

USO DE MINI-ESPECTRÔMETRO DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X COMO ALTERNATIVA PARA PRÁTICA CLÍNICA DE DIALISADOS

Catarina S. Souza, Cibele B. Zamboni, Dalton N. S. Giovanni e Sabrina Metairon

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP)
Av. Professor Lineu Prestes 2242
05508-000 São Paulo, SP, Brasil
souzacatarina38@gmail.com
czamboni@ipen.br
dalton@dalton.pro.br
metaiorn@live.com

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a performance da técnica de Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia (FRX-DE) para análise de íons, de relevância clínica (Ca, Cl, K, Fe), em sangue total de pacientes com insuficiência renal crônica (IRC) submetidos a tratamento dialítico. Com os dados do presente foi possível elaborar uma discussão sobre as vantagens e limitações do uso deste procedimento para a realização desses exames bioquímicos em Centros de Hemólise. Durante a investigação as concentrações obtidas para Ca, Cl, K e Fe levaram a resultados que corroboram com o quadro clínico obtido pelas análises convencionais.

1. INTRODUÇÃO

A conhecimento da composição química de fluidos corpóreos, através de testes laboratoriais (dosagem de íons), compõe ferramenta fundamental para realização de diagnósticos bem como para avaliação da eficácia de tratamentos clínicos. O diagnóstico dos processos renais tem relação direta com a anormalidade da concentração de vários íons em fluidos corpóreos. O papel primário dos rins é sua função excretora, que ocorre ao eliminar pela urina substâncias tóxicas, como ureia, creatinina, ácido úrico bem como íons de potássio, sódio, cálcio, fósforo, dentre outros. Além da função excretora (eliminação de toxinas) os rins atuam no controle do balanço hidroeletrólítico (função reguladora), mantendo um balanço ideal entre o ganho e a perda de água e íons. Dentre as enfermidades que acometem os rins, a Insuficiência Renal Crônica (IRC) tem incidência relevante na população mundial. De acordo com a Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN) [1], estima-se que haja atualmente, em todo o mundo, 850 milhões de pessoas com doença renal e da ordem de pelo menos 4,1 milhões de mortes por ano, com uma taxa crescente de mortalidade. No Brasil, da ordem de 13 milhões de brasileiros apresentam algum grau de problema renal, número que é duas vezes maior do que há dez anos. Desse total, 95 mil estão em estágio grave, dependendo de hemodiálise ou na fila do transplante, e os casos vêm crescendo a um ritmo de 10% ao ano, sendo que 123000 pacientes estão em tratamento dialítico devido a IRC [2-4].

A IRC caracteriza-se pela deterioração progressiva na função renal na qual os mecanismos homeostáticos do organismo entram em falência a menos que seja feito um tratamento dialítico ou um transplante de rim. À medida que a função renal se deteriora, os produtos do metabolismo proteico (que formam os componentes da urina) acumulam-se no sangue gerando desequilíbrios na bioquímica do organismo bem como nos sistemas cardiovascular, hematológico, gastrointestinal, neurológico e esquelético [5]. A hemodiálise no Brasil é o método dialítico mais frequente atendendo da ordem de 90% dos pacientes (CENSO 2016, SBN) [1]. A frequência com que esses pacientes precisam ser submetidos a dialise depende da gravidade da disfunção renal, mas em média é da ordem de 2 a 4 vezes por semana, o que requer pelo menos duas análises de íons em sangue por sessão (isto é, antes e depois da diálise).

Nos últimos anos a técnica de Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia (FRX-DE) está sendo testada no Laboratório de Espectroscopia e Espectrometria das Radiações (LEER) do IPEN/CNEN-SP para as análises de íons em fluidos corpóreos. Implantou-se um sistema compacto de Fluorescência de Raios-X (FRX) para análise de íons em sangue total, soro, urina e saliva, utilizando micro amostras (uma gota de fluido corpóreo), compondo uma ferramenta bastante promissora para realização de análises bioquímicas. Esse procedimento alternativo apresenta simplificações e vantagens quando comparado aos procedimentos empregados nos Laboratórios de Análises Clínicas, a saber: uso de pequena quantidade de sangue total (uma gota, ~ 0,05ml) comparativamente ao procedimento convencional realizado em soro (mínimo 0,5mL, o que requer coleta de 1,0 a 5,0mL); procedimento não destrutivo; execução rápida (minutos); armazenamento da amostra sem a necessidade de refrigeração e viabilidade de realizar várias análises simultaneamente, o que é inviável pelos procedimentos convencionais [6]. O sucesso do uso clínico, por este procedimento, motivou a continuidade dessas aplicações visando a avaliação de sangue total de pacientes com insuficiência renal crônica (IRC). Neste estudo, amostras de sangue total de pacientes submetidos a hemodiálise foram analisadas por FRX-DE. Com os dados do presente estudo foi possível elaborar uma discussão sobre as vantagens e limitações do uso deste procedimento para a realização desses exames bioquímicos em Centros de Hemólise.

2. MÉTODO

2.1 Preparo das amostras

A coleta é realizada por punção digital. Em função das facilidades implantadas, isto é, uso de pequena quantidade de sangue total (uma gota), eliminação do procedimento de separação do soro - plasma bem como a eliminação do uso de anticoagulante e reagentes, o procedimento para o preparo dessas amostras reduz-se a depositar a gota de sangue (~0,05ml) em papel de filtro (Whatman – nº 41) imediatamente após a coleta. O estudo utilizou amostras do banco de amostras biológicas do LEER do IPEN/CMNEN-SP (CAAE 69992117.7.0000.0081). Para estas medidas foram analisadas 12 amostras de sangue total (preparadas em duplicata), coletas de pacientes a IRC após o tratamento dialítico. Um

grupo de controle foi também estabelecido para comparação. Foram coletadas 24 amostras de indivíduos saudáveis, selecionados do Banco de Sangue Paulista (São Paulo, Brasil)

2.2 Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia (FRX-DE)

As medidas de FRX-DE foram realizadas utilizando um mini-espectrômetro de FRX (Amptek®). Este instrumental é constituído por um tubo de Raios X com alvo de Ag, detector de Silício Drift (25 mm² x 500 µm) com janela de Berílio (12,5 µm). A condição de excitação foi estabelecida por 5 µA e 30 kV para tempo de contagem de 300 s. Os espectros foram construídos usando softwares dedicados, fornecidos pelo fabricante [7] e as análises espectrais utilizando o software WinQxas [8].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os resultados das concentrações de Ca, Cl, Fe e K em pacientes com IRC. Os resultados são expressos pelo valor médio (VM), desvio padrão ($\pm 1DP$), mínimo (min) e máximo (máx.) valores. Como as análises são realizadas em sangue total não é possível a utilização de valores de referência (disponíveis na literatura), pois são estabelecidos para soro ou plasma. Desta forma, utilizou-se valores de referência obtidos a partir de sangue total de indivíduos saudáveis. Nas Figuras, 1, 2, 3 e 4 são apresentados os resultados individuais das análises em sangue total de cada paciente, para os elementos Ca, Cl, Fe e K, respectivamente.

Tabela 1. Concentração média dos elementos. Os valores de referência foram incluídos para comparação

mg/L	Elementos [valor de referência] *			
	Ca [57- 311]	Cl [2,01– 4,00]	Fe [291–551]	K [1,12–2,16]
VM	111	2,84	431	1,23
$\pm 1DP$	61	0,36	80	0,15
min- máx.	55 - 234	2,06 – 3,44	310 - 593	1,03 -1,64

*considerando o intervalo de normalidade de 95% adotado na prática clínica

Os resultados apresentados na Tabela 1 encontram-se dentro do range de normalidade, o que era esperado pois as amostras dos pacientes com IRC foram colhidas após o tratamento dialítico (realizado com sucesso e expressos pelos valores de normalidade em soro).

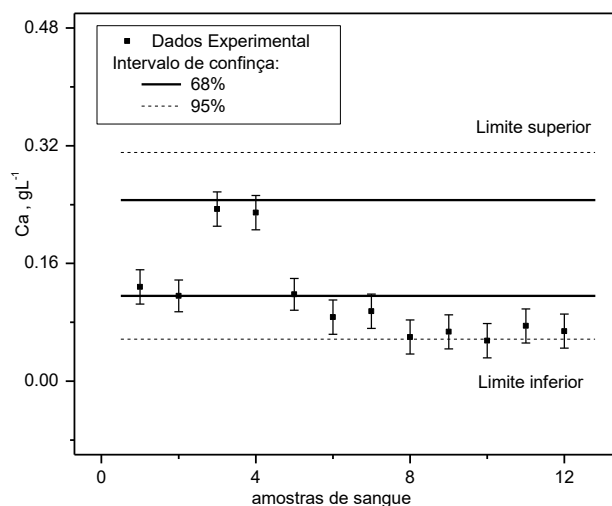


Figura 1. Concentração de Ca em sangue total de pacientes com IRC e o intervalo de normalidade

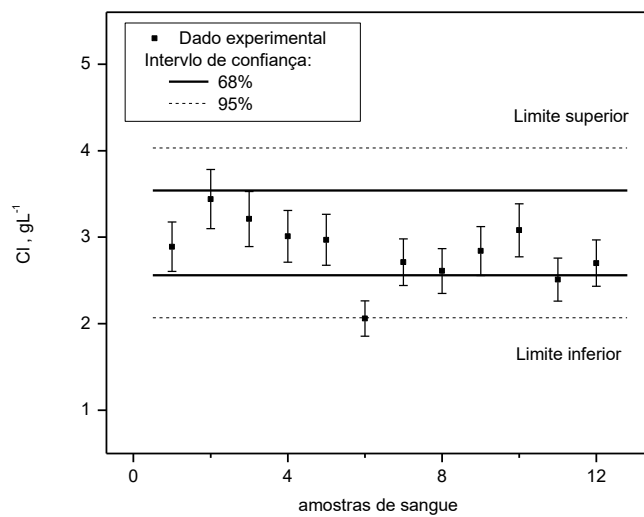


Figura 2. Concentração de Cl em sangue total de pacientes com IRC e o intervalo de normalidade

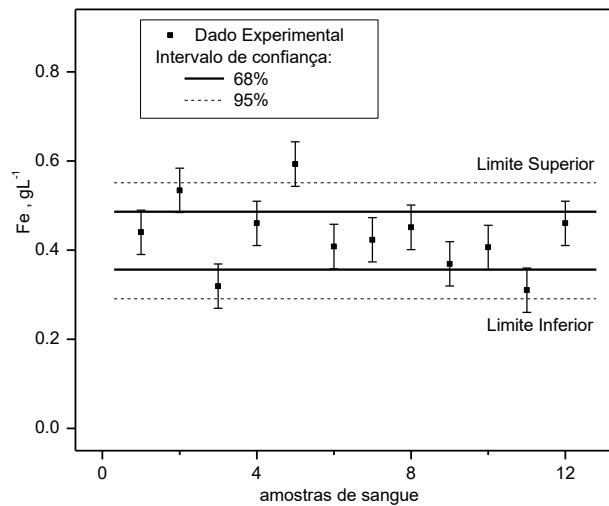


Figura 3. Concentração de Fe em sangue total de pacientes com IRC e o intervalo de normalidade

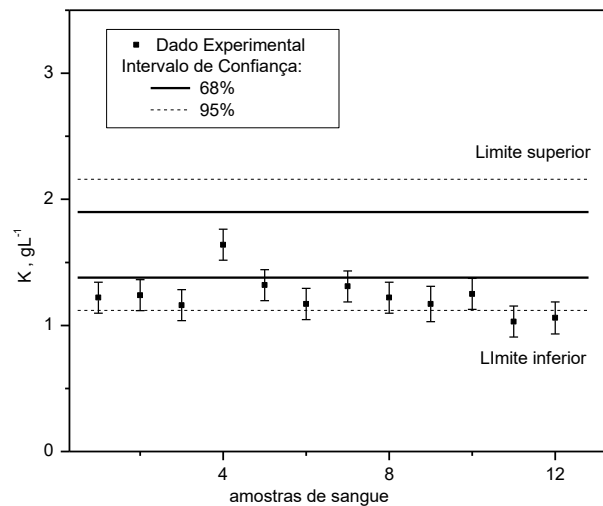


Figura 4. Concentração de K em sangue total de pacientes com IRC e o intervalo de normalidade

Com relação a metodologia aplicada algumas vantagens podem ser desatadas: a portabilidade do equipamento, a simplificação na coleta, a facilidade do preparo e armazenamento da amostra. Essas facilidades permitem realizar de forma eficaz, rápida e

com baixo custo o atendimento a saúde de populações carentes bem como populações desprovidas de qualquer de laboratórios clínicos, centros médicos, ambulatorios, etc. É importante ressaltar que, em muitos casos, há perda do material a ser analisado em função do tempo dispendido entre a coleta e a recepção em uma unidade de análise. No caso da região amazônica, por exemplo, o transporte do material até o local de execução pode chegar a dias comprometendo sua finalização. Com a utilização desta técnica, a análise pode ser efetuada imediatamente, no local da coleta. Além disso, o formato e execução das análises pode ser utilizado, sem necessidade nenhuma de adaptação nas Unidades Básicas de Saúde Fluviais (UBSF) ou de ampliação de equipe, uma vez que estas embarcações comportam equipes de Saúde da Família Fluvial, providas de corpo técnico e com os materiais necessários para atender à população ribeirinha da Amazônia Legal bem como outras localidades carentes. Ou seja, a implementação destes recursos clínicos (utilização do método alternativo para exames clínicos), nas UBS Fluviais, poderá ampliar o cuidado às estas populações como previsto na Política Nacional de Atenção Básica (PNAB), gerando melhorias na qualidade de vida de populações desprovidas de laboratórios clínicos e no âmbito econômica em função de sua aplicabilidade com menor custo.

4. CONCLUSÃO

A metodologia estabelecida para realização de testes bioquímicos em sangue total, utilizando a técnica de FRX-DE, demonstrou-se viável para acompanhamento clínico de pacientes com IRC. Os resultados obtidos corroboram com o quadro clínico obtido pelas análise convencionais e soro. Entretanto, um número maior de amostras e estudos que otimizem sua aplicabilidade visando ampliar o número de íons que possam ser analisados, pode agregar melhorias e incentivar sua utilização em análises de rotina em unidades laboratoriais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem os responsáveis pelo Banco de Sangue Paulista (São Paulo - SP, Brasil) pelo apoio técnico durante a coleta das amostras. O CNPq (305373/17-0) e FAPESP (15/01750-9) pelo suporte financeiro do projeto.

REFERENCIAS

1. “Sociedade Brasileira de Nefrologia. Doença renal: o desafio”, <https://sbn.org.br/dia-mundial-do-rim/ano-2019/#fndtn-sobre> (2019).
2. “Conselho Regional de Medicina do Maranhão: Pacientes com doença renal crônica triplicam em 16 anos no Brasil,” <http://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2017-06/pacientes-com-doenca-renal-cronica-triplicam-em-16-anos-no-brasil> (2016).



3. “Número de casos de insuficiência renal dobrou no Brasil,” http://www.crmma.org.br/index.php?option=com_content&view=article&id=21131&catid=3:portal&Itemid=142 (2011).
4. R. C. S.A. A. Lopes, F. S. Thomé, J. R. Lugon e C. T. Martins. “Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica”. *J Bras Nefrol* 2017;**39(3)**, pp. 261-266 (2016)
5. “Hospital Getúlio Vargas, Manual de Diálise/Nefrologia HGV-PI”, http://www.hgv.pi.gov.br/download/201204/HGV25_43447dbcff.pdf (2012).
6. M.J. Stewart, J. Shepherd, A. Gaw, M. Murphy, R.A. Cowan, D.S.J. O'Reilly, “Clinical Biochemistry E-Book: An Illustrated Colour Text”, Elsevier Health Sciences, London & England (2011).
7. “AMPTEK, DPPMCA Display & Acquisition Software”, <https://www.amptek.com/software/dpp-mca-display-acquisition-software> (2019).
8. R. Capote, E. López, and E. Mainegra. "WinQxas Manual (Quantitative X-Ray Analysis System for Widows) Version 1.4." IAEA, Viena & Austria (2002).