clearly state adherence to appropriate guidelines and approval of protocols by their institutional review boards. Photographs that may identify patients or other human participants of studies shall be acceptable only when a legally valid consent form is signed by the participating patient, other human participant, or his/her legally constituted representative.

Manuscripts should be digitalized using a Word *.doc-compatible software program and submitted online in English.

Authors are strongly advised to submit the manuscript in its final form to a spell check for English (US). Submissions with excessive spelling or syntax mistakes as well as articles in which the meaning is not sufficiently clear shall be returned to authors for correction.

Authors are also strongly advised to use abbreviations sparingly whenever possible to avoid jargon and improve the readability of the manuscript. All abbreviations must be defined the first time that they are used. Only terms or expressions that are used at least 5 times throughout the text should be abbreviated. Never use abbreviations that spell common English words, such as FUN, PIN, SCORE, and SUN.

Please make sure to submit your manuscript in the exact format that is described below. Failure to do so will cause the submission to be returned to you during the preliminary examination by the Editorial Office.

Manuscripts are invited in the following categories:

ORIGINAL STUDY: Complete original studies should be submitted in this category. Three sections are offered: basic, clinical, and surgical research. Original studies must conform to the following format:

Title page:

- Title (up to 250 characters);
- Running title (up to 40 characters, letters and spaces);
- Full address of corresponding author only;
- Authors' names (without titles or degrees). *Authors should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content. **Such participation must be declared in this section of the manuscript.***

Manuscript:

- Abstract: Abstracts are limited to 250 words and structured into objectives, method, results, and conclusions. Citations or abbreviations (except internationally recognized abbreviations, such as weights, measures, and physical or chemical abbreviations) are not permitted. Authors are strongly encouraged not to display numerical statistical information but to merely state what is significantly different (or not) between the described parameters.
- Keywords: For keywords, 3-6 items from the Medical Subject Headings (MeSh) should be used.
- Introduction: The introduction should set the purpose of the study, provide a brief summary (not a review) of previous relevant studies, and state the new advances in the current investigation. The introduction should not include data or conclusions from the work being reported. A final sentence summarizing the novel finding to be presented is permissible.
- Materials and Methods: This section should briefly give clear and sufficient information to permit the study to be repeated by others. Standard techniques only need to be referenced. Previously published methods may be briefly described following the reference.
- Ethics: When reporting experiments on human subjects, indicate whether the procedures were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional or regional) and with the Helsinki Declaration of 1975, which was revised in 1983. When reporting experiments on animals, indicate whether the institution's guide, a national research council's guide, or any national law on the care and use of laboratory animals was followed.

- **Results:** The results section should be a concise account of the new information that was discovered, with the least personal judgment. Do not repeat in text all the data in the tables and illustrations but briefly describe what these data comprise.
- **Discussion:** The discussion should include the significance of the new information and relevance of the new findings in light of existing knowledge. Only unavoidable citations should be included. Citation to review articles are not encouraged in this section.
- **Acknowledgements:** This section should be short, concise, and restricted to acknowledgements that are necessary.
- **References in text:** CLINICS adopts the Vancouver format. Cite references in the text using Arabic numerals in the order of appearance, within parentheses, (1) after the previous word, with spacing as in this example: “Diabetes (2), hypertension (3,4) and alcoholism (5-9) are complex medical problems (10).” Under exceptional circumstances, authors’ names may appear in text: Single author: “Einstein (11) proposed a new theory ...”, Two authors: “Watson and Crick (12) reported on the structure of ...”, or Three or more authors: “Smith et al. (13) described ...”
- **Reference List:** Only citations that appear in the text should be referenced. References must be restricted to directly relevant published works, papers, or abstracts. Unpublished papers, unless accepted for publication, should not be cited. Work that is accepted for publication should be referred to as "in press" and a letter of acceptance of the journal must be provided. Authors are responsible for the accuracy and completeness of their references and for correct text citation. Usually the total number of references should not exceed 35. For up to 6 authors, list all authors. For more than 6 authors, list first 6 authors followed by “et al”.
- **Tables and Figures:** The maximum number of tables and/or figures is 6 tables and/or figures. **Tables:** Should be constructed using the table feature in your word processor or using a spreadsheet program such as Excel. The tables should be numbered in order of appearance in the text, using Arabic numerals. Each table should have a title and an explanatory legend, if necessary. All tables must be referenced and succinctly described in the text. Under no circumstances should a table repeat data that are presented in an illustration. Statistical measures of variation (i.e., standard deviation or standard error) should be identified, and decimal places in tabular data should be restricted to those with mathematical and statistical significance. **Figures:** Photographs, illustrations, charts, drawings, line graphs, etc. are all defined as figures. Number figures consecutively using Arabic numerals in order of appearance. Figure legend(s) should be descriptive and should allow examination of the figure without reference to text. Images must be of professional quality and uploaded as *.tiff files. Generally, figures will be reduced to fit one column of text. The actual magnification of all photomicrographs should be provided, preferably by placing a scale bar on the print. Line graphs and charts should never be sent as *.jpeg illustrations. We recommend preparing line graphs and charts as Excel® files and copying these files into a Word *.doc sheet.

REVIEW ARTICLES: Review articles should cover themes that are relevant to medical practice. Spontaneously submitted reviews are welcome; however, potential authors should bear in mind that they are expected to have expertise in the reviewed field. The sections should be arranged as follows: · **Title page:** As described in the Original Study section.

· **Manuscript:** Abstract, keywords and text should be arranged to cover the subject that is being reviewed. If appropriate, the method of reference collection should be described. The use of headings, subheadings, and paragraph titles is encouraged to improve clarity. Abbreviations, acknowledgments, tables and figures should be formatted as described in the Original Study section. The number of references is at the discretion of the authors. No publication fee discount is allowed for spontaneously submitted review articles that are accepted for publication.

ANEXO C- INSTRUÇÕES DOS AUTORES DA REVISTA CLINICAL AND CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE

1. Scope and policy of the Journal

Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM) publishes Research Articles, Reviews, Mini Reviews and Opinion Papers on all aspects of clinical chemistry and laboratory medicine. Articles in *CCLM* are published in English. Areas covered include: clinical biochemistry, clinical molecular biology and proteomics, hematology and coagulation, immunology, microbiology, drug monitoring and analysis, evaluation of diagnostic markers, new reagents, reference materials, reference values, and quality in laboratory medicine. *CCLM* publishes papers on novel teaching and training methods applicable to laboratory medicine. *CCLM* also publishes Guidelines and Recommendations, Letters to the Editor, Point/Counterpoint Papers, Editorials and Meeting Reports. Review Articles and Opinion Papers are normally published by invitation, but suggestions to the Reviews Editor/Editor in Chief are welcome. Reviews should be submitted along with a photograph and a short CV (6-10 lines, written in the 3rd person singular) of the corresponding author and all coauthor(s). This information will be published after the References. Congress abstracts can be published at page charges of EURO 110.00 per page. Manuscripts are reviewed by two independent reviewers selected by the Editors. *CCLM* aspires to notify authors about the decision within 3-4 weeks from submission date. When manuscripts are accepted subject to revision, the revised manuscript should be returned within approx. 6 weeks. Accepted articles are published online ahead of print approx. 3–4 weeks after acceptance.

Reviewers: The authors should provide the names and e-mail addresses of up to 3 potential reviewers. Authors may also indicate names of reviewers whom they wish to be excluded from reviewing their manuscripts.

Unpublished material: Submission of a manuscript to *CCLM* implies that the work described has not been published previously, except in the form of an abstract, academic thesis or lecture; that it is not under consideration for publication elsewhere; that publication of the work is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out; and that, if accepted, it will not be published elsewhere, in English, German, or in any other language, without the written consent of the Publisher.

Ethical conduct of research: Work involving humans should comply with the principles laid down in the Declaration of Helsinki, adopted by the 18th World Medical Assembly, Helsinki, Finland, June 1964, and recently amended at the 59th World Medical Assembly, Seoul, Korea, October 2008. In the Materials and methods section, or in a separate section, the manuscript should contain a statement that the study has been approved by the Ethical Committee of the institution where the study was performed, and that the study subjects, or their legal guardians, gave informed consent for participation in the study.

Conflict of interest: Submission to *CCLM* requires a Conflict of Interest Declaration. Upon submission, you will be required to complete and upload a form to declare any conflicts of interest, funding, employment, or leadership and honoraria. This information must also be included in your manuscript before the Reference section. If you have no declaration to make, please insert *None declared*. A conflict of interest for

a given manuscript exists when a participant in the peer review and publication process – author, reviewer, and editor – has ties to activities that could inappropriately influence his or her judgment, regardless of whether judgment is, in fact, affected. Financial relationships with industry (for example, employment, consultancies, stock ownership, honoraria, expert testimony), either directly or through immediate family, are usually considered the most important conflicts of interest. However, conflicts can occur for other reasons, such as financial support of the study, ties to health insurance, politics or other stakeholders, personal relationships, academic competition, and intellectual passion.

Copyright: Manuscripts are accepted on condition of transfer of copyright (for U.S. government employees: to the extent transferable) to the publisher. Once the manuscript has been accepted, it may not be published elsewhere without the consent of the copyright holders.

2. Submission of manuscripts

Please submit manuscripts exclusively online at:
<http://mc.manuscriptcentral.com/cclm>

Preparation of manuscripts

Language: Manuscripts should be written in clear and concise English. Please have your text proofread by a native English speaker before you submit it for consideration. At proof stage, only minor changes other than corrections of printers' errors are allowed.

Cover letter: Each manuscript should be accompanied by a cover letter containing a brief statement by the authors describing the novelty and importance of their research.

General format and length: Type the manuscript (including table legends, figure legends and references) double-spaced using 12 pt font size. Do not use footnotes in the text, use parentheses instead. When you submit your work, please ensure the following:

- The manuscript is complete and uploaded correctly. (The PDF file generated from the submitted files must be approved.)
- The full names of all authors are provided (personal name, middle initials, family name).
- Author affiliations are complete.
- All Figures and Tables have been uploaded and appear correctly at the end of the PDF.
- Abstract, Keywords, List of Abbreviations, Tables and Figures, and captions and legends are included.
- Number of words, Figures, Tables, and References are indicated on the title page.
- Manuscript is spell-checked and within the word limit for the type of article.
- Manuscripts must be written in clear and concise English.
- References are in the correct format (Vancouver style) and cited sequentially in the text.
- References mentioned in the reference list are cited in the text and vice versa.
- Ethical approval has been obtained and mentioned in the text, if applicable.
- Authors' conflict of interest declaration is included.
- A cover letter containing a brief statement describing the novelty and importance of the work is included.
- The names and e-mail addresses of up to three potential reviewers, preferably not from the same country as the authors, should be included (does not apply to invited articles).
- SI units are used.
- Numbers have decimal points, no commas, also in Tables and Figures.

- Supplier name, city and country are provided for reagents and apparatus reported in the manuscript.

General format and length of the types of articles accepted for submission (word count excluding references, captions and Tables/word count in Abstract/no. of Keywords/no. of Tables & Figures/References)

Full length Research Articles: 3500/250/3-6/8/50/Structured Abstract

Reviews: 6000/250/3-6/8/150/Unstructured Abstract

Mini Reviews: 3500/250/3-6/4/40/ Unstructured Abstract

Opinion Papers: 3500/250/3-6/2/40/Unstructured Abstract

Letters to the Editor: 1200/NA/3-5/2/10/No Abstract

Letters to the Editor: Reply: 750/NA/3/1/10/No Abstract

Point and Counterpoint: 1500/200/3-5/2/15/Unstructured Abstract

Guidelines and Recommendations: 3500/250/3-6/6/40/Structured Abstract

Editorials: 1500/NA/NA/10/No Abstract

References: Adhere strictly to the reference style of the Journal (Vancouver; recommendations of the "International Committee of Medical Journals Editors"; see N Engl J Med 1991;324:421–8). All references mentioned in the Reference list must be mentioned in the text, and vice versa. List and number the references consecutively in the order that they appear in the text, including Tables and Figures. In the text, identify references by Arabic numerals in parentheses. Italic and boldface font type in the Reference section is not allowed. List all authors; if the number is 7 or more, list the **Information for Authors** first 6 names followed by et al. Identify authors by last name first, followed by up to 2 initials, without periods, indicating the authors' first name. Only the first name of the title is capitalized, as well as proper names within the title. Journal names are abbreviated according to the *World List of Scientific Periodicals*, without periods. After the abbreviated journal name, give the year of publication, followed by a semicolon, volume number (but no issue number), followed by a double colon, and the page numbers, with the last page number in shortened format. Meeting abstracts may be cited only if published in journals. Unpublished observations and personal communications are cited only in the text. Correct linking of the references depends on strict adherence to Journal style.

- Articles in journals: Söderberg J, Jonsson AP, Wallin O, Grankvist K, Hultdin J. Haemolysis index – an estimate of preanalytical quality in primary health care. Clin Chem Lab Med 2009;47:940–4.
- Articles ahead of print: McDonald PJ, Strachan JA, Digby J, Steele RJ, Fraser CG. Faecal haemoglobin concentrations by gender and age: implications for population-based screening for colorectal cancer. Clin Chem Lab Med 2011;49. Epub ahead of print 13 Dec 2011. DOI: 10.1515/CCLM.2011.815.
- Supplements: Ploder M, Schroeksadel K, Spittler A, Neurauter G, Roth E, Fuchs D. Moderate hyperhomocysteinemia in trauma and sepsis indicates poor survival. Clin Chem Lab Med 2009;47:Suppl:S187.
- Books and Monographs: Kahn CR, Weir GC, editors. Joslin's diabetes mellitus, 13th ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1994:1068.
- Chapters: Karnofsky DH, Burchenal JH. The clinical evaluation of chemotherapeutic agents in cancer. In: Macleod CM, editor. Evaluation of chemotherapeutic agents. New York: Columbia University Press, 1949:191–205.
- Website: World Health Organization. WHO information for laboratory diagnosis of pandemic (H1N1) 2009 virus in humans update. Available at:

http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/WHO_Diagnostic_RecommendationsH1N1_20090521.pdf. Accessed: 6 Nov 2009.

Tables: Submit Tables on separate pages and number them consecutively using Arabic numerals. Provide a short descriptive title, column headings, and (if necessary) footnotes to make each Table self-explanatory. In the footnote, refer to information within the Table with superscript lowercase letters, and do not use special characters or numbers. Separate units with a comma and use parentheses or square brackets for additional measures (e.g., %, range, etc). Refer to Tables in the text as Table 1, etc. Use Table 1 (boldface), etc. in the title of the Table.

Figures: General requirements All illustrations must be of reproduction-ready quality. They will be reduced in size to fit, whenever possible, the width of a single column. Lettering of all Figures within the article should be uniform in style (preferably a sans serif typeface like Helvetica) and of sufficient size (ca. 10 pt.). Uppercase letters A, B, C, etc. should be used to identify parts of multi-part Figures. In the legend, these letters are included in parentheses. Cite all Figures in the text in numerical order. Indicate the approximate placement of each Figure. Do not embed Figures within the text body of the manuscript; submit Figures in separate files.

Halftone figures and line drawings Figures should have a minimum resolution of 300 dpi (halftone figures) and 1200 dpi (line drawings) and be of good contrast. Faint shading may be lost upon reproduction. When drawing bar graphs, use patterning instead of greyscales. **Color plates** Authors are encouraged to submit illustrations in color if necessary for the scientific content of their work. Publication of color Figures is provided free of charge both in online and print editions.

Figure legends Provide a short descriptive title and a legend, either below the Figure or on separate pages, to make each Figure self-explanatory. Explain all symbols used in a Figure. Remember to use the same abbreviations as in the text body.

Supplemental material: You may submit additional tables, figures, videos, appendices or other additional material (e.g. references) that exceeds the limitation of the article as Supplemental data for online only publication. Supplemental data should be uploaded as separate file(s) during submission. Within the text, Supplemental data must be cited consecutively and be referred to as Supplemental data (e.g. see Supplemental data, Figure 1). Supplemental data is subject to peer review as part of the manuscript. If the manuscript is accepted and the Supplemental data is posted online, it will be referenced in the article of the printed version together with the URL where it can be found.

Nomenclature: Follow the rules of the IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, as in IUB *Biochemical Nomenclature and Related Documents*, 3rd ed., obtainable from Biochemical Society Book Depot, P.O. Box 32, Commerce Way, Colchester, CO2 8HP, U.K. Enzyme names should be in accordance with the recommendations of the IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, 1978, as in *Enzyme Nomenclature*, published by Academic Press, New York, 1992. Genotypes should be given in italics, phenotypes should not be italicized. Nomenclature of bacterial genetics should follow Damerec et al. Genetics 1966; 54:61–76. Measurands should be given in SI units or with conversion factor to SI units.

Note for authors of NIH-funded research: De Gruyter acknowledges that the author of a US-agency-funded article retains the right to provide a copy of the final manuscript to agency upon acceptance for publication or thereafter, for public archiving in PubMed Central 12 months after publication in *CCLM*. Note that only the accepted author's version of the manuscript, not the PDF file of the published article, may be used for NIH archiving.

Permissions: It is the authors' responsibility to obtain permission to reproduce original or modified material that has been previously published elsewhere.

Proofs: The corresponding author of an article will receive the proofs in electronic form to check for editing and type-setting accuracy. Major changes to the article as accepted for publication will not be considered at this stage, unless the authors pay for these changes.

Offprints: The electronic files of typeset articles in Adobe Acrobat PDF format are provided free of charge; corresponding authors receive notification that their article has been published online. Paper offprints can be ordered in addition; an offprint order form will accompany the page proofs and should be completed and returned with the corrected proofs immediately if offprints are requested.

Rejection of Manuscripts Manuscripts dealing with subjects that have been well studied in the literature, and that do not resolve questions raised by previous studies, or manuscripts that are statistically underpowered, are likely to be rejected without peer review. This applies in particular to studies of genetic associations, which will be considered only if they contribute new insights and are statistically valid according to generally accepted criteria. Articles which are likely to affect the choice, performance or interpretation of clinical tests will be favored over those which do not, and animal or cell-culture studies need to justify their eligibility. Reporting of negative results must be justified by prior evidence that a positive result would be expected. Manuscripts are also returned to authors if they do not comply with the Information for Authors (e.g., if the number of words allowed for a certain article type will be exceeded).

Translational Research Papers

Type of study considered: *in vitro*, *ex vivo*, animal, human. Inclusion criteria:

- Highlight new insights into the pathophysiology of biological parameters used (or to be implemented) in routine laboratory medicine.
- Highlight new insights into the metabolism and/or the mechanisms of action of biological parameters used (or to be implemented) in routine laboratory medicine.
- Highlight new insights on the utility of various molecules as biomarkers.
- Help to understand the mechanisms of variation of biological parameters.
- Provide new information on the use of biological parameters and help to improve laboratory practice.

Exclusion criteria: • Experimental Pharmacology and Therapeutics (systemic or local effects of drugs or substances).

- Basic research studies and clinical studies that do not have a direct relationship to the field of clinical chemistry and laboratory medicine.

Please contact the Editorial Office with any further questions:

Heike Jahnke, T: +49 30 26005-220, F: +49 30 26005-325, E-mail: cclm.editorial@deGruyete.com