



**Universidade Nova de Lisboa**  
**Instituto de Higiene e Medicina Tropical**

**Utilidade da percentagem de eritrócitos hipocrómicos para a  
avaliação da deficiência de ferro em doentes hemodialisados**

**Sandra Maria Teixeira Silveira Dias**

**DISSERTAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM  
CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

**JUNHO, 2018**



**Universidade Nova de Lisboa**  
**Instituto de Higiene e Medicina Tropical**

**Utilidade da percentagem de eritrócitos hipocrómicos para a  
avaliação da deficiência de ferro em doentes hemodialisados**

**Orientador Interno: Professor Celso Cunha**  
**Orientador Externo: Doutor Luís Rodrigues**

Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências Biomédicas

**JUNHO, 2018**

**A presente dissertação não foi redigida segundo o Novo Acordo Ortográfico da  
Língua Portuguesa por opção da própria autora**

## **Agradecimentos**

Depois desta longa caminhada finalmente chega ao fim mais um ciclo na minha vida.

Começo por agradecer ao Doutor Luís Rodrigues, meu orientador externo, o apoio, a orientação, o rigor e as críticas efectuadas ao longo do processo de elaboração desta dissertação e também por todos os conhecimentos e ensinamentos que me transmitiu.

Ao Professor Celso Cunha, orientador interno, quero agradecer todo o auxílio e aconselhamento na elaboração deste projeto.

Ao meu filho, que apesar dos seus 3 anos de idade, demonstrou uma paciência e carinho nas horas em que fui privada das brincadeiras com ele.

Ao meu marido, pela pessoa maravilhosa que é, por estar do meu lado em todas as situações e por ter sempre acreditado que eu conseguia.

À minha cunhada, ao meu irmão e à minha irmã, um obrigado pelas conversas e por nunca me terem deixado desanimar.

Aos meus pais, um obrigado, por também terem contribuído para a construção deste sonho.

Como não podia deixar de ser, quero agradecer a todos os meus amigos e colegas de trabalho pela amizade, pelos conselhos e apoio durante a realização desta dissertação.

## Resumo

As principais complicações da doença renal crónica (DRC) são desnutrição, acidose metabólica, alteração do metabolismo mineral e anemia. A anemia tem como principais causas, nestes doentes, a deficiência de eritropoietina (devido à própria disfunção renal) e a deficiência de ferro (por redução da ingestão e da absorção intestinal, perdas sanguíneas e inflamação crónica). Sendo um fator que contribui para a progressão da DRC, a sua monitorização e correção são objetivos importantes. Uma vez que baixos valores de ferro podem ser responsáveis por uma fraca resposta aos agentes estimuladores da eritropoiese, a sua monitorização durante a terapia é essencial. Igualmente essencial é a existência de critérios para decisão sobre a administração de suplementos de ferro, orais ou endovenosos. Mas, nos doentes com DRC, sobretudo nos hemodialisados, os valores de ferritina têm pouca sensibilidade para a deficiência de ferro, mesmo para valores mínimos (100 µg/l) substancialmente mais altos do que os usados para a população geral (15 µg/l), dado estes doentes terem frequentemente processos inflamatórios associados. É neste contexto que a percentagem de eritrócitos hipocrómicos (concentração de hemoglobina globular <28 g/dl) pode representar uma mais-valia, uma vez que se correlaciona diretamente com a quantidade de ferro presente na medula óssea. Os valores mínimos aceitáveis para a percentagem de eritrócitos hipocrómicos nos doentes com DRC em hemodiálise são <10% e os valores-alvo são <2,5%.

O objectivo da dissertação consistiu em analisar, numa população de hemodialisados com dimensão significativa (3841 utentes), a significância estatística de algumas correlações importantes no contexto da monitorização da terapêutica com eritropoietina nos doentes renais crónicos em hemodiálise, correlações essas que podem ser deduzidas do modelo geral proposto para a relação entre todos estes marcadores (eritrócitos hipocrómicos, ferritina, saturação da transferrina e PCR).

Foi efectuada a análise descritiva dos dados, centrada essencialmente nas distribuições de frequências (frequência absoluta e relativa), em medidas de tendência central (médias) e em medidas de dispersão (desvio padrão), para cada variável. Para testar a associação entre as variáveis utilizou-se o teste *ANOVA one way*, *Kolmogorov-Smirnov*, *Shapiro-Wilk*, *Teste de Levene* para igualdade de variâncias, *Teste-t* para igualdade de médias e a *Correlação de Pearson*, (IC 95%,  $p \leq 0,05$ ).

Os resultados obtidos demonstraram que há uma clara associação entre % de eritrócitos hipocrómicos aumentadas e deficiência de ferro (evidenciada por valores de ferritina < 200 ng/ml).

Por outro lado, valores de ferritina geralmente indicativos de reservas normais de ferro (superiores a 200 ng/ml) tanto se associam a % de eritrócitos hipocrómicos normais como a % de eritrócitos hipocrómicos aumentadas, sendo que os valores de saturação da transferrina corroboram que o último grupo corresponde de facto a situações de deficiência de ferro para a hematopoiese.

**Palavras chave:** Doença Renal Crónica; Anemia Ferropénica; Ferritina; Eritrócitos Hipocrómicos

## Abstract

The main complications of chronic kidney disease (CKD) are malnutrition, metabolic acidosis, altered mineral metabolism and anemia. Anemia is primarily caused by erythropoietin deficiency (due to renal dysfunction) and iron deficiency (reduced intake and intestinal absorption, blood loss and chronic inflammation). As a contributing factor to the progression of CKD, its monitoring and correction are important goals. Since low iron values may be responsible for poor response to erythropoiesis-stimulating agents, their monitoring during therapy is essential. Equally essential is the existence of criteria for decision on the administration of iron supplements, oral or intravenous. However, in patients with CKD, especially in hemodialysis, ferritin values are poorly sensitive to iron deficiency, even at a significantly higher minimum (100 µg/ L) than those used in the general population (15 µg/l), since these patients often have associated inflammatory processes. In this context, the percentage of hypochromic erythrocytes (globular hemoglobin concentration <28 g/dl) may represent an added value, since it correlates directly with the amount of iron present in the bone marrow. The minimum acceptable values for the percentage of hypochromic erythrocytes in CKD patients on hemodialysis are <10% and target values are <2.5%.

The aim of this dissertation was to analyze the statistical significance of some important correlations in the monitoring of erythropoietin therapy in chronic renal hemodialysis patients in a hemodialysis population with a significant dimension (3841 users), which can be deduced from the model proposed for the relationship between all these markers (hypochromic erythrocytes, ferritin, transferrin saturation and CRP).

The Descriptive analysis of the data was performed, focusing essentially on frequency distributions (absolute and relative frequency), central tendency measures (means) and dispersion measures (standard deviation) for each variable. To test the association between the variables we used the *ANOVA one-way test*, *Kolmogorov-Smirnov*, *Shapiro-Wilk* and the *Levene test* for equality of variances and the *t-test* for equality of means and Pearson's correlation (95% CI,  $p \leq 0.05$ ).

The results showed that there is a clear association between increased percentage of hypochromic erythrocytes and iron deficiency (evidenced by ferritin values <200 ng / ml).

On the other hand, ferritin values, generally indicative of normal iron stores (greater than 200 ng / ml, are associated with both normal percentage of hypochromic erythrocytes and the increased percentage of hypochromic erythrocytes. Transferrin saturation values corroborate that the latest group corresponds in fact to situations of iron deficiency for hematopoiesis.

**Keywords:** Chronic Renal Disease; Iron Deficiency Anemia; Ferritin; Hypochromic Erythrocytes

## Índice Geral

Agradecimentos .....	iii
Resumo .....	iv
Abstract .....	v
Índice Geral.....	vi
Lista de abreviaturas .....	viii
Lista de unidades/símbolos .....	x
Índice de Gráficos.....	xi
Índice de Figuras.....	xi
Índice de Tabelas .....	xii
1. Introdução .....	1
2. A Doença Renal Crónica .....	2
2.1 Fisiopatologia da DRC .....	3
2.2. Estádios.....	4
2.3. Epidemiologia.....	5
2.4. Tratamento da DRC.....	7
2.4.1. Hemodiálise .....	8
2.4.1.1. Pequena Síntese Histórica da Hemodiálise.....	10
2.4.2. Diálise Peritoneal .....	10
2.4.3. Transplante.....	11
2.5. Complicações da doença renal crónica.....	11
2.5.1. Hipertensão Arterial.....	11
2.5.2. Alterações do Metabolismo Mineral e Ósseo .....	12
2.5.3. Acidose Metabólica .....	12
2.5.4. Proteinúria.....	13
2.5.5. Dislipidemia.....	14
2.5.6. Anemia.....	15
3. Anemia na Doença Renal Crónica.....	17
3.1. Tipos, mecanismos, importância .....	17

3.2. Anemia ferropénica .....	17
3.3. Monitorização da anemia ferropénica: ferro, ferritina; métodos e insuficiências (inflamação - PCR).....	18
3.3.1. Insuficiência de ferro e VGM .....	19
3.3.2. Transferrina.....	19
3.3.3. Ferritina.....	20
3.4. Tratamento da Anemia ferropénica .....	22
3.4.1. Agentes estimuladores da eritropoiese .....	23
3.4.2. Resistência à terapêutica com EPOhr .....	24
4. Os GV hipocrómicos .....	25
5. Os GV hipocrómicos, a ferritina e a anemia na DRC.....	27
6. Estudo .....	29
6.1. Objectivos.....	29
6.2. Material e métodos .....	30
6.2.1. Desenho do estudo .....	30
6.2.2. Metodologias e parâmetros analíticos.....	30
6.2.3. Análise estatística .....	31
6.3. Resultados.....	32
6.3.1. Análise descritiva.....	32
6.3.2. Análise de correlação entre a % de eritrócitos hipocrómicos e os valores de ferritina, saturação da transferrina e PCR.....	34
6.3.3. Distribuição dos eritrócitos hipocrómicos e da PCR em função da concentração da ferritina.....	38
6.3.4. Distribuição dos valores de PCR e saturação da transferrina nos doentes com ferritinas entre 200 e 500 ng/ml em função da percentagem de eritrócitos hipocrómicos.....	41
7. Discussão .....	44
8. Conclusões .....	46
9. Referências Bibliográficas .....	47

## **Lista de abreviaturas**

ADC – Anemia da Doença Crónica

AEE – Agentes Estimuladores da Eritropoiese

ANOVA – Análise de variância

AVC – Acidente Vascular Cerebral

CFU-E – Fator de Crescimento nas Células Progenitoras Eritroides

CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

DCV – Doença Cardiovascular

DGS – Direção Geral de Saúde

DMO – Distúrbios do Metabolismo mineral e Ósseo

DMS - Diferença Mínima Significativa

DP – Diálise Peritoneal

DRA - Doença Renal Aguda

DRC - Doença Renal Crónica

DRFT – Doença Renal Fase Terminal

EPO – Eritropoietina

EPOhr – Eritropoietina Recombinante Humana

EUA – Estados Unidos da América

EV – Endovenoso

FAV – Fistula Arteriovenosa

FS – Ferritina Sérica

GV – HIPO – Glóbulos Vermelhos Hipocrómicos

Hb – Hemoglobina

HD - Hemodiálise

HDF – Hemodiafiltração online

HTA – Hipertensão arterial

IC – Intervalo de confiança

IL – Interleucina

IRE – Índice de Resistência à Eritropoietina

KDIGO - *Kidney Disease Improving Global Outcomes*

ND – Nefropatia diabética

NFK-KDOQI - *National Kidney Foundation-Kidney Disease Outcomes Quality Initiative*

NKF - *National Kidney Foundation*

OCDE - Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – Proteína C Reativa

pmp – Por Milhão de Pessoas

PSE – Produtos e serviços de estatística

PTH - Hormona da paratiroide

RA/C – Razão albumina/creatinina

RNEHR - Rede Nacional de Especialidade Hospitalar e de Referência – Nefrologia

RP/C – Razão proteína/creatinina

SPN – Sociedade Portuguesa de Nefrologia

SPSS – Statistical Package for the Social Science

ST – Saturação da Transferrina

TFG - Taxa de Filtração Glomerular

TNF- $\alpha$  – Factor Tumoral de Necrose Alfa

TR – Transplante Renal

VGM – Volume Globular Médio

VIH - Vírus da Imunodeficiência Humana

## Lista de unidades/símbolos

µg	Micrograma
µg/dl	Micrograma por decilitro
%	Porcentagem
g/dl	Gramas por decilitro
ml/min/1,73m <sup>2</sup>	Mililitro por minuto por 1,73 metros quadrados
l	Litro
pmp	Por milhão de pessoas
cm	Centímetros
g/dia	Gramas por dia
mm/Hg	Milímetro de mercúrio
mg/g	Miligramas por grama
mg/mmol	Miligramas por milimol
pg	Picograma
fl	Fentolitro
Da	Dalton
UI/Kg/Semana	Unidade Internacional por kilo por semana
mg/kg	Miligramas por kilo
g	Gramas
mg	Miligramas
ml	Mililitro
mm	Milímetro
ng/ml	Nanogramas por mililitro
nm	Nanómetro
rpm	Rotações por minuto
mg/g	Miligramas por grama
mg/mmol	Miligramas por milimole
ml/min	Mililitro por minuto

## **Índice de Gráficos**

Gráfico 1 - Prevalência da DRC estadio 5 (D e T) a nível mundial 2015 (Fonte: SPN Registo DRCS/Dr. F. Macário).....	5
Gráfico 2 - Doentes em HD em Portugal 2007-2015 (Fonte: SPN Registo DRCS/Dr. F. Macário).....	6
Gráfico 3 - Doentes em DP em Portugal 2007-2015 (Fonte: SPN Registo DRCS/Dr. F. Macário).....	6
Gráfico 4 - Taxa de Mortalidade Global na HD 2007-2015 (Fonte: SPN Registo DRCS/Dr. F. Macário).....	7

## **Índice de Figuras**

Figura 1 - Utente ligado a hemodialisador (Fonte: <a href="http://www.casosrenais.wordpress.com">www.casosrenais.wordpress.com</a> ) ...	9
Figura 2 - Fístula Arterio-Venosa (Fonte: <a href="http://www.vascular.pro">www.vascular.pro</a> ).....	9
Figura 3 - Circuito extra-corporal (Fonte: <a href="http://www.medicinanet.com.br">www.medicinanet.com.br</a> ).....	9
Figura 4 - Algoritmo clínico de diagnóstico da Anemia no Adulto (Fonte: norma nº 030/2013 DGS 2013).....	16
Figura 5 - Representação esquemática da ferritina no soro (70) .....	20
Figura 8 - Correlação entre a % de GV-HIPO e a PCR.....	37
Figura 9 - Correlação entre a % de GV-HIPO e a ferritina .....	37
Figura 10 - Correlação entre a % de GV-HIPO e a ST.....	37

## Índice de Tabelas

Tabela 1 - Estádios da doença renal crónica (Adaptado de KDIGO 2012).....	4
Tabela 2 - Prognóstico da DRC por TFG e Classificação da Albuminúria (Fonte: KDIGO 2012).....	14
Tabela 3 - Caracterização dos métodos analíticos e parâmetros bioquímicos e hematológicos utilizados no estudo (102) .....	31
Tabela 4 - Doentes participantes no estudo: número total, distribuição por sexo e idade .....	32
Tabela 5 - Caracterização dos parâmetros analíticos utilizados como variáveis de estudo .....	33
Tabela 6 - Avaliação da normalidade da distribuição da % de eritrócitos hipocrómicos	34
Tabela 7 - Avaliação da normalidade da distribuição da PCR .....	35
Tabela 8 - Avaliação da normalidade da distribuição da ferritina .....	35
Tabela 9 - Avaliação da normalidade da distribuição da saturação da transferrina.....	35
Tabela 10 - Avaliação da correlação entre a % de eritrócitos hipocrómicos e as variáveis PCR, ferritina e saturação da transferrina .....	36
Tabela 11 - Valores médios dos eritrócitos hipocrómicos e da PCR em função da concentração da ferritina.....	38
Tabela 12 - Significância da diferença das distribuições de GV-hipo e PCR entre os quatro grupos de ferritina (global). .....	39
Tabela 13 – Significado da dif. das distribuições de GV-hipo e PCR entre os 4 grupos de ferritina.....	40
Tabela 14 - Estatísticas de Grupo das distribuições da PCR nos doentes com ferritinas entre 200 e 500 ng/ml entre o grupo com % de eritrócitos hipocrómicos inferior a 2,5% e o grupo com % de eritrócitos hipocrómicos superior a 2,5% .....	41
Tabela 15 - Distribuição dos valores de PCR nos doentes com ferritinas entre 200 e 500 ng/ml em função da percentagem de eritrócitos hipocrómicos .....	42
Tabela 16 - Estatísticas de Grupo das distribuições da ST nos doentes com ferritinas entre 200 e 500 ng/ml entre o grupo com % de eritrócitos hipocrómicos inferior a 2,5% e o grupo com % de eritrócitos hipocrómicos superior a 2,5% .....	42

Tabela 17 - Distribuição dos valores de saturação da transferrina nos doentes com ferritinas entre 200 e 500 ng/ml em função da percentagem de eritrócitos hipocrómicos ..... 43

## 1. Introdução

O aumento da esperança média de vida, provida pela evolução tecnológica na saúde e melhoria das condições de vida, contribuiu também para que as doenças crónicas sejam cada vez mais incidentes e prevalentes. Sendo a Doença Renal Crónica (DRC) uma dessas doenças, é considerada presentemente uma questão de saúde pública. Sabe-se que a DRC é um espectro contínuo que se inicia com a lesão renal e culmina com a necessidade de terapia de substituição. Existem actualmente várias alternativas de tratamento dialítico disponíveis, sendo a hemodiálise, o mais usado.

São conhecidas como as principais complicações da DRC a desnutrição, a acidose metabólica, a alteração do metabolismo mineral e a anemia. Esta apresenta como principais causas a deficiência de eritropoietina (devido à própria disfunção renal) e a deficiência de ferro (por redução da ingestão e da absorção intestinal, perdas sanguíneas e inflamação crónica). Sendo um factor que contribui para a progressão da DRC a sua monitorização e correção são objectivos importantes, uma vez que baixos valores de ferro podem ser responsáveis por uma fraca resposta aos agentes estimuladores da eritropoiese.

Tradicionalmente, a monitorização é feita com a ferritina, que apresenta uma boa correlação com as reservas de ferro na população geral, mas, nos doentes com DRC, sobretudo nos hemodialisados, os valores de ferritina têm pouca sensibilidade para a deficiência de ferro, mesmo para valores mínimos ( $100 \mu\text{g/l}$ ) substancialmente mais altos do que os usados para a população geral ( $15 \mu\text{g/l}$ ), dado estes doentes terem frequentemente processos inflamatórios associados. Assim sendo, o doseamento dos eritrócitos hipocrómicos determinado pela concentração média de hemoglobina corpuscular (CHCM), pode representar uma mais-valia, uma vez que se correlaciona directamente com a quantidade de ferro presente na medula óssea.

## 2. A Doença Renal Crónica

A doença renal pode ser aguda ou crónica. A doença renal aguda (DRA) consiste na perda rápida da função renal que pode ser recuperada no espaço de poucas semanas. As causas devem-se sobretudo à desidratação, intoxicações, traumatismos, medicamentos e algumas doenças. A DRC consiste na perda lenta, progressiva e irreversível das funções renais, caracterizada pela diminuição progressiva do número de nefrónios (unidades funcionais do rim) funcionais, comprometendo a homeostasia do organismo (1), sendo na maior parte dos casos necessários transplantes ou diálises para a manutenção da vida (2). A DRC é uma das doenças crónicas da sociedade moderna com elevada taxa de mortalidade (3;4).

Não depende da idade nem do sexo, embora a sua incidência seja maior nos adultos e nos idosos, ou seja, é uma patologia predominantemente geriátrica e muito influenciada por modos de vida pouco saudáveis (dietas não equilibradas, falta de atividade física e outras). Na origem da DRC podem estar várias patologias que afectam directamente os rins, incluindo glomerulopatias, hipertensão arterial (HTA), doença cardiovascular (DCV), uropatia obstrutiva, infecção e nefropatia diabética (ND) (5;6). A instalação da doença é geralmente silenciosa, uma vez que os sintomas só começam a aparecer quando o doente já perdeu cerca de 50% da função renal (7). Para se diminuir a incidência e a alta mortalidade associada a esta condição, é necessário aumentar o controle de factores de risco da DRC, que dependem principalmente da educação da população (prevenção primária) (8).

Só em 2002 se chegou a algum consenso na definição da DRC. Nesse ano a National Kidney Foundation (NKF) definiu DRC com base nos seguintes critérios: presença de lesão por um período igual ou superior a três meses; existência de anomalias funcionais ou estruturais do rim, com ou sem diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG) e manifestada por alterações patológicas ou marcadores de lesão renal, incluindo alterações sanguíneas, urinárias ou de imagem; ou TFG <60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> por um período igual ou superior a três meses, com ou sem presença de lesão renal.

Essa definição, internacionalmente adoptada, veio permitir maior rigor na obtenção de dados epidemiológicos (a última actualização foi efectuada e publicada em

Janeiro de 2013), sobretudo detectar a doença em fases mais iniciais e actuar mais eficazmente na prevenção do seu agravamento (9).

## 2.1 Fisiopatologia da DRC

Os rins são fundamentais na regulação do meio interno extra-celular, em que estão imersas todas as células do organismo. Cada rim é constituído por cerca de um milhão de unidades funcionais completas, capazes de filtrar e formar a urina independentemente, chamadas nefrónios (10). As suas funções, essenciais à vida, incluem a eliminação dos produtos finais do metabolismo (ureia, creatinina e ácido úrico), a regulação da concentração dos electrólitos (sódio, potássio, cloro, bicarbonatos e fósforo) e a reabsorção tubular para além de funções hormonais. Os principais mecanismos através dos quais os rins exercem as suas funções são a filtração glomerular, a reabsorção tubular e a secreção tubular. São filtrados diariamente no glomérulo 120 a 150 l de sangue, que dão origem a 1 a 2 l de urina (10).

As funções excretoras e reguladoras do rim são afectadas quando há lesão de um número suficiente de nefrónios. A lesão é auto-potenciadora, na medida em que, com a redução do número de nefrónios funcionantes, o fluxo de sangue que chega a cada nefrónio aumenta, e com ele a pressão hidrostática dentro do glomérulo (11). Com a hipertrofia glomerular daí resultante, o rim tenta compensar a perda de unidades funcionais de forma a manter a filtração glomerular constante. Alterações estruturais (celulares, moleculares e bioquímicas) são responsáveis pela perda progressiva da função renal (12).

Apesar destes mecanismos de adaptação e mesmo na ausência de agressão continuada, capaz de provocar a perda de mais nefrónios, a função renal destes doentes continua a deteriorar-se (11).

Os nefrónios sobreviventes passam a exercer as actividades dos nefrónios perdidos, ou seja, passam a filtrar mais, isto porque ocorre uma vasodilatação (decorrente da maior produção de prostaglandinas) e vasoconstricção (decorrente da acção da angiotensina II) da arteríola aferente. Para se manter a homeostase os nefrónios remanescentes exercem trabalho extra e isso torna-se prejudicial. Como os nefrónios

filtram mais ocorre aumento da pressão intraglomerular e as paredes glomerulares não resistem a essas pressões e vários fenômenos de natureza inflamatória passam a ocorrer. Para além desta pressão intraglomerular outros mecanismos contribuem para maior stress dos nefrônios remanescentes: hipertrofia glomerular, formação de trombos intraglomerulares, proliferação exagerada das células glomerulares e matriz mesangial, deposição glomerular de lipídios, estiramento das células endoteliais e mesangiais, lesão dos podócitos, deposição de proteínas, inflamação renal, entre outros (12). Com isso, mais nefrônios são destruídos e assim, ocorre maior sobrecarga hemodinâmica. Esse círculo vicioso agrava a perda do parênquima renal. Quando a função renal se encontra em torno de 30% pode ocorrer edema dos membros inferiores, hipertensão arterial, edema periorbitário, anemia, entre outros. Como a perda de função renal é irreversível e progressiva, inexoravelmente, mais nefrônios serão perdidos e mesmo a “dupla jornada de trabalho” dos nefrônios remanescentes não será suficiente para realizar uma adequada filtração. O doente desenvolverá a chamada síndrome urêmica. Os rins evoluirão para um estado de Doença Renal em Fase Terminal (DRFT) com níveis de TFG menores que 15% do normal. O estadió de DRFT é alcançado em um período variável de 3 a 20 anos em média, mas duas situações (a glomerulonefrite rapidamente progressiva e a necrose cortical aguda) podem levar a DRFT em curto período (9).

## 2.2. Estádios

De acordo com a NKF - Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF KDOQI), a DRC classifica-se em 5 estádios (tabela 1), em função do grau de lesão renal tal como definido pela TFG.

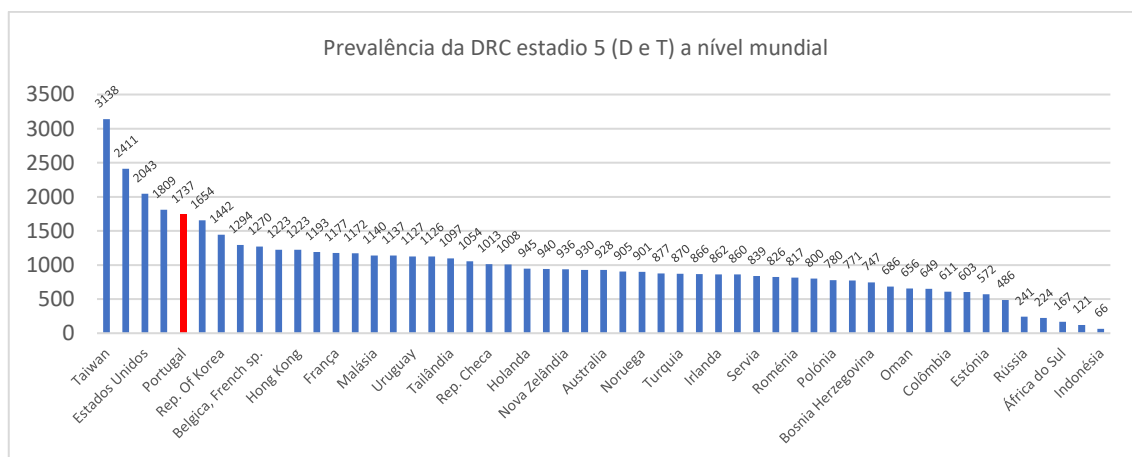
**Tabela 1** - Estádios da doença renal crónica (Adaptado de KDIGO 2012)

Estádios	Descrição	TFG (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )
1	Ligeira insuficiência renal com filtração normal ou ligeiramente aumentada	>90
2	Ligeira insuficiência da função renal com lesão renal leve	60-89
3	Diminuição moderada da função renal	30-59
4	Diminuição grave da função renal	15-29
5	Insuficiência renal com necessidade de terapêutica de substituição	<15

O estadio 1 corresponde genericamente a alterações mínimas e assintomáticas, sem alteração da TFG. Os estadios 2, 3 e 4 correspondem a insuficiência renal ligeira, moderada e grave, já com redução da TFG. O estadio 5, por fim, corresponde a situações de falência renal, em que o doente fica dependente de diálise ou transplante renal para sobreviver **(13)**.

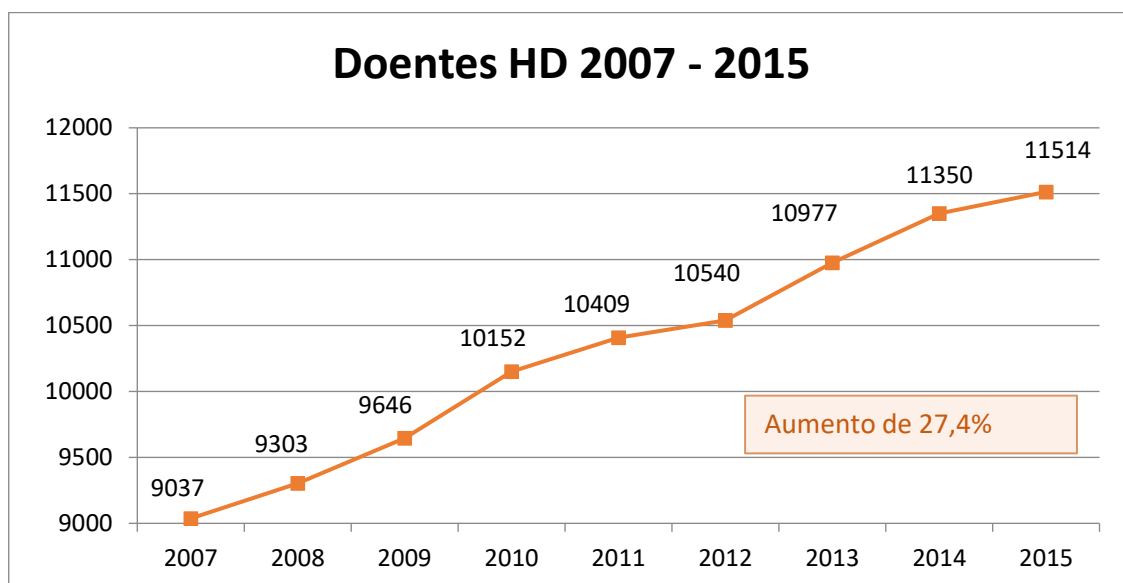
### 2.3. Epidemiologia

A DRC tem vindo a receber cada vez mais atenção da comunidade científica internacional. O número de doentes com DRC estadio 5 está a aumentar nos países desenvolvidos assim como os que se encontram em vias de desenvolvimento. Os estudos epidemiológicos sugerem a existência actual de aproximadamente um milhão de pessoas com esta doença submetidas a tratamento dialítico em todo o mundo. Nos EUA estima-se que cerca de 9,6% dos adultos não institucionalizados têm DRC **(14;15)**. No Japão estima-se que o custo directo e indirecto com esta patologia esteja perto dos 10 mil milhões de dólares/ano, correspondendo a cerca de 3,5% do total dos custos com saúde **(16;20)**. Portugal apresenta uma tendência de crescimento anual da DRC no estadio 5 (em diálise ou transplantação) superior à média dos países da OCDE, com taxas de incidência e prevalência entre as mais elevadas da Europa e no Mundo (gráfico 1) **(21)**.

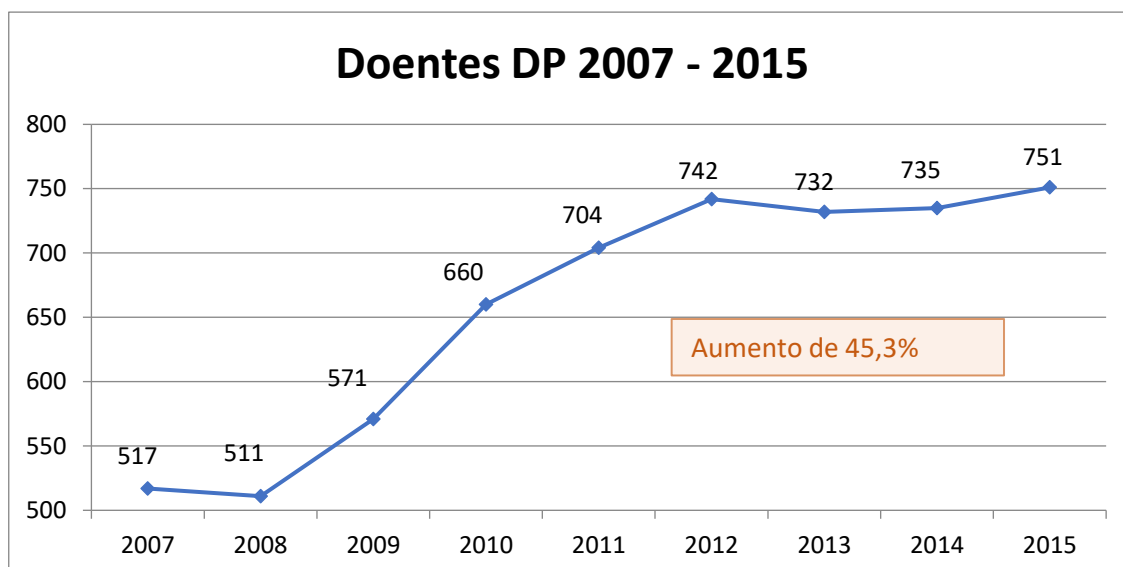


**Gráfico 1** - Prevalência da DRC estadio 5 (D e T) a nível mundial 2015 (Fonte: SPN Registo DRCS/Dr. F. Macário)

Segundo os dados obtidos pela “RNEHR - Nefrologia” (Rede Nacional de Especialidade Hospitalar e de Referência - Nefrologia), em 2015 a incidência da DRC estadio 5 em Portugal situava-se nos 226,7 casos por milhão de pessoas (pmp - por milhão de pessoas) e a prevalência nos 1824,4 pmp. Nesse ano, encontravam-se a realizar hemodiálise (HD) um total de 11514 doentes e realizavam diálise peritoneal (DP) 751 doentes (gráfico 2 e 3).



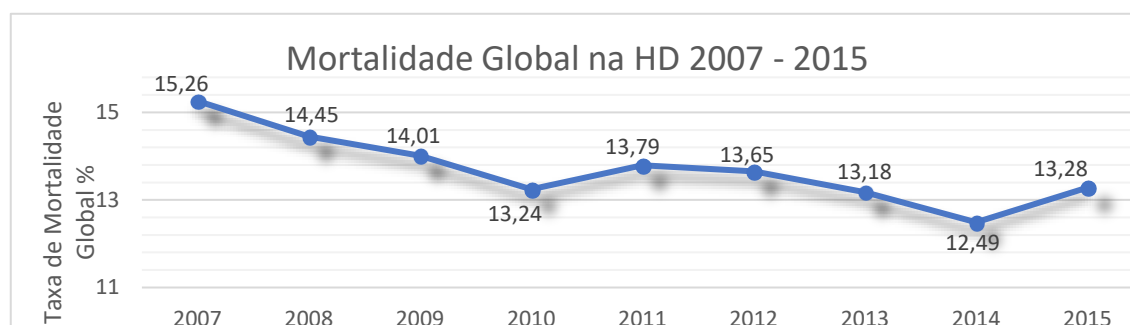
**Gráfico 2** - Doentes em HD em Portugal 2007-2015 (Fonte: SPN Registo DRCS/Dr. F. Macário)



**Gráfico 3** - Doentes em DP em Portugal 2007-2015 (Fonte: SPN Registo DRCS/Dr. F. Macário)

Vários factores podem justificar os valores elevados da prevalência da DRC estadio 5 sob terapêutica substitutiva da função renal em Portugal: melhoria na prestação de cuidados de saúde em geral após o estabelecimento do Serviço Nacional de Saúde em 1979; mais recursos disponíveis para prestar atendimento a todos os pacientes com insuficiência renal e bons resultados de sobrevivência; aumento da esperança de vida e da acessibilidade à diálise; elevada taxa de transplantação renal incluindo doentes mais idosos, como resultado dos avanços tecnológicos e aumento da sobrevida nestes grupos etários; a prevalência elevada de diabetes (3ª a nível europeu) e de hipertensão (causas de progressão para DRC estadio 5) e, finalmente, o aumento da sobrevida de pacientes com doenças cardiovasculares e neoplásicas, que frequentemente desenvolvem DRC grave (13).

Apesar do aumento da incidência da DRC estadio 5, o avanço tecnológico em conjunto com a maior facilidade de acesso e o aparecimento de novas formas de tratamento, permitiu diminuir a mortalidade global na HD e na generalidade dos doentes com DRC (gráfico 4).



**Gráfico 4** - Taxa de Mortalidade Global na HD 2007-2015 (Fonte: SPN Registo DRCS/Dr. F. Macário)

## 2.4. Tratamento da DRC

A evolução do tratamento da DRC assenta em três pontos: 1) diagnóstico precoce da doença, 2) encaminhamento para tratamento nefrológico e 3) implementação de medidas para preservar a função renal. Nas últimas décadas, assistiu-se a uma grande evolução no tratamento da DRC com inovações progressivas tanto ao nível das técnicas de diálise como ao nível do transplante renal (TR). Os doentes em fase 5, com necessidade

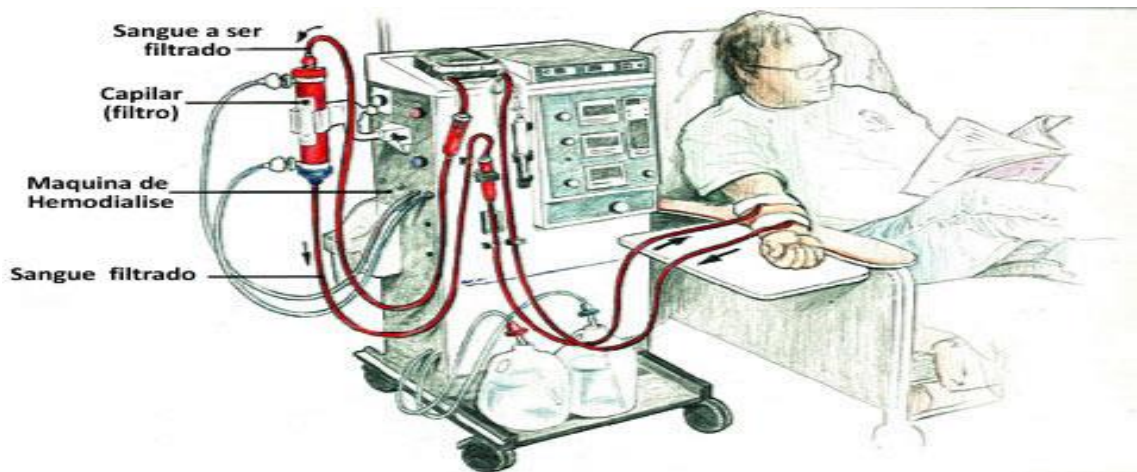
de terapêutica de substituição, têm actualmente várias alternativas de tratamento dialítico disponíveis: hemodiálise, diálise peritoneal e hemodiafiltração online (HDF), além da transplantação renal **(1)**.

#### **2.4.1. Hemodiálise**

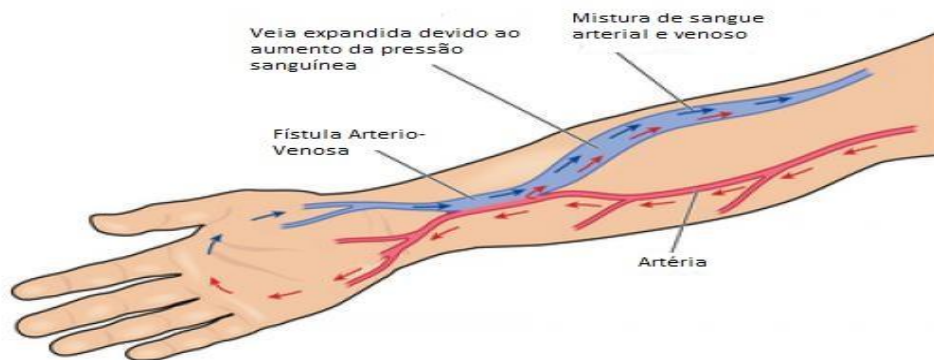
Dos diferentes métodos dialíticos, a hemodiálise (figura 1) é o mais dispendioso e limitante, mas é também o mais utilizado. É um procedimento complexo, em que a adequação de materiais e equipamentos e toda a preparação e competência técnico-científica dos profissionais envolvidos são decisivos para limitar riscos e garantir os melhores resultados para a vida e o bem-estar do doente **(22)**. Exige um acesso vascular (fístula arterio-venosa - FAV) (figura 2) através do qual o sangue é transportado, através de um circuito extra-corporal (figura 3), voltando depois pelo acesso vascular para o organismo. A membrana semipermeável funciona como um rim artificial **(1)**.

O doente realiza habitualmente hemodiálise três vezes por semana, tendo cada sessão a duração média de 3 horas. Estas sessões podem ser realizadas em hospitais, em estabelecimentos privados ou na própria residência do doente (diálise domiciliária). O tratamento é prescrito pelo médico nefrologista e administrado por profissionais de saúde especializados e treinados. Os benefícios provenientes de uma sessão de hemodiálise são quase imediatos observando-se logo uma diminuição significativa do edema e uma melhoria generalizada do bem-estar físico **(1)**.

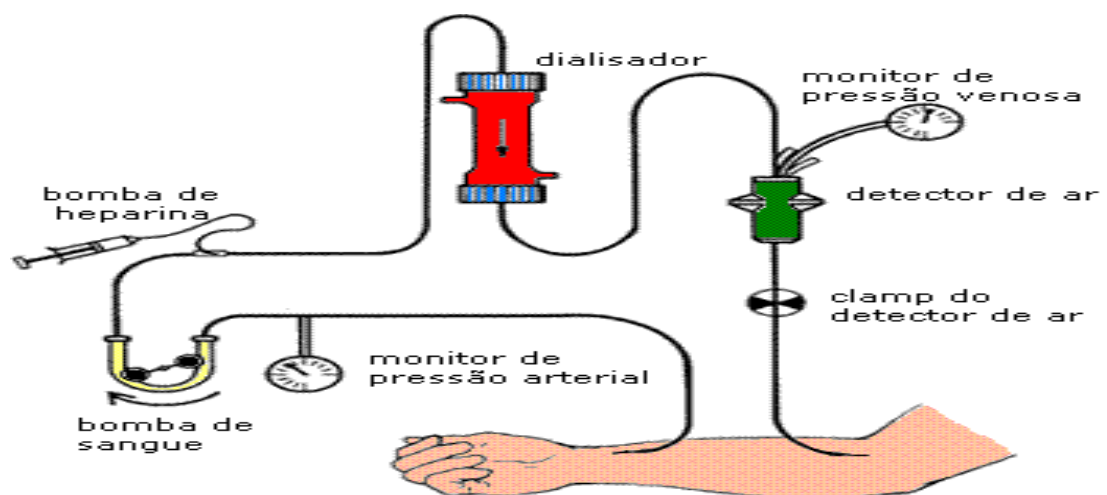
Embora essencial para a sobrevivência e a qualidade de vida do doente, a hemodiálise apresenta complicações mais ou menos graves: hemólise, hipotensão, risco infeccioso (sobretudo infecções virais hematogénicas como a Hepatite B e C e o VIH), náuseas e vômitos **(23)**. Por outro lado, proporciona uma alteração mais rápida na composição dos solutos do plasma e na remoção do excesso de água corporal, comparativamente com a diálise peritoneal ou processos contínuos lentos **(24)**.



**Figura 1** - Utente ligado a hemodialisador (Fonte: [www.casosrenais.wordpress.com](http://www.casosrenais.wordpress.com))



**Figura 2** - Fístula Arterio-Venosa (Fonte: [www.vascular.pro](http://www.vascular.pro))



**Figura 3** - Circuito extra-corporal (Fonte: [www.medicinanet.com.br](http://www.medicinanet.com.br))

#### ***2.4.1.1. Pequena Síntese Histórica da Hemodiálise***

- 1830: Thomas Graham, físico Inglês, verificou que separando dois líquidos com substâncias dissolvidas numa membrana celulósica estabeleciam trocas entre elas. A esta experiência atribuiu o nome de “Diálise” (25).
- 1913: na América, John Jacob Abel idealizou e utilizou em cães sem rins o primeiro dialisador “rim artificial” (25).
- 1917: o alemão Georg Haas mudou o protótipo do “rim artificial”, aumentando mais a área das membranas, conseguindo assim, esterilizar todos os componentes do circuito extra-corporal com etanol. Apesar de em 1926 utilizar a diálise pela primeira vez em seres humanos, sem sucesso, em 1927 consegue a primeira sessão de hemodiálise heparinizada com sucesso (25).
- 1936: o celofane contribuiu para melhoria da diálise (25).
- 1943: William Kolff, utiliza pela primeira vez o seu dialisador num paciente com DRA, mas após um mês em tratamento o paciente acaba por falecer. O dialisador apesar de somar pontos na remoção das toxinas não resolvia o problema do excesso de líquido (25).
- 1945: sobrevive a primeira paciente com DRA, através de 11 sessões de hemodialise (25).
- 1966: Címino e Brescia criaram cirurgicamente a FAV interna, que consiste numa pequena comunicação, inferior a 0,5 cm, directa, entre uma veia e uma artéria. (25).
- 1965 estavam apenas identificados 150 indivíduos, com esta doença na Europa, hoje cerca de 2 milhões de pacientes em todo o mundo encontram-se em processos de hemodiálise (1).

#### **2.4.2. Diálise Peritoneal**

A diálise peritoneal mimetiza a fisiologia, usando o peritoneu como filtro para o sangue, removendo o excesso de água e as toxinas do organismo. É por vezes designada "auto-diálise", porque não requer equipamento tecnicamente complexo e pode ser controlada pelo próprio doente ou por um familiar. A solução dialisante é introduzida na cavidade peritoneal através de um catéter colocado na parte inferior do abdómen. A

cavidade peritoneal (que é fisiologicamente um espaço virtual) pode conter mais de 3 l de líquido, mas na prática é mais usual utilizar até 1,5-2 l de solução dialisante (1).

### **2.4.3. Transplante**

Uma vez atingido o estadio 5 da DRC, deparam-se ao doente duas opções: submeter-se a um transplante renal ou manter-se em diálise para o resto da sua vida. A ideia da transplantação é algo que agrada à maioria dos doentes, pois oferece mais qualidade de vida, com maior liberdade de movimentos e uma dieta menos restritiva. O transplante de órgãos constituiu um dos mais expressivos progressos da medicina nos últimos 50 anos (26). Segundo a Sociedade de Nefrologia (SPN), em 2015 realizaram-se 485 transplantes renais nos hospitais portugueses (21).

## **2.5. Complicações da doença renal crónica**

Além das funções de filtragem e depuração do meio interno, os rins têm importantes funções endócrinas ao nível do controlo da pressão arterial, do metabolismo ósseo e da produção de glóbulos vermelhos. A perda de função renal induz uma série de complicações: hipertensão arterial, alterações do metabolismo mineral, acidose metabólica, proteinúria, dislipidémia e anemia.

### **2.5.1. Hipertensão Arterial**

Presente em mais de 75% dos doentes com doença renal crónica em qualquer estadio (27), a hipertensão arterial apresenta-se como o principal factor de progressão e agravamento da DRC de tal forma que na fase terminal ou dialítica, quase todas as pessoas com DRC são hipertensas (28). É cada vez mais claro que o controle rigoroso da pressão arterial é da maior relevância para minimizar a progressão da DRC, além de diminuir o risco da doença cardiovascular frequentemente associada (2). O principal mecanismo da hipertensão arterial na DRC está relacionado com a perda progressiva da capacidade renal em excretar sódio. Outros mecanismos podem estar também envolvidos, tais como: actividade aumentada do sistema renina-angiotensina-aldosterona; aumento dos níveis

séricos de epinefrina e norepinefrina; aumento da resposta vascular à norepinefrina; hiperparatireoidismo; aumento do débito cardíaco; redução da síntese de óxido nítrico e o aumento da resistência periférica **(1;11)**.

De acordo com a Direcção Geral de Saúde em doentes com insuficiência renal e proteinúria > 1 g/dia o objectivo será a redução da tensão arterial para valores < 125/75 mm/Hg **(13)**.

A terapêutica anti-hipertensora e as mudanças no estilo de vida, devem ser precocemente incentivadas, não só como primeira abordagem em diagnósticos recentes, mas também como terapêutica adjuvante em doentes com HTA e DRC **(29)**.

Os diuréticos constituem um ponto fulcral no tratamento da HTA na DRC, como agentes anti-hipertensores, diminuem a pressão arterial e, assim contribuem para a diminuição da morbilidade e mortalidade cardiovasculares **(30)**.

### **2.5.2. Alterações do Metabolismo Mineral e Ósseo**

Os distúrbios do metabolismo mineral e ósseo (DMO) que ocorrem na doença renal crônica são frequentes e caracterizam-se pela presença de alterações dos níveis séricos de cálcio, fósforo, vitamina D e hormona da paratiróide (PTH), de anormalidades ósseas (remodelação, mineralização e volume ósseo) ou da presença de calcificações extraesqueléticas **(31)**.

As anormalidades do metabolismo mineral e ósseo da DRC podem contribuir para o desenvolvimento de doença cardiovascular, calcificação vascular e mortalidade **(32,33)**.

### **2.5.3. Acidose Metabólica**

O rim é a principal via de eliminação de ácidos não-voláteis. O papel dos rins na manutenção do equilíbrio ácido-base é promover a excreção de radicais ácidos e a conservação de bases, o que é feito através da secreção tubular de hidrogénio e amónia e da reabsorção tubular de bicarbonato. Para manter o balanço ácido-base do organismo, o rim deve funcionar com uma taxa de excreção de valências ácidas igual à taxa da sua produção extra-renal **(34)**.

Com a diminuição da filtração glomerular, a excreção de valências ácidas é limitada, o que conduz a acidose metabólica compensada ou descompensada. Na evolução da insuficiência renal crónica, a concentração plasmática de bicarbonato permanece normal até que haja uma redução da TFG em mais de 50% (35).

#### **2.5.4. Proteinúria**

Proteinúria indica a presença de qualquer tipo de proteína na urina em frações superiores às da eliminação proteica normal. As proteínas envolvidas na proteinúria, podem ser filtradas através do plasma, como a albumina, imunoglobulinas, proteínas de cadeias leves, ou secretadas pelos túbulos renais e trato urinário (9).

A distinção entre albuminúria e proteinúria é relevante na avaliação da proteinúria, contudo, em termos gerais e de prognóstico em relação à doença renal crónica, a albuminúria pode ser referida apenas como proteinúria (9;37). A proteinúria além de ser um marcador da doença renal crónica estabelecida, é um significativo indicador de risco para sua progressão com resultante decréscimo da taxa de filtração glomerular e pode resultar basicamente de 3 mecanismos fisiopatológicos: alteração da barreira de filtração glomerular; excesso de proteínas no sangue e a alterações na reabsorção tubular de albumina. Deste modo, pode considerar-se que a proteinúria e a doença renal crónica partilham uma relação bidirecional, em que a proteinúria resulta tanto de doença renal como pode induzir progressão da lesão renal (36;38).

Transformações nos constituintes da barreira glomerular podem provocar proteinúria glomerular, ocorrendo assim uma maior passagem de albumina e proteínas de alto peso molecular através da barreira de filtração glomerular. Pode também ocorrer proteinúria por decréscimo da reabsorção tubular, em especial de proteínas de baixo peso molecular, devido a abundância de proteínas no túbulo, com saturação dos mecanismos de reabsorção ou por lesão tóxica (39). Deste modo, a proteinúria pode resultar tanto de disfunção da barreira glomerular como de alterações na reabsorção tubular. A avaliação quantitativa de proteinúria, pode ser efectuada em amostra de urina de 24 horas, sendo o ideal na avaliação de albuminúria, pode ser ainda avaliada através da colheita de urina pontual, onde se avalia a razão proteína/creatinina (RP/C) e a razão

albumina/creatinina (RA/C) e por último pode também ser medida através de *tira reagente* e métodos de precipitação e eletroforese, sendo o primeiro método o mais usado (40).

As *guidelines* internacionais sugerem que se avalie a proteinúria na DRC inicialmente a partir de RA/C e RP/C (36;37).

**Tabela 2** - Prognóstico da DRC por TFG e Classificação da Albuminúria (Fonte: KDIGO 2012)

				Classificação da albuminúria persistente			
				Descrição e variação			
				A1	A2	A3	
				Normal a levemente elevado <30mg/g <3mg/mmol	Moderadamente elevado 30-300mg/g 3-30mg/mmol	Severamente elevado >300mg/g >30mg/mmol	
Classificação de TFG (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	Descrição e variação	G1	Normal ou elevado	≥90			
		G2	Levemente reduzido	60-90			
		G3a	Leve a moderadamente reduzido	45-59			
		G3b	Moderado a severamente reduzido	30-44			
		G4	Severamente reduzido	15-29			
		G5	Falência Renal	<15			

Uma vez detectada a proteinúria, o acompanhamento dos níveis deste marcador com vista a sua redução, ou mesmo à negatificação, passam a ser as grandes metas do tratamento (41).

### 2.5.5. Dislipidemia

As alterações do metabolismo dos lípidos ocorrem em todos os estadios da DRC (2). Os triglicerídeos aumentam entre 30% a 50%, ocorre diminuição do HDL-colesterol, aumento da lipoproteína A e de lipoproteína de baixa densidade (42;45). Este perfil lipídico apresenta comprovado potencial aterogénico e é provável que desempenhe um papel importante na alta prevalência de doença cardiovascular associada à urémia (46).

O mecanismo da dislipidemia na DRC, também chamada de dislipidemia urémica, não é totalmente conhecido, mas acredita-se que a resistência à insulina, aumento do

stress oxidativo e alterações na estrutura e na função das apolipoproteínas sejam os factores mais importantes (47;48).

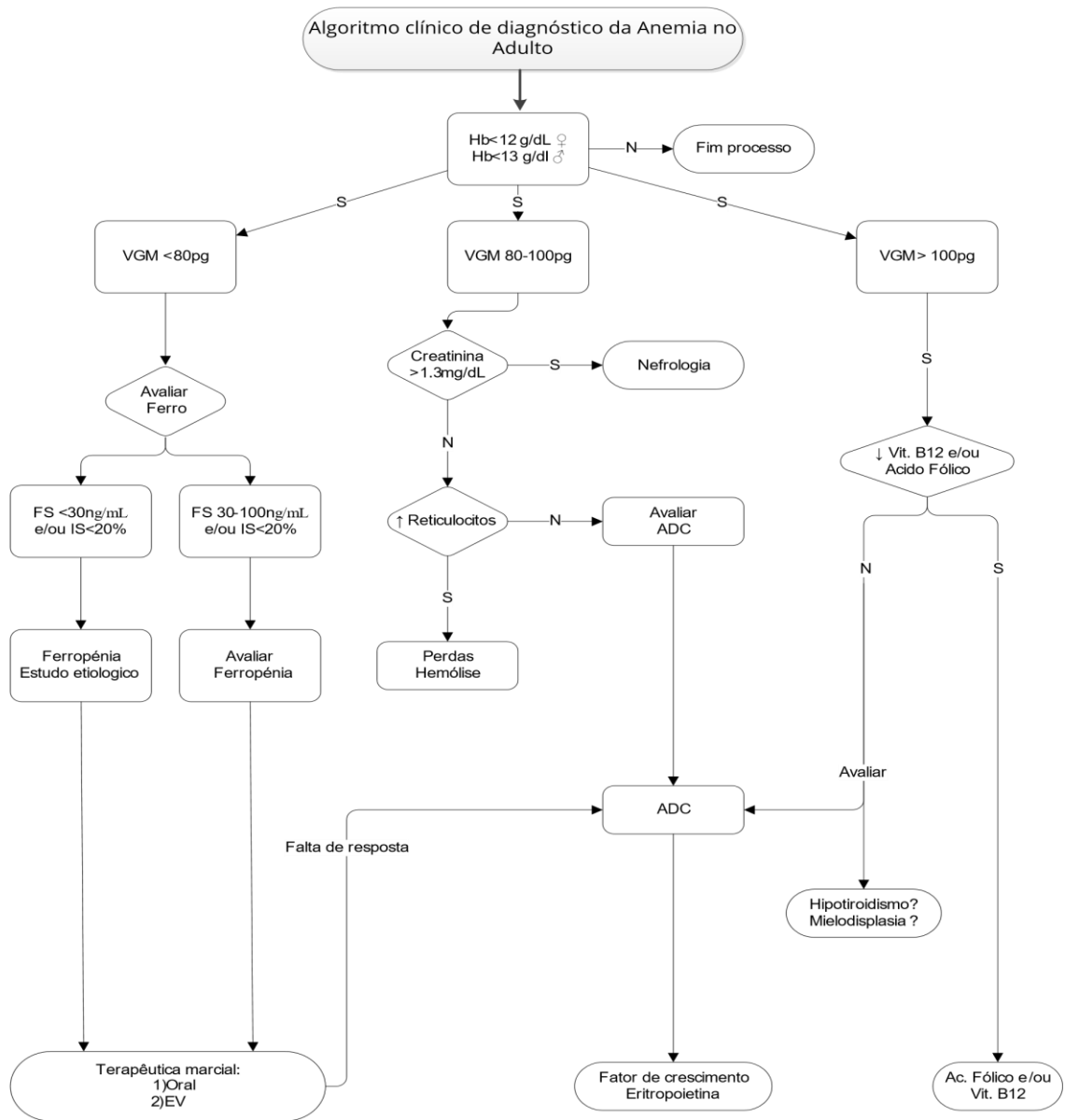
### 2.5.6. Anemia

A anemia manifesta-se geralmente por palidez, fadiga, tonturas ou dores de cabeça, aumento da frequência cardíaca e falta de ar (49). Caracteriza-se por uma redução da concentração de hemoglobina, com conseqüente diminuição do aporte de oxigénio aos tecidos orgânicos. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), o diagnóstico de anemia deve ser feito para Hemoglobina (Hb) < 13 g/dl em homens adultos ou mulheres pós-menopausa ou Hb <12 g/dl em mulheres pré-menopausa. A diminuição do número de eritrócitos não serve, por si só, para definir a anemia, embora esteja presente em quase todas as anemias (50).

As anemias são classificadas de acordo com critérios morfológicos e fisiopatológicos. De acordo com a morfologia dos eritrócitos presentes em circulação são classificadas em: macrocíticas (caracterizadas por eritrócitos com grande volume e geralmente hiperocrómicas); microcíticas (caracterizadas por eritrócitos de pequeno volume e hipocrómicas) e normocíticas que são geralmente normocrómicas (51). De acordo com a Direcção Geral de Saúde (DGS), o diagnóstico de anemia no adulto deve seguir o algoritmo representado na figura 4 (52).

Na maioria dos países africanos, asiáticos e sul-americanos, a prevalência de anemia é superior a 20%. Nos países do primeiro mundo, a prevalência é inferior a 20% (50).

Em Portugal a prevalência estimada na população adulta é cerca de 19,9% (53). Na DRC, a anemia está presente em cerca de 90% dos doentes com TFG inferior a 25-30 ml/min. É multifactorial e geralmente normocítica e normocrómica. Os doentes apresentam maior tendência para acidentes cardiovasculares aumento da mortalidade geral (56;62).



**Figura 4 -** Algoritmo clínico de diagnóstico da Anemia no Adulto (Fonte: norma nº 030/2013 DGS 2013)

### **3. Anemia na Doença Renal Crónica**

#### **3.1. Tipos, mecanismos, importância**

A anemia pode surgir no início do quadro de DRC, agravando-se à medida que os rins perdem a sua capacidade de produção de eritropoietina (EPO). A EPO é produzida por fibroblastos intersticiais no rim e controla a eritropoiese. Na doença renal crónica, os rins não conseguem produzir EPO em quantidade suficiente, com a consequente redução na produção de glóbulos vermelhos (57). Além disso, a insuficiência de eritropoietina associa-se a redução do tempo de vida das hemácias, nomeadamente pela dificuldade de sobrevivência num meio urémico, a deficiência de ferro e a deficiência de ácido fólico e vitamina B12. Outros factores, como as restrições alimentares a que são submetidos estes doentes, a perda de apetite e as perdas hemáticas que ocorrem durante o processo de hemodiálise, contribuem também para a anemia (58;60).

#### **3.2. Anemia ferropénica**

A anemia ferropénica é a causa mais comum de anemia no mundo, segundo a OMS está presente em 30% da população do planeta. É relevante compreender os mecanismos básicos do metabolismo do ferro como fundamentais para a prevenção, diagnóstico e tratamento da anemia.

O ferro é um nutriente essencial necessário a todas as células humanas. A maioria do ferro do corpo está contido na hemoglobina, é absorvido pelos intestinos, transportado no sangue através de uma proteína a transferrina e armazenado como ferritina. Como os glóbulos vermelhos são destruídos ao final de sua vida média, o ferro é libertado e a reciclagem providencia a maioria das carências corporais. Somente uma pequena quantidade de ferro é absorvida pelo trato gastrointestinal (duodeno e jejuno). No entanto, quando as necessidades de ferro ficam aumentadas por qualquer razão, as reservas do corpo são rapidamente consumidas (50).

A anemia ferropénica resulta da carência de ferro. A deficiência absoluta ou funcional de ferro é frequente nos doentes renais crónicos, dadas as perdas hemáticas

significativas associadas, quer à própria diálise, quer às frequentes análises sanguíneas efectuadas. A instalação da anemia ferropénica pode ser súbita, na sequência de hemorragia ou carência maciça crescente ou, pelo contrário, progressiva e insidiosa, quando as perdas de ferro são pequenas (51).

Inicialmente, as reservas de ferro, ferritina e hemossiderina diminuem, persistindo normais os níveis de hematócrito e de hemoglobina. De seguida, o nível sérico de ferro diminui e, concomitantemente, a capacidade de ligação do ferro à transferrina aumenta, resultando num decréscimo da percentagem de saturação do ferro na transferrina assim, na anemia ferropénica, os índices eritrocitários de concentração de hemoglobina (hemoglobina corpuscular média e concentração da hemoglobina corpuscular média) encontram-se reduzidos; o esfregaço sanguíneo mostra eritrócitos pequenos (microcíticos) e pálidos (hipocrómicos); os níveis circulantes de hemoglobina, de ferro e ferritina diminuem e há aumento da transferrina (61).

Nos doentes hemodialisados a anemia ferropénica é um achado comum estando presente em cerca de 90% dos doentes com TFG inferior a 25-30ml/min (55). Esta complicação é um problema grave, pois está relacionada com a deterioração da função cardíaca, diminuição da sensibilidade mental e cognitiva, sintomas como fadiga, letargia, anorexia e distúrbios do sono, progressão da doença renal e mesmo o aumento da mortalidade e da morbilidade em utentes com doença cardíaca e acidentes vasculares cerebrais (AVC's) (62;63).

### **3.3. Monitorização da anemia ferropénica: ferro, ferritina; métodos e insuficiências (inflamação - PCR)**

As causas da deficiência de ferro são a redução da ingestão, a diminuição da absorção intestinal do ferro, perdas persistentes de sangue, a inflamação crónica e o aumento das necessidades de ferro durante a terapêutica com agentes estimulantes da eritropoiese (AEE) (60). À medida que a função renal diminui, a incidência e prevalência de anemia aumenta, a deficiência funcional precede a deficiência absoluta e é definida pela entrega de menos ferro para o eritrócito em desenvolvimento que o necessário para a eritropoiese (64). A deficiência de ferro ocorre primariamente no armazenamento de

ferro e só depois no transporte e nos compartimentos eritrocitários, pelo que é importante começar por avaliar as reservas de ferro nestes doentes. No organismo humano existem diversas proteínas com a função de captar, transportar e armazenar o ferro, garantindo a sua biodisponibilidade. Duas delas são usadas por rotina para avaliar as reservas e o metabolismo do ferro: a transferrina e a ferritina (65).

### 3.3.1. Insuficiência de ferro e VGM

O VGM é o primeiro parâmetro do hemograma a ficar alterado no caso de deficiência de ferro. É um índice reprodutível que avalia a média do tamanho dos eritrócitos indicando a síntese reduzida de hemoglobina, quando as células estão com volume diminuído (microcitose). A anemia microcítica caracterizada pelo VGM < 80 fl é comumente associada à anemia ferropénica (66).

### 3.3.2. Transferrina

A transferrina é responsável pelo transporte do ferro do local de absorção intestinal ou dos locais de catabolismo da hemoglobina até aos precursores dos eritrócitos na medula óssea. Após a libertação do ferro, a transferrina retorna à circulação e é reciclada. A sua semi-vida é de 8 dias. Os níveis de transferrina do plasma aumentam na deficiência de ferro e diminuem na sobrecarga e desnutrição proteica-calórica, mas é também uma proteína de fase aguda, pelo que sofre interferência das respostas inflamatórias. A correlação clínica com a carência de ferro não é inteiramente satisfatória, visto que, em cerca de 30 a 40% dos doentes com anemia ferropénica, podem ser encontrados valores dentro dos limites da normalidade (67).

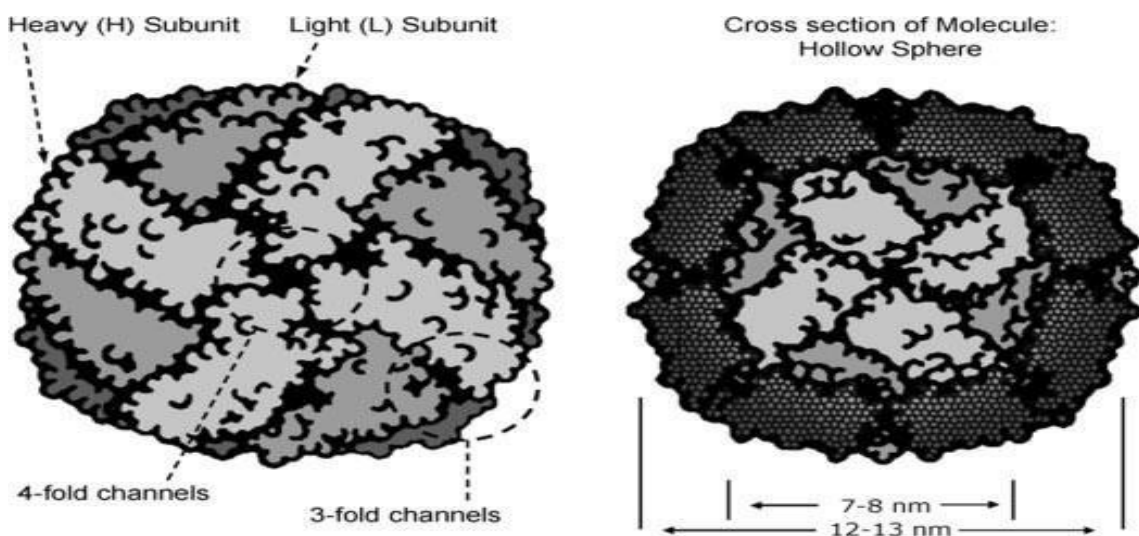
A saturação da transferrina (ST) é um parâmetro útil na avaliação de deficiência ou sobrecarga do ferro embora deva ser avaliado com precaução dada a variabilidade biológica do doseamento do ferro sérico, uma vez que a saturação da transferrina flutua amplamente como resultado da variação diária no ferro sérico e a transferrina é afectada pelo estado nutricional (68). A ST diminui na presença de inflamação aguda e crónica, reflectindo a deficiência funcional de ferro em doentes com DRC (60).

Nos doentes renais crónicos, as reservas adequadas de ferro são definidas por uma ferritina sérica superior a 100 ng/dl e uma saturação da transferrina superior a 20% nos doentes em diálise peritoneal e uma ferritina sérica superior a 200 ng/dl e uma saturação da transferrina superior a 20% nos doentes em hemodiálise (69).

No entanto, uma saturação da transferrina superior a 20% e um nível de ferritina superior a 100 ng/ml não excluem a deficiência de ferro, uma vez que a sensibilidade dos dois critérios para deteção da deficiência de ferro é relativamente baixa (68).

### 3.3.3. Ferritina

A ferritina é uma proteína produzida pelo fígado que armazena o ferro (Fe) dentro das células do organismo de forma segura e solúvel, permitindo uma libertação regulada e prevenindo o risco de oxidação. A molécula de ferritina é uma esfera oca com um diâmetro externo de 12 a 13 nm (Figura 5). O invólucro exterior é composto por 24 cadeias de polipéptidos pesados (H) e leves (L), as chamadas subunidades da ferritina, dobradas em fardos de quatro hélices. O centro da molécula, é o local de armazenamento de Fe conectado à superfície, cada molécula de ferritina pode conter até 4500 átomos de Fe, tem um peso molecular médio de 450000 Da, mas quando está totalmente carregada com Fe, a molécula tem um peso molecular de 800000 Da (70).



**Figura 5** - Representação esquemática da ferritina no soro (70)

O transporte e o processamento de Fe não são inteiramente compreendidos. O Fe normalmente existe em solução como íons ferrosos [FeII ou Fe<sup>2+</sup>] férricos [FeIII ou Fe<sup>3+</sup>] ou complexos. Pensa-se que o Fe precisa de ser reduzido ao Fe (II) para entrar na esfera de ferritina através dos três canais hidrofílicos onde é posteriormente oxidado a Fe (III) e assim permanece armazenado dentro da molécula de ferritina. Sempre que tenha necessidade de usar o ferro armazenado, o transporte só é realizado para fora da ferritina quando é reduzido para Fe II (71;72).

A ferritina sérica é um marcador útil e de fácil disponibilidade para avaliar as reservas de ferro no organismo, com valores de referência séricos entre 30-340 ng/ml (52). A maioria dos doentes em HD apresenta um valor de ferritina superior a 500 ng/ml, mas este nível tão alto não representa rigorosamente a quantidade de ferro que se encontra disponível para a eritropoiese (70). Um estudo mostrou que a sensibilidade da ferritina sérica para a deficiência de ferro era de 90% para um cut-off de 300 ng/ml e de 100% para um cut-off de 500 ng/ml (73). Outro estudo apresentou valores de sensibilidade de 92% para um cut-off de 300 ng/ml e de 98% para um cut-off de 600 ng/ml (74).

Considera-se deficiência absoluta quando os valores de ferritina são inferiores a 15 ng/ml com uma hemoglobina inferior a 12 g/dl (52).

A fraca sensibilidade da ferritina para a deficiência de ferro nos doentes hemodialisados é consequência de ser um marcador de fase aguda e estar, portanto, aumentada nos processos inflamatórios (60).

As razões para esta elevada frequência de processos inflamatórios nestes doentes não é bem compreendida. Existem várias causas possíveis, incluindo contaminação bacteriana do dialisador, incompatibilidade com a membrana do dialisador e infecção do acesso vascular (74). No entanto, há doentes renais crónicos que ainda não estão em diálise, mas já apresentam elevação dos marcadores de inflamação, e que aumentam ainda mais após início da hemodiálise, sugerindo que a própria doença, por si só, desencadeia uma resposta inflamatória (75;77). A DRC é uma das patologias que induzem a libertação de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 e TNF- $\alpha$ , que por sua vez, aumentam a síntese das subunidades H e L da ferritina e da PCR. É o modelo das proteínas de resposta de fase aguda, produzida pelo fígado sob estímulo e controle de citocinas pró-inflamatórias,

especialmente a IL-6. É um importante marcador de inflamações sistêmicas e locais, encontrando-se níveis elevados em diferentes fases da sua progressão (78;79).

Sejam quais forem as suas causas, esta condição inflamatória frequentemente associada à doença renal crónica também interfere na disponibilidade de ferro para a eritropoiese. A hepcidina, uma proteína produzida no fígado por estimulação dos mediadores inflamatórios, bloqueia a absorção intestinal do ferro e impede a mobilização dos depósitos existentes nos macrófagos. (80;83). A descoberta da hepcidina e do seu papel na disponibilização de ferro para os tecidos contribuiu para melhorar a compreensão da fisiopatologia da deficiência de ferro, principalmente na DRC. A principal acção desta proteína no equilíbrio do ferro é controlar as intercomunicações entre as regiões de captação, consumo e armazenamento do ferro plasmático (84). Na deficiência de ferro ocorre a redução da síntese de hepcidina, na presença de inflamação é induzido o seu aumento mediado pela IL-6. Concentrações elevadas de hepcidina têm sido descritas em associação com elevados níveis de PCR, hemoglobina, eritropoietina e ferritina (podendo esta última refletir a inibição da saída do ferro armazenado) (85).

### **3.4. Tratamento da Anemia ferropénica**

São objetivos do tratamento da anemia ferropénica, a correção do valor da hemoglobina e dos índices eritrocitários, bem como a reposição das reservas de ferro (86). As transfusões sanguíneas foram o tratamento de eleição do doente renal crónico com anemia, o seu sucesso era irrefutável no que respeita ao elevar o nível da Hb. Mas o seu uso indiscriminado e as consequências colaterais destas transfusões (infecções, sobrecarga de ferro e sensibilização imunológica), conduziram à pesquisa de outras terapêuticas. A grande revolução no tratamento deu-se em 1985 com a síntese laboratorial da eritropoietina recombinante humana e o início da era dos AEE (87).

É de salientar a importância de repor os níveis de ferro previamente ao início do tratamento. O ferro tem também um papel primordial, quer como terapêutica primária quer como adjuvante, pois permite não só uma diminuição da dose de AEE para atingir a

Hb alvo como também prevenir a deficiência de ferro induzida pela estimulação da eritropoiese (60).

De acordo com as linhas de orientação da KDIGO de 2012, o estudo analítico da cinética do ferro deve ser efectuado mensalmente no início da terapêutica com AEE e posteriormente de 3 em 3 meses. Para doentes com anemia e auferindo tratamento com AEE é recomendado prescrever ferro endovenoso, para aumentar a Hb ou para diminuição da EPO se se verificarem níveis de saturação  $\leq 30\%$  e ferritina  $\leq 500\text{ng/ml}$  (9).

### 3.4.1. Agentes estimuladores da eritropoiese

A eritropoietina é uma citocina essencial na regulação da eritropoiese, produzida no rim (90%) e no fígado (10%). É muito glicosilada e actua como factor de crescimento nas células progenitoras eritróides (CFU-E) promovendo a proliferação, a diferenciação e inibido a apoptose (88). A terapêutica com EPO humana recombinante (EPOhr) teve início nos anos 90 por Eschbach e seus colaboradores, o que permitiu uma marcante diminuição da prevalência de anemia nestes doentes suprimindo a necessidade de transfusões sanguíneas e os riscos a elas associados. Além disso, permitiu uma melhoria da função cardíaca, melhoria na qualidade de vida, no desempenho físico e cognitivo destes doentes bem como uma redução no número de hospitalizações. A suplementação de EPOhr para além de reduzir a necessidade de transfusões contribui para evitar a sobrecarga de ferro, diminuir a massa ventricular esquerda e aumentar os níveis de hemoglobina. O sucesso desta terapêutica foi demonstrado num estudo realizado por Jones e seus colaboradores (89).

Os AEE são a alfaepoietina, betapoetina, darbepoetina e os activadores contínuos do recetor da eritropoietina sendo a principal diferença entre eles a sua posologia. O principal agente de escolha é a alfaepoietina por ser o mais estudado e com mais uso clínico, podendo ser administrada por via endovenosa ou subcutânea. Pacientes com DRC quer em tratamento com hemodiálise quer em diálise peritoneal beneficiam do uso de alfaepoietina para correção da anemia (90).

### 3.4.2. Resistência à terapêutica com EPOhr

A NKF-DOQI define resistência à terapêutica com EPOhr sempre que se averigua uma das seguintes condições: diminuição significativa nos níveis de Hb com dose constante de AEE; aumento significativo da dose de AEE necessária para manter o nível de Hb; incapacidade para aumentar o nível de Hb para valores >11g/dl com dose equivalente de 500 UI/kg/semana. Recomenda que o valor adequado de Hb em doentes submetidos a tratamento com AEE seja de 11-12 g/dl, no entanto, este valor não é alcançado em muitos dos doentes, mesmo com doses elevadas de AEE (49). Do mesmo modo, as orientações europeias também definem resistência EPOhr quando um paciente não consegue atingir a concentração alvo de hemoglobina ao receber mais de 300 UI/kg/semana (20 000 UI / semana) de eritropoietina ou 1,5 mg/kg de darbepoetina-alfa (100 mg /Semana) (91).

De acordo com a literatura sabe-se que na DRC a eritropoiese está diminuída, limitada por uma resposta medular imprópria devido á baixa secreção de EPO, à diminuição da resposta da medula óssea à EPO e à diminuição da eritropoiese resultante da menor disponibilidade de ferro. O melhor marcador do grau de resistência aos AEE de acordo com alguns autores é o "índice de resistência à eritropoietina" (IRE), ou seja, um valor de  $IRE > 0,02 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  indica resistência à AEE (92).

A principal causa da resistência à EPOhr é a deficiência de ferro, embora se tenha verificado que nalguns casos a anemia persiste mesmo após uma suplementação suficiente de ferro (92).

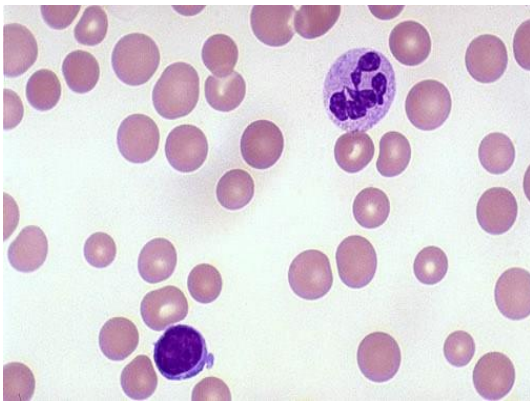
#### 4. Os GV hipocrómicos

As células presentes em maior número no sangue humano são os glóbulos vermelhos, também chamados hemácias ou eritrócitos. Ao contrário de outros animais, nos mamíferos, são células anucleadas, (ou seja, que não possuem núcleo) sendo, portanto, desprovidas de ácido desoxirribonucleico (ADN) (93). A quantidade de hemácias presente no sangue de um indivíduo normal é na ordem de 3 a 4 milhões por decilitro de sangue (figura 6). No seu interior, há grande quantidade de um pigmento vermelho denominado de hemoglobina. A hemoglobina é uma molécula constituída por quatro cadeias de aminoácidos e cada uma está ligada a um agrupamento químico, chamado heme, que contém átomos de ferro na sua estrutura. A função dos eritrócitos é transportar oxigênio (O<sub>2</sub>) dos pulmões para os tecidos assim como transportar parte do dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) produzido na respiração das células para os pulmões (94). A vida média de uma hemácia é de 120 dias. Após esse período, os eritrócitos são destruídos no fígado, onde sucede a desagregação das moléculas de hemoglobina e a disponibilização dos aminoácidos resultantes para a síntese de novas proteínas. A maior parte do ferro presente na hemoglobina pode retornar à medula óssea, local de formação de novas hemácias (93).

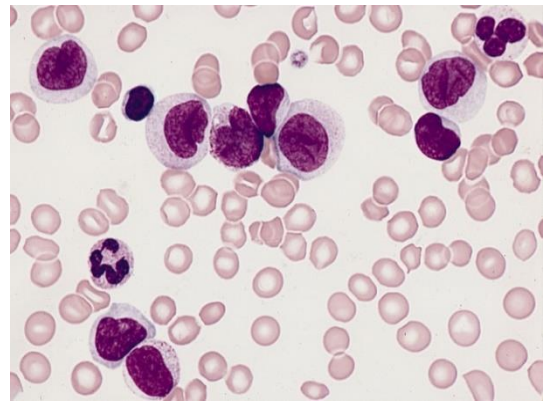
A Hipocromia é o termo usado em Hematologia para sinalizar a diminuição da coloração dos eritrócitos, resultando da diminuição da produção de hemoglobina sobretudo devido à deficiência de ferro (figura 7) (93).

As características dos eritrócitos determinadas pelo volume globular médio (VGM) e pela concentração média de hemoglobina corpuscular (CHCM) podem orientar a etiologia da anemia. É nesta conjuntura que a percentagem de eritrócitos hipocrómicos (concentração de hemoglobina globular <28 g/dl) pode representar uma mais-valia, uma vez que se correlaciona directamente com a quantidade de ferro presente na medula óssea. Os valores mínimos aceitáveis para a percentagem de eritrócitos hipocrómicos nos doentes com DRC em hemodiálise são <10% e os valores-alvo são <2,5% (60;95). Em 1992 Macdougall e seus colaboradores demonstraram que os glóbulos vermelhos hipocrómicos fornecem informação directa sobre o suprimento e o uso de ferro da medula óssea (96). Em 1995, Schaefer and Schaefer, encontraram níveis baixos de eritrócitos

hipocrômicos (<1%) em pacientes com sobrecarga de ferro e altos níveis (>22%) em pacientes com níveis de deficiência de ferro graves (97). O estudo de Tessitore em 2001 e seus colaboradores, permitiu uma avaliação em simultâneo de quatro parâmetros da deficiência de ferro. A % de eritrócitos hipocrômicos foi o marcador mais preciso e a única variável com valor de diagnóstico independente da deficiência de ferro, com a capacidade de classificar corretamente 87% dos pacientes (98). Em 2005, Lorenz e seus colaboradores, verificaram que os eritrócitos hipocrômicos foram também o parâmetro mais sensível na detecção da deficiência de ferro após transplante renal (98).



**Figura 6** - Glóbulos Vermelhos Normocrômicos



**Figura 7** - Glóbulos Vermelhos Hipocrômicos

## 5. Os GV hipocrômicos, a ferritina e a anemia na DRC

Conforme já referido, o problema fundamental nos doentes com doença renal crónica e anemia é conseguir que os níveis das reservas de ferro permitam uma resposta otimizada ao tratamento com eritropoietina (97). Para tal é frequentemente necessário administrar ferro EV mas essa administração, pelos problemas que levanta, deve ser limitada ao estritamente necessário (60).

Neste contexto, a questão mais premente é determinar qual o marcador que melhor nos permite estimar as reservas reais de ferro do organismo, definidas por uma resposta óptima à eritropoietina.

Tradicionalmente, a monitorização é feita com a ferritina, que apresenta uma boa correlação com as reservas de ferro na população geral, definindo-se como intervalo óptimo para a população dos doentes hemodialisados os 200-500 ng/ml (60).

Diversos estudos vieram contudo, mostrar que a ferritina pode estar normal ou aumentada com reservas de ferro diminuídas, provavelmente porque a ferritina é um marcador de fase aguda. De facto, a inflamação não só aumenta a concentração da ferritina como inibe a mobilização do ferro dos depósitos retículo-endoteliais, tal como sugere a coexistência de ferritinas altas, acima de 800 ng/ml (o que sugere sobrecarga de ferro), com saturações da transferrina baixas, inferiores a 20% (o que sugere deficiência de ferro) (95). Verificou-se mesmo que existe nos doentes hemodialisados uma correlação entre valores aumentados de ferritina (superiores a 800 ng/ml) e valores aumentados de PCR (100).

Os primeiros estudos sobre a eventual utilidade da percentagem de eritrócitos hipocrômicos na monitorização das reservas de ferro e da resposta terapêutica à administração de eritropoietina surgiram nos anos 1990. Depressa se verificou uma maior correlação da percentagem de eritrócitos hipocrômicos com a saturação da transferrina do que com a ferritina (100;101) e que a percentagem de eritrócitos hipocrômicos se correlacionava melhor do que a ferritina com a resposta medular à eritropoietina (60).

A hipocromia dos eritrócitos é uma das características avaliadas por rotina no hemograma, através da CHCM (concentração da hemoglobina globular média). A

percentagem de eritrócitos hipocrómicos não exige, portanto, realizar qualquer técnica analítica adicional pelo que basta tratar a informação disponível.

Temos, portanto, à disposição o que parece ser um marcador das reservas de ferro mais sensível do que a ferritina e que não envolve processamentos analíticos nem custos adicionais.

## 6. Estudo

### 6.1. Objectivos

A estimativa correcta das reservas de ferro é muito importante para a optimização do tratamento da anemia da doença renal crónica com eritropoietina nos doentes hemodialisados. A ferritina tem sido usada para tal mas, sendo uma proteína de fase aguda, em situações de inflamação crónica como as que ocorrem frequentemente nos doentes hemodialisados pode estar normal ou mesmo aumentada e as reservas de ferro estarem, ainda assim, diminuídas. Há, portanto, um problema de sensibilidade da ferritina.

Nos últimos anos tem crescido o interesse por um parâmetro analítico que parece ter maior sensibilidade do que a ferritina para a deficiência de ferro dado não ser, ao contrário da ferritina, afectado pelos processos inflamatórios: a percentagem de eritrócitos hipocrómicos. Existindo vários estudos publicados ao longo dos anos que apontam nesse sentido.

O objectivo deste trabalho determinar a **utilidade da percentagem de eritrócitos hipocrómicos na avaliação da deficiência de ferro em doentes hemodialisados** numa população de hemodialisados com dimensão muito significativa de vários milhares de doentes, elemento este um factor decisivo para o grau de confiança dos resultados neste tipo de estudos.

Para isso é avaliada a significância estatística de algumas correlações importantes no contexto da monitorização da terapêutica com eritropoietina nos doentes renais crónicos em hemodiálise, correlações essas que podem ser deduzidas do modelo geral proposto para a relação entre todos estes marcadores (eritrócitos hipocrómicos, ferritina, saturação da transferrina e PCR) e já discutido anteriormente (capítulo 5).

Assim, pretende-se:

- a) avaliar o tipo de correlação existente entre a percentagem de eritrócitos hipocrómicos e a ferritina, a saturação da transferrina e a PCR;
- b) comparar a distribuição dos valores de eritrócitos hipocrómicos e da PCR nos grupos de doentes definidos pela concentração da ferritina: inferiores a 200 ng/ml

- (com deficiência de ferro); entre 200 e 500 ng/ml (os valores-alvo para a população de hemodialisados); entre 500 e 2000 ng/ml (valores associados com sobrecarga de ferro); e superiores a 2000 ng/ml (valores associados a complicações devidas à deposição de ferro nos tecidos);
- c) avaliar se a distribuição dos valores de PCR e de saturação da transferrina apresenta diferenças significativas dentro do grupo de doentes com ferritinas claramente associadas a depósitos de ferro dentro ou acima dos valores-alvo (ferritinas entre 500 e 2000 ng/ml) em função da percentagem de eritrócitos hipocrómicos.

## **6.2. Material e métodos**

### **6.2.1. Desenho do estudo**

O estudo foi feito na população constituída pelos doentes renais crónicos que fazem hemodiálise em 11 clínicas da Grande Lisboa e são monitorizados analiticamente no Laboratório de Análises Clínicas colaborador.

A recolha de dados foi realizada entre abril e outubro de 2016 e incidiu nos resultados analíticos determinados e registados durante esse período na base de dados do sistema informático do Laboratório. A recolha dos dados e o seu tratamento foi feita em condições de rigoroso anonimato de acordo com as boas práticas laboratoriais.

### **6.2.2. Metodologias e parâmetros analíticos**

Os parâmetros analíticos utilizados no estudo foram determinados em autoanalisadores Siemens **Advia**<sup>®</sup> **2120** (hemoglobina e percentagem de eritrócitos hipocrómicos) e **Advia**<sup>®</sup> **1800** (PCR, ferro, ferritina e saturação da transferrina).

**Tabela 3** - Caracterização dos métodos analíticos e parâmetros bioquímicos e hematológicos utilizados no estudo (101)

Parâmetros Bioquímicos (ADVIA 1800)				
Marcador	Método	Amostr a	Intervalo Analítico	Valores de referência
PCR	Imunoturbidimetria intensificada por latex	Soro e plasma	0,012-(15,6-16,4) mg/dl	0-0,5 mg/dl
Ferro	Ferrozina	Soro e plasma	2-1000 µg/dl	Homens: 65-175 µg/dl Mulheres: 50-170 µg/dl
Saturação da transferrina	Cálculo	Soro e plasma		20-50 %
Ferritina	Imunoensaio "Sandwich" (Utilizando tecnologia quimoluminométrica directa)	Soro e plasma	0,5-1650 ng/ml	30-400 ng/ml
Parâmetros Hematológicos (ADVIA 2120)				
Marcador	Método	Amostr a	Intervalo Analítico	Valores de referência
Hb	Citometria de fluxo	Sangue total	0,0-22,5 g/dl	10-16 g/dl
% GV Hipo	Citometria de fluxo	Sangue total		< 2,5 %

### 6.2.3. Análise estatística

Na análise estatística dos dados recorreu-se ao *software* SPSS (*Statistical Package for the Social Science*).

Foi realizada uma análise univariada das variáveis em estudo, recorrendo à estatística descritiva. Esta análise permite descrever, de uma forma simples, as características dos dados obtidos a partir da amostra. A estatística descritiva incluiu as distribuições de frequências (e.g. frequência absoluta e relativa), as medidas de tendência central (média) e as medidas de dispersão (desvio padrão).

Para avaliação da significância de diferenças de distribuição de algumas variáveis utilizou-se o teste *ANOVA one way*. Para comparações múltiplas optou-se pelo *Teste de Tukey*. Para análise de correlações utilizou-se o *Coefficiente de correlação de Pearson*,

tendo-se verificado a normalidade da distribuição das variáveis com o *Teste de Kolmogorov-Smirnov* e o *Teste de Shapiro-Wilk*.

### 6.3. Resultados

#### 6.3.1. Análise descritiva

Dos 3843 doentes que participaram no estudo, 57,7% (2217/3843) são do sexo masculino. O sexo não constava dos registos em 3 casos.

A média de idades foi de  $65,89 \pm 14,9$  anos, com valores mínimo e máximo de 20 e 94 anos, respectivamente.

**Tabela 4** - Doentes participantes no estudo: número total, distribuição por sexo e idade

<b>Total de participantes</b>	<b>3843</b>
Sexo feminino	1623 (42,2 %)
Sexo masculino	2217 (57,7 %)
Sexo não registado	3 (0,1 %)
Idade (média $\pm$ desvio padrão)	$65,89 \pm 14,9$

O valor mais baixo de GV-hipocrómicos é de 0,10 e o valor máximo é de 45,40 com uma média de  $3,08 \pm 4,25$ . Não foram recolhidos estes valores a dois indivíduos. Num total de 3841 utentes apenas 1340 apresentam valor de GV-hipocrómicos  $>2,5$ , com um mínimo de 2,60, máximo de 45,40 com uma média de  $6,84 \pm 5,40$ .

O valor mais baixo da PCR é de 0,10 e o mais alto é de 23,24, a amostra apresenta uma média de  $1,14 \pm 1,93$ .

O valor mínimo da variável Hb é de 6,70, o máximo 17,10 com uma média de  $11,29 \pm 1,25$ .

Num total de 3843 verifica-se que 1489 apresentam uma Hb  $<11$ mg/dL com um mínimo de 6,70mg/dL e um máximo de 10,90mg/dL. A média desta variável é de  $10,13 \pm 0,71$ .

O valor mais baixo da Ferritina é de 8 e o mais alto é de 3645, a amostra apresenta uma média de  $397,55 \pm 224,31$ . Não foi recolhido este valor a um dos indivíduos.

Num total de 3842 utentes somente 602 apresentam valores de ferritina  $<200$  e nestes o valor mínimo é de 8, o máximo é de 199 com uma média de  $111,02 \pm 56$ .

Averigua-se que 2250 indivíduos apresentam valores de ferritina entre 200 e 500, com um mínimo de 200 e um máximo de 499, sendo a média  $353,42 \pm 79,61$ .

O número de indivíduos com valores de ferritina entre 500 e 2000 é 986, com um mínimo de 500 e um máximo de 1954, ficando com uma média de  $664,18 \pm 179,55$ .

Apenas 4 indivíduos apresentam um valor de ferritina  $>2000$ , sendo o mínimo de 2065, o máximo de 3645 com uma média de  $2622,75 \pm 743,93$ .

O valor mínimo do variável ferro é de 7, o máximo é de 255 com uma média de  $64,77 \pm 25,45$ .

O valor mínimo da variável ST é 6, o máximo é 100 com uma média de  $30,97 \pm 12,63$ .

Num total de 3843, apenas 594 apresentam valores de Saturação da Transferrina  $<20$ , com um mínimo de 6, máximo de 19 e média de  $15,16 \pm 3,33$ .

**Tabela 5** - Caracterização dos parâmetros analíticos utilizados como variáveis de estudo

	Nº Obs	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
GV-Hipocrômicos	3841	3,08	4,25	0,10	45,40
GV-Hipocrômicos $>2,5\%$	1340	6,84	5,40	2,60	45,40
PCR	3843	1,14	1,93	0,10	23,24
PCR $> 0,5$	1987	2,00	2,37	0,51	23,24
Hb	3843	11,29	1,25	6,70	17,10
Hb $< 11$ mg/dl	1489	10,13	0,71	6,70	10,90
Ferritina	3842	397,55	224,31	8,00	3645,00
Ferritina $< 200$	602	111,02	56,00	8,00	199,00
Ferritina 200 e 500	2250	353,42	79,61	200,00	499,00
Ferritina 500 e 2000	986	664,18	179,55	500,00	1954,00
Ferritina $>2000$	4	2622,75	743,98	2065,00	3645,00
Ferro	3843	64,77	25,45	7,00	255,00
ST	3843	30,97	12,63	6,00	100,00
ST $< 20$	594	15,16	3,33	6,00	19,00

### 6.3.2. Análise de correlação entre a % de eritrócitos hipocrômicos e os valores de ferritina, saturação da transferrina e PCR

O Coeficiente de correlação de Pearson é uma medida do grau de relação linear entre duas variáveis quantitativas. Esta correlação exige uma condição de aplicabilidade que é a normalidade das variáveis.

Para se verificar se as variáveis seguem uma distribuição normal recorreu-se ao teste de *Kolmogorov-Smirnov* e ao teste de *Shapiro-Wilk*.

#### Normalidade dos Dados

- Verificar se a variável % de eritrócitos hipocrômicos (GV-hipo) segue uma distribuição normal.

#### Hipótese a testar

H<sub>0</sub>: A variável GV-hipo segue aproximadamente uma distribuição normal

H<sub>1</sub>: A variável GV-hipo não segue uma distribuição normal

**Tabela 6** - Avaliação da normalidade da distribuição da % de eritrócitos hipocrômicos

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estatística	N	<i>P_valor</i>	Estatística	N	<i>P_valor</i>
GV-hipo	,242	3840	0,000	,627	3840	,000

Rejeita-se H<sub>0</sub> ao nível de significância de 5%, ou seja, há evidência estatística de que a variável GV-hipo não segue uma distribuição normal.

- Verificar se a variável PCR segue uma distribuição normal.

#### Hipótese a testar

H<sub>0</sub>: A variável PCR segue aproximadamente uma distribuição normal

H<sub>1</sub>: A variável PCR não segue uma distribuição normal

**Tabela 7** - Avaliação da normalidade da distribuição da PCR

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estatística	N	<i>P_valor</i>	Estatística	N	<i>P_valor</i>
PCR	,295	3840	0,000	,520	3840	,000

Rejeita-se  $H_0$  ao nível de significância de 5%, ou seja, há evidência estatística de que a variável PCR não segue uma distribuição normal.

- Verificar se a variável Ferritina segue uma distribuição normal.

Hipótese a testar

$H_0$ : A variável Ferritina segue aproximadamente uma distribuição normal

$H_1$ : A variável Ferritina não segue uma distribuição normal

**Tabela 8** - Avaliação da normalidade da distribuição da ferritina

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estatística	df	<i>P_valor</i>	Estatística	df	<i>P_valor</i>
Ferritina	,069	3840	,000	,889	3840	,000

Rejeita-se  $H_0$  ao nível de significância de 5%, ou seja, há evidência estatística de que a variável Ferritina não segue uma distribuição normal.

- Verificar se a variável Saturação da Transferrina (ST) segue uma distribuição normal.

Hipótese a testar

$H_0$ : A variável ST segue aproximadamente uma distribuição normal

$H_1$ : A variável ST não segue uma distribuição normal

**Tabela 9** - Avaliação da normalidade da distribuição da saturação da transferrina

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estatística	df	P. valor	Estatística	df	P. valor
ST	,081	3840	,000	,920	3840	,000

Rejeita-se  $H_0$  ao nível de significância de 5%, ou seja, há evidência estatística de que a variável ST não segue uma distribuição normal.

### ***Correlação de Pearson***

- Verificar se existe correlação entre a variável GV-hipo e a variável PCR
- Verificar se existe correlação entre a variável GV-hipo e a variável Ferritina
- Verificar se existe correlação entre a variável GV-hipo e a variável ST

#### Hipótese a testar

$H_0$ : Existe uma correlação estatisticamente significativa entre os valores de GV-hipo e PCR

$H_1$ : Não existe uma correlação estatisticamente significativa entre os valores de GV-hipo e PCR

#### Hipótese a testar

$H_0$ : Existe uma correlação estatisticamente significativa entre os valores de GV-hipo e Ferritina

$H_1$ : Não existe uma correlação estatisticamente significativa entre os valores GV-hipo e Ferritina

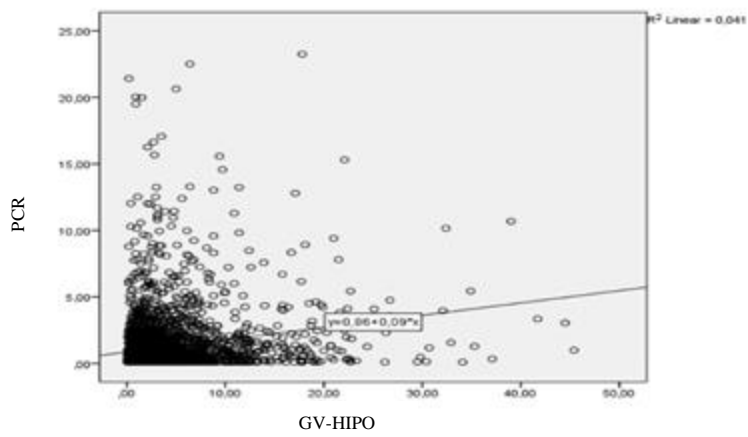
#### Hipótese a testar

$H_0$ : Existe uma correlação estatisticamente significativa entre os valores de GV-hipo e ST

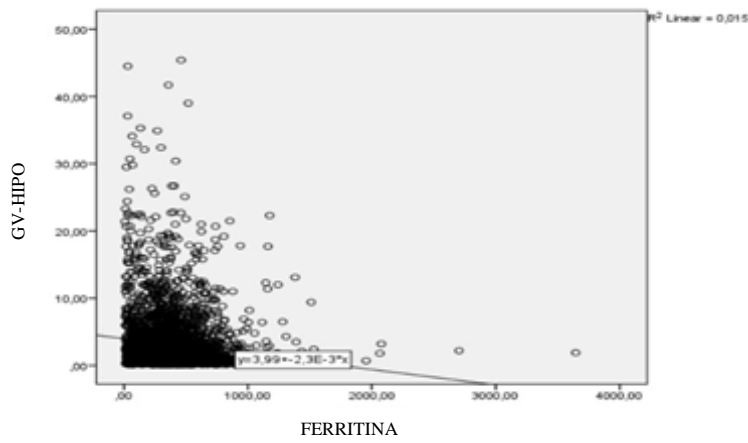
$H_1$ : Não existe uma correlação estatisticamente significativa entre os valores GV-hipo e ST

**Tabela 10** - Avaliação da correlação entre a % de eritrócitos hipocrômicos e as variáveis PCR, ferritina e saturação da transferrina

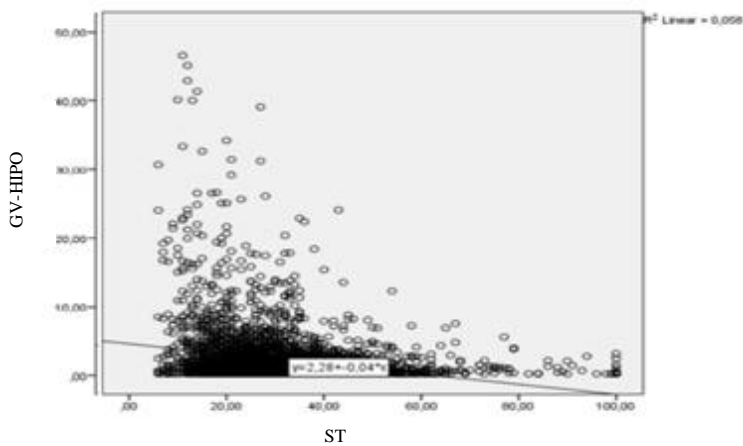
		PCR	Ferritina	ST
GV-hipo	Correlação de Pearson	,203**	-,121**	-,250**
	P. valor (2 extremidades)	,000	,000	,000
	N	3841	3840	3841



**Figura 6** - Correlação entre a % de GV-HIPO e a PCR



**Figura 7** - Correlação entre a % de GV-HIPO e a ferritina



**Figura 8** - Correlação entre a % de GV-HIPO e a ST

### 6.3.3. Distribuição dos eritrócitos hipocrômicos e da PCR em função da concentração da ferritina

Foi realizada uma análise bivariada, recorrendo à inferência estatística. Segundo Fortin, “Os dois principais objetivos da inferência estatística são a estimação de parâmetros e a verificação de hipóteses” (102).

**Tabela 11** - Valores médios dos eritrócitos hipocrômicos e da PCR em função da concentração da ferritina.

FERRITINA		GV-hipo	PCR
<200	N	602	602
	Mínimo	10	0,1
	Máximo	44,5	10,57
	Média	4,7885	0,8558
	Desvio Padrão	6,09109	1,22105
entre 200 e 500	N	2248	2250
	Mínimo	0,1	0,1
	Máximo	45,4	22,51
	Média	2,7941	1,085
	Desvio Padrão	3,74101	1,70092
entre 500 e 2000	N	986	986
	Mínimo	0,1	0,1
	Máximo	39	23,24
	Média	2,6774	1,4132
	Desvio Padrão	3,69662	2,57849
>2000	N	4	4
	Mínimo	1,8	0,18
	Máximo	3,2	7,68
	Média	2,275	3,6725
	Desvio Padrão	0,63966	3,68242

Numa primeira análise, foi utilizada a inferência estatística para avaliar a significância da diferença das distribuições de GV-hipo e PCR entre os quatro grupos de ferritina (<200; 200-500; 500-2000 e >2000) utilizou-se o teste *ANOVA one way*, a um nível de significância de 5% (Tabela 11).

#### Teste ANOVA one way

A análise da variância serve para comparar diferenças entre as médias. Para aplicação da análise de variância, são necessárias algumas suposições, sendo elas:

1. As observações são independentes, ou seja, cada elemento amostral deve ser independente;

2. Os grupos comparados apresentam a mesma variância;
3. Os erros são independentes e provenientes de uma distribuição normal com média igual a zero e variância constante (**102**).

O que se pretende com o estudo é:

- Avaliar a significância da diferença das distribuições da % de eritrócitos hipocrómicos entre os quatro grupos de ferritina.

Hipótese a testar

H<sub>0</sub>: Não existem diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios de GV-hipo nos quatro grupos de ferritina

H<sub>1</sub>: Existem pelo menos dois grupos de valores de ferritina que apresentam diferenças estatisticamente significativas nos valores médios de GV-hipo

- Avaliar a significância da diferença das distribuições de PCR entre os quatro grupos de ferritina.

Hipótese a testar

H<sub>0</sub>: Não existem diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios de PCR nos 4 grupos de ferritina

H<sub>1</sub>: Existem pelo menos dois grupos de valores de ferritina que apresentam diferenças estatisticamente significativas nos valores médios de PCR

**Tabela 12** - Significância da diferença das distribuições de GV-hipo e PCR entre os quatro grupos de ferritina (global).

		Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	Z	P_valor
GV-hipo	Entre Grupos	2103,382	3	701,127	40,019	,000
	Nos grupos	67206,387	3836	17,520		
	Total	69309,769	3839			
PCR	Entre Grupos	153,428	3	51,143	14,028	,000
	Nos grupos	13992,270	3838	3,646		
	Total	14145,698	3841			

**Tabela 13** – Significado da dif. das distribuições de GV-hipo e PCR entre os 4 grupos de ferritina

Variável dependente	(I)FERRITINA		Diferença média (I-J)	Erro Padrão	P_valor	Intervalo de Confiança 95%	
		(J)FERRITINA				Limite inferior	Limite superior
GV-hipo	Ferritina <200	entre 200 e 500	1,9944*	,1921	<b>,000</b>	1,5007	2,4881
		entre 500 e 2000	2,1112*	,2165	<b>,000</b>	1,5547	2,6676
		>2000	2,5135	2,0998	,629	-2,8832	7,9103
	entre 200 e 500	Ferritina <200	-1,9944*	,1921	<b>,000</b>	-2,4881	-1,5007
		entre 500 e 2000	,1167	,1599	,885	-,2942	,5277
		>2000	,5191	2,0947	,995	-4,8646	5,9028
	entre 500 e 2000	Ferritina <200	-2,1112*	,2165	<b>,000</b>	-2,6676	-1,5547
		entre 200 e 500	-,1167	,1599	,885	-,5277	,2942
		>2000	,4024	2,0971	,997	-4,9874	5,7922
	>2000	Ferritina <200	-2,5135	2,0998	,629	-7,9103	2,8832
		entre 200 e 500	-,5191	2,0947	,995	-5,9028	4,8646
		entre 500 e 2000	-,4024	2,0971	,997	-5,7922	4,9874
PCR	Ferritina <200	entre 200 e 500	-,2291*	,0876	<b>,044</b>	-,4543	-,0040
		entre 500 e 2000	-,5574*	,0988	<b>,000</b>	-,8112	-,3036
		>2000	-2,7567*	,9579	<b>,021</b>	-5,2185	-,2948
	entre 200 e 500	Ferritina <200	,2291*	,0876	<b>,044</b>	,0040	,4543
		entre 500 e 2000	-,3283*	,0729	<b>,000</b>	-,5157	-,1408
		>2000	-2,5275*	,9555	<b>,041</b>	-4,9834	-,0716
	entre 500 e 2000	Ferritina <200	,5574*	,0988	<b>,000</b>	,3036	,8112
		entre 200 e 500	,3283*	,0729	<b>,000</b>	,1408	,5157
		>2000	-2,1993	,9566	,098	-4,6579	,2594
	>2000	Ferritina <200	2,7567*	,9579	<b>,021</b>	,2948	5,2185
		entre 200 e 500	2,5275*	,9555	<b>,041</b>	,0716	4,9834
		entre 500 e 2000	2,1993	,9566	,098	-,2594	4,6579

Em relação a *ANOVA one way* para GV-hipo verificamos que o valor de *p\_valor* é aproximadamente zero e o valor de Z é 40,019. Para a PCR verificamos que o valor de *p\_valor* também é aproximadamente zero e o Z é 14,028.

Em ambas as situações o valor de *p* é inferior a 0.05, então significa que ao nível de significância 5%, rejeita-se a hipótese nula ( $H_0$ ). Assim, a *ANOVA one way* permite concluir que existem diferenças estatisticamente significativas nos valores de GV-hipo e de PCR nos vários grupos de ferritina.

Neste caso, que existem diferenças significativas nos grupos de ferritina, faz sentido averiguar as diferenças através de técnicas de comparações múltiplas para pesquisar quais os pares responsáveis por esta rejeição.

Para as comparações múltiplas optou-se pelo *Teste de Tukey* que se baseia na Diferença Mínima Significativa (DMS). Na medida em que também é um teste de comparação de média, deve determinar um nível de significância  $\alpha$ , para o teste, neste caso usamos o nível de significância de 0,05% uma vez que o grau de confiança é de 95% (Tabela 13).

#### **6.3.4. Distribuição dos valores de PCR e saturação da transferrina nos doentes com ferritinas entre 200 e 500 ng/ml em função da percentagem de eritrócitos hipocrómicos**

- Avaliar a significância da diferença das distribuições da PCR nos doentes com ferritinas entre 200 e 500 ng/ml entre o grupo com % de eritrócitos hipocrómicos inferior a 2,5% e o grupo com % de eritrócitos hipocrómicos superior a 2,5%

**Tabela 14** - Estatísticas de Grupo das distribuições da PCR nos doentes com ferritinas entre 200 e 500 ng/ml entre o grupo com % de eritrócitos hipocrómicos inferior a 2,5% e o grupo com % de eritrócitos hipocrómicos superior a 2,5%

<b>Estatísticas de grupo</b>					
	grupo	N	Média	Desvio Padrão	Erro padrão da média
PCR	GV-hipo <2,5 & FERRITINA 200-500	1506	0,8058	1,24373	,32050
	GV-hipo >2,5 & FERRITINA 200-500	742	1,6540	3,41201	,83352

### Hipótese a testar

H<sub>0</sub>: Não existem diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios de PCR nos dois grupos

H<sub>1</sub>: Existem diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios de PCR nos dois grupos

**Tabela 15** - Distribuição dos valores de PCR nos doentes com ferritinas entre 200 e 500 ng/ml em função da percentagem de eritrócitos hipocrómicos

Teste de amostras independentes						
		Teste-t para Igualdade de Médias				
		P. valor (2 extremidades)	Diferença a média	Erro padrão de diferença	95% Intervalo de Confiança da Diferença	
					Inferior	Superior
PCR	Variâncias iguais assumidas	,000	-,8427	,07420	-,99379	-,702761
	Variâncias iguais não assumidas	,000	-,08930	,08930	-1,02351	-,673047

Como valor de P. valor é de 0,000 então significa que existem diferenças estatisticamente significativas, ou seja, rejeitamos a hipótese nula.

- Avaliar a significância da diferença das distribuições da ST nos doentes com ferritinas entre 200 e 500 ng/ml entre o grupo com % de eritrócitos hipocrómicos inferior a 2,5% e o grupo com % de eritrócitos hipocrómicos superior a 2,5%.

**Tabela 16** - Estatísticas de Grupo das distribuições da ST nos doentes com ferritinas entre 200 e 500 ng/ml entre o grupo com % de eritrócitos hipocrómicos inferior a 2,5% e o grupo com % de eritrócitos hipocrómicos superior a 2,5%

Estatísticas de grupo					
	grupo	N	Média	Desvio Padrão	Erro padrão da média
ST	GV-hipo <2,5 & FERRITINA 200-500	1506	31,8353	10,79181	,27809
	GV-hipo >2,5 & FERRITINA 200-500	742	27,6509	10,30314	,37824

### Hipótese a testar

H<sub>0</sub>: Não existem diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios de ST nos dois grupos

H<sub>1</sub>: Existem diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios de ST nos dois grupos

**Tabela 17** - Distribuição dos valores de saturação da transferrina nos doentes com ferritinas entre 200 e 500 ng/ml em função da percentagem de eritrócitos hipocrómicos

Teste de amostras independentes						
		Teste-t para Igualdade de Médias				
		P. valor (2 extremidades)	Diferença média	Erro padrão de diferença	95% Intervalo de Confiança da Diferença	
					Inferior	Superior
ST	Variâncias iguais assumidas	,000	4,18438	0,47692	3,24914	5,11963
	Variâncias iguais não assumidas	,000	4,18438	0,46947	3,26352	5,10524

Como o valor de P. valor é de 0,000 então significa que existem diferenças estatisticamente significativas, ou seja, rejeitamos a hipótese nula.

## 7. Discussão

A análise das correlações existentes entre a distribuição dos valores da % de eritrócitos hipocrómicos e a distribuição dos valores de ferritina, saturação da transferrina e PCR (ver ponto 6.3.2) mostrou a existência de uma correlação directa com a PCR e inversa com a saturação da transferrina. Com a ferritina a correlação foi inversa, mas de forma menos acentuada do que com a saturação da transferrina. Isto concorda com o que sabemos da fisiopatologia e das inter-relações destes marcadores. Aumentos da PCR, na medida em que se associam a processos inflamatórios e menor mobilização do ferro dos depósitos retículo-endoteliais, correlacionam-se com um agravamento da anemia ferropénica e, portanto, um aumento da % de eritrócitos hipocrómicos. A mesma redução da disponibilidade de ferro traduz-se numa diminuição da saturação da transferrina, donde a correlação inversa que se verifica entre esta variável e a % de eritrócitos hipocrómicos.

Por outro lado, a menor disponibilidade de ferro para a hematopoiese (que se traduz no aumento da % de eritrócitos hipocrómicos) pode corresponder a uma redução das reservas totais de ferro, caso em que a ferritina estará diminuída (e haverá entre as duas variáveis uma correlação inversa), mas pode também corresponder a processos inflamatórios que se traduzem em menor biodisponibilidade do ferro sem que haja uma real redução do ferro total e sem que, portanto, a ferritina esteja baixa (caso em que a correlação entre as duas variáveis se não verificará); em suma, compreende-se que a correlação da ferritina com a % de eritrócitos hipocrómicos, existindo, seja menos evidente do que a existente entre a % de eritrócitos hipocrómicos e a saturação da transferrina.

Confirmadas desta forma as inter-relações dos marcadores, compreendem-se os resultados descritos nos vários estudos publicados sobre este tema (60;95;97;100;101).

Voltamos, portanto, a confrontar-nos com a questão que constitui o problema deste estudo: qual é a **utilidade da % de eritrócitos hipocrómicos na avaliação da deficiência de ferro em doentes hemodialisados**? Dito de outra maneira: porque é que a % de eritrócitos hipocrómicos é preferível à ferritina?

Quando se analisa a distribuição dos eritrócitos hipocrómicos em função da concentração da ferritina (ponto 6.3.3), verifica-se que há uma diferença significativa na distribuição das % de eritrócitos hipocrómicos entre o grupo com ferritinas < 200 ng/ml e os grupos com valores superiores, mas que essa diferença já se não verifica entre esses

grupos (ferritinas entre 200 e 500 ng/ml e superiores a 500 ng/ml). Isto é consistente com o facto de os valores de ferritina < 200 ng/ml estarem claramente associados a deficiência de ferro.

Por outro lado, a análise da distribuição dos valores da saturação da transferrina nos doentes com ferritinas entre 200 e 500 ng/ml em função da percentagem de eritrócitos hipocrómicos (ponto 6.3.4) mostra que há um grupo de doentes, caracterizado por ter uma % de eritrócitos hipocrómicos aumentada (superior a 2,5%) apesar de ter valores de ferritina normais ou aumentados (e portanto teoricamente não associados a deficiência de ferro), que tem valores de saturação da transferrina significativamente inferiores aos do grupo com % de eritrócitos hipocrómicos normal, o que corrobora a associação entre a % de eritrócitos hipocrómicos aumentada e a deficiência de ferro.

O mesmo grupo apresenta valores de PCR significativamente superiores aos verificados no grupo com % de eritrócitos hipocrómicos normal, o que concorda com a associação esperada entre processos inflamatórios e elevação da ferritina.

Isto concorda com o facto de a análise da distribuição dos valores de PCR em função da concentração da ferritina (ponto 6.3.3) mostrar que há diferenças significativas na distribuição de valores da PCR entre todos os 3 grupos de ferritinas (inferior a 200 ng/ml, entre 200 e 500 ng/ml e superior a 500 ng/ml), o que significa que há mesmo valores de PCR mais elevados nos doentes com ferritinas altas do que nos doentes com ferritinas baixas.

## **8. Conclusões**

Há uma clara associação entre % de eritrócitos hipocrómicos aumentadas e deficiência de ferro (evidenciada por valores de ferritina  $< 200$  ng/ml).

Por outro lado, valores de ferritina geralmente indicativos de reservas normais de ferro (superiores a 200 ng/ml) tanto se associam a % de eritrócitos hipocrómicos normais como a % de eritrócitos hipocrómicos aumentadas, sendo que os valores de saturação da transferrina corroboram que o último grupo corresponde de facto a situações de deficiência de ferro para a hematopoiese.

Podemos, portanto, responder à questão que constituiu o problema deste estudo afirmativamente: a % de eritrócitos hipocrómicos é útil na avaliação da deficiência de ferro em doentes hemodialisados e pode mesmo ser mais sensível do que a ferritina.

## 9. Referências Bibliográficas

1. GUIMARÃES, S - Insuficiência Renal. Lisboa. **Portal da Diálise**. [Online]. 2016 [consultado a 10 setembro 2017]. Disponível em: < URL: <https://www.portaldadialise.com/portal/insuficiencia-renal> >
2. BASTOS, M.G. [et al.] - Doença renal crônica: frequente e grave, mas também prevenível e tratável. **Associação Médica Brasileira**. v.56, n.2, 2010. 248-53.
3. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE - Factos sobre doenças crônicas não-transmissíveis. **Geneva, OMS**. [Online]. 2003. [consultado a 10 setembro 2017]. Disponível em: <<http://www.who.int/hpr/ncd.facts.shtml>>
4. LESSA, I - Outras doenças crônicas não-transmissíveis de importância social. In: Lessa I. O adulto brasileiro e as doenças da modernidade: epidemiologia das doenças crônicas não-transmissíveis. São Paulo. **Hucitec /ABRASCO**. 1998.181-201.
5. SARNAK, M.J. [et al.] - Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research. **Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. Hypertension**. 2003 Nov. 42(5): 1050-1065.
6. WRIGHT, J. [et al.] - Cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. **Vasc Health Risk Manag**. 2009. 5:713-722.
7. EQUIPA SAÚTIL. Insuficiência Renal Crônica (IRC). São Paulo. **Saútil.com.br**. [Online]. 2014. [Consultado a 10 setembro 2017]. Disponível em: < URL: <http://www.sautil.com.br/saude-para-voce/sistema-renal/conteudo/insuficiencia-renal-cronica-irc#> >

8. SÁ H.O., Chronic Kidney Disease (CKD) prevention or The urgency of a national policy of screening and early treatment. **Nephrology Department, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra**. 2013 Fev. 27(1): 9-12
9. KDIGO – Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. **Journal of the International Society of Nephrology**. 2013 Jan. Vol.3 (1) 1-163
10. SOUZA M.H.L., ELIAS D.O. – Fundamentos da Circulação Extracorpórea. 2ª Edição. Rio de Janeiro: **Centro Editorial Alfa Rio**; 2006. 22 [Suppl 9]: ix26–ix30
11. METCALFE W. - How does early chronic kidney disease progress? A Background Paper prepared for the UK Consensus Conference on Early Chronic Kidney Disease. **Oxford University Press**. 2007
12. KLAHR, S., SCHREINER, G., ICHIKAWA, L. - The Progression Renal Disease. **The New England Journal of Medicine**, [On line]. 1988 [Consultado a 10 setembro 2017]. Disponível em: <URL: [www.jbn.org.br/audiencia\\_pdf.asp?aid2=697&nomeArquivo](http://www.jbn.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=697&nomeArquivo)>
13. DIREÇÃO GERAL DE SAÚDE – Norma nº 017/2011 – Tratamento Conservador Médico da Insuficiência Renal Crónica Estádio 5. **DGS**. 2011. [Consultado a 15 setembro 2017] v.11. Disponível em: < URL: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0172011-de-28092011-atualizada-a-14062012-jpg.aspx> >
14. CORESH J., BYRD-HOLT D., ASTOR B.C. [et al]. Chronic kidney disease awareness, prevalence, and trends among US adults, 1999 to 2000. **Journal of the American Society of Nephrology**. 2005; 16: 180–188.

15. STEVENS L.A., CORESH J., GREENE T., LEVEY AS. Assessing kidney function – measured and estimated glomerular filtration rate. **The New England Journal of Medicine**. 2006; 354: 2473–2483.
16. KUROKAWA K., [et al] - Current Issues and Future Perspectives of Chronic Renal Failures. **Journal of the American Society of Nephrology**. 2002 13: S3–S6, 2002.
17. LEVEY ET AL A.S. – Chronic kidney Disease as a global public health problema: Approaches and initiatives – a position statement from KDIGO. **Kidney International**. 2007. 72, 247-259
18. DEZEEUW D., [et al.] – The Kidney, a cardiovascular risk marker and a new target for therapy. **Kidney International Supplements**. 2005. 98, S25-S29
19. CHEN J., [et al.] – Prevalence of decreased kidney function in Chinese adults aged 35 to 74 years. **Kidney International Supplements**. 2005. 68, 2839-2845
20. HALLAN S.I., [et al.] – International comparison of the relationship of chronic kidney Disease prevalence and ESRD risk. **Journal of the American Society of Nephrology**. 2006. 17, 2275-2284
21. SOCIEDADE PORTUGUESA DE NEFROLOGIA. Relatório Gabinete de Registo da SPN – Tratamento Substitutivo Renal da DRC Estádio V em Portugal, Relatório anual. [internet] **Sociedade Portuguesa de Nefrologia**. 2016
22. LIMA A.F.C., GUALDA D.M.R. - Reflexão sobre a qualidade de vida do cliente renal crónico submetido à hemodialise. **Nursing- Revista técnica de enfermagem**, 2000. v.3 n.30, 20-23
23. OLIVEIRA A.M., SCHMITZ W.O. – Índices hematológicos em pacientes hemodialisados tratados com eritropoietina. Interbio. [online] 2007 [consultado a 10 setembro 2017] v.1. Disponível em: < URL: [www.unigran.br/interbio/vol1\\_num1/arquivos/artigo1.pdf](http://www.unigran.br/interbio/vol1_num1/arquivos/artigo1.pdf) >

24. DAUGIRDAS J.T, [et al.] - Manual de diálise. Medsi.1999. 2ªed, 661p.
25. ADRNP, Associação de Doentes Renais do Norte de Portugal - Pioneiros da Diálise. [Online] Associação dos Doentes Renais do Norte de Portugal. 2006. [Consultado a 04/01/2018] Disponível em: < URL: <http://www.adrnp-sede.org.pt/pioneiros.html>. >
26. MOTA P.C. [et al.] - Pulmão e transplante renal. **Revista Portuguesa de Pneumologia**. 2009. v.XV n. 6. 1073-1099
27. JINDAL K., [Et al.] - Canadian Society of Nephrology Committee for Clinical Practice Guidelines. **Journal of the American Society of Nephrology**. 2006 Mar; 17 (3 Suppl 1):S1-27
28. BORTOLOTTO L.A., [Et al.] - Hipertensão secundária. **Tratado de cardiologia da Socesp. Barueri: Manole**. 2005 p. 486-505
29. BORTOLOTTO L.A. - Hipertensão arterial e insuficiência renal crônica. **Departamento de Cardiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**. 2008. vol.15(3):152-155
30. SARAFIDIS P.A., [Et al.] - Valores-alvo de pressão arterial para doentes com doença renal crônica. **Sociedade Portuguesa de Hipertensão**. 2013. 14:N 55
31. KDIGO - Clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease - Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). **KDIGO**. 2009. 76 (Suppl 113): S1-130.
32. MELAMED M.L., [Et al.] - Changes in serum calcium, phosphate, and PTH and the risk of death in incident dialysis patients: a longitudinal study. **Kidney International**. 2006. 70(2):351-7.

33. TENTORI F. [et al.] - Mortality risk for dialysis patients with different levels of serum calcium, phosphorus, and PTH: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). **American Journal of Kidney Diseases**. 2008. 52(3):519-30.
34. NEVES W.S., RAMALHO H.J. - Acidose Metabólica na Insuficiência Renal Crônica. **Revista Brasileira Terapia Intensiva**. 2001. 13(2); 63-67
35. RIELLA M.C. - Insuficiência Renal Crônica - Princípios de Nefrologia a Distúrbios hidroeletrólíticos. **Rio de Janeiro-RJ: Guanabara Koogan**. 1988. 292-31
36. TRYGGVASON K, PATRAKKA J, WARTIOVAARA J. - Hereditary Proteinuria Syndromes and Mechanisms of Proteinuria. **New England Journal of Medicine**. 2006. 354(13), p.1387-401
37. KDOQI - Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: evaluation, classification and stratification. **American Journal of Kidney Diseases**. 2002; 39:S1-266.
38. ALVES M.A.R. - Diagnóstico de Doença Renal Crônica: Avaliação de Proteinúria e Sedimento Urinário. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. 2004. v.XXVI - nº 3 – (Supl. 1), 6-7
39. D'AMICO G., BAZZI C. - Pathophysiology of proteinuria. **Kidney International**. 2003. 63(3):809-25.
40. VISWANATHAN G., UPADHAYAY A. - Assessment of Proteinuria. *Advances in chronic kidney disease*. 2011.18(4):243-8.
41. KIRSZTAN G. - Proteinúria: muito mais que uma simples dosagem. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. (2010) 46(3)

42. PFUETZENREITER F, [Et al.] - Morbidade e mortalidade em hemodiálise: importância do seguimento pré-dialítico e da fonte de financiamento. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. 2007. 29(1):19-24.
43. PERES LA, [et al.] - Estudo epidemiológico da doença renal crônica terminal no oeste do Paraná. Uma experiência de 878 casos atendidos em 25 anos. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. 2010; 32(1):51-6.
44. CHACRA A.P., [Et al.] - Classificação das dislipidemias. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**. 2005. 15(6):465-9.
45. KLAFKE A., [Et al.] - Perfil lipídico de pacientes com insuficiência renal crônica em tratamento conservador, hemodiálise ou diálise peritoneal. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. 2005. 27(2):116-23.
46. LAURINAVICIUS A.G., SANTOS R.D. - Dislipidemia, estatinas e insuficiência renal crônica. **Revista Brasileira da Hipertensão**. 2008. vol.15(3):156-161
47. BATISTA M., Oliveira C.J. - Alterações metabólicas **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. 2004. 26(1):15-9
48. APPEL G.B., CURBAN G.C., SHERIDAN A.M. - Lipid abnormalities in patients with chronic kidney disease not requiring dialysis. **UpToDate** [Internet]. 2014. [consultado a 10 setembro 2017]. Disponível em: < URL: [www.uptodate.com/contents/lipid-abnormalities-in-patients-with-chronic-kidney-disease-not-requiring-dialysis?source=search\\_result&search=lip+abnormalities+in+patients+with+chronic+kidney+disease&selectedTitle=1%7E150](http://www.uptodate.com/contents/lipid-abnormalities-in-patients-with-chronic-kidney-disease-not-requiring-dialysis?source=search_result&search=lip+abnormalities+in+patients+with+chronic+kidney+disease&selectedTitle=1%7E150) >
49. KDIGO - Clinical Practice Guideline for Anemia in Chronic Kidney Disease. **Journal of the International Society of Nephrology**. 2012. v.2 issue 4
50. WORLD HEALTH ORGANIZATION - Worldwide prevalence of anemia 1993-2005 **WHO Global Database on Anaemia**. 2008.

51. LORENZI T.F., [Et al.] – Manual de Hematologia, Propedêutica e Clínica. 3ªed. **Medsa**. 2003
52. DIREÇÃO GERAL DE SAÚDE - Norma nº 030/2013 – Abordagem, Diagnóstico e Tratamento da Ferropénia no Adulto. 2013. [Atualizado a 2015] [Consultado a 15 setembro 2017] v.11. Disponível em: < URL: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0302013-de-31122013-pdf.aspx>. >
53. FONSECA C., NUNES A.R., MARQUES F., CORTEZ J., BRILHANTE D. - Estudo Epidemiológico para Determinação da Prevalência da Anemia e do Défice de Ferro na População Portuguesa - Estudo Empire. In: Portugal A-AWG, **20º Congresso Nacional de Medicina Interna**. 2014.
54. HSU C.Y., BATES D.W., KUPERMAN G.J., CURHAN G.C. - Relationship between hematocrit and renal function in men and women. **Kidney International**. 2001. 59(2):725-31.
55. KAZMI W.H., KAUSZ A.T., KHAN S., ABICHANDANI R., RUTHAZER R., OBRADOR G.T., [et al.] Anemia: an early complication of chronic renal insufficiency. **American Journal of Kidney Diseases**. 2001. 38(4):803-1
56. LEVEY A.S., STEVENS L.A., SCHMID C.H., ZHANG Y.L., CASTRO A.F. 3rd, FELDMAN H.I., [et al.] - A new equation to estimate glomerular filtration rate. **Annals of Internal Medicine** . 2009. 150(9):604-12.
57. ABENSUR H. - Anemia da Doença Renal Crônica. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. 2004. Volume XXVI - nº 3 - Supl. 1, 26-27
58. BRENNER B.M. - Brenner and Rector's. **The kidney 8th Ed**. 2008. 2:1728-43

59. WISH J.B. - Hematologic Manifestations of Chronic Kidney Disease. **Greenberg A, Cheung Ak, Coffman Tm, Falk RJ, Jennette JC ed's. Primer on Kidney Diseases. Philadelphia. Saunders Elsevier. 2009. 506-513**
60. HÖRL W.H. - Clinical Aspects of Iron Use in the Anemia of Kidney Disease. **Journal of the American Society of Nephrology. 2007 18: 382–393**
61. SACHER R.A., MCPHERSON R.A. - Widmann's Clinical Interpretation of Laboratory Tests. 11 ed. Washington: **Manole**; 2002.
62. JURKOVITZ C.T., ABRAMSON J.L., VACCARINO L.V., [et al]: Association of high serum creatinine and anemia increases the risk of coronary events: results from the prospective community-based atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. **Journal of the American Society of Nephrology. 2003. 14: 2919 -2925**
63. MCCLELLAN W.M., FLANDERS W.D., LANGSTON R.D. [et al] - Anemia and renal insufficiency are independent risk factors for death among patients with congestive heart failure admitted to community hospitals: a population-based study. **Journal of the American Society of Nephrology. 2002. 13:1928**
64. BESARAB A., FRINAK S., YEE J. - An Indistinct Balance: The Safety and Efficacy of Parenteral Iron Therapy. 1999. 10: 2029–2043
65. LÖNNERDAL B., DEWEY K.G. – Epidemiologia da deficiência de ferro no lactente e na criança. **Anais Nestlé. 1996. V.52, p.11-17**
66. MAHAN L.K., SCOTT-STAMP S. – Krause: alimentos, nutrição & dietoterapia. 10<sup>a</sup> ed. São Paulo, Rocca. 2002
67. COOK J.D., BAYNES R.D., SKIKNES B.S. – Iron deficiency and the measurement of iron status. **Nutrition Research Reviews. 1992. v.5, p.189-202**

68. WISH J.B. - Assessing iron status: Beyond serum ferritin and transferrin saturation. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**. 2006. 1[Suppl], p.S4–S8,
69. K/DOQI - Clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for anemia in chronic kidney disease in adults. **American Journal of Kidney Diseases**. 2006. 47[Suppl 3], p.S11–S145
70. KALANTAR-ZADEH K. – The Fascinating but Deceptive Ferritin: To Measure It or Not to Measure It in Chronic Kidney Disease?. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**. 2006. 1, p.S9-S18
71. THEIL E.C. – At the crossroads of iron and oxygen metabolism. **Journal of Nutrition**. 2003. 133[suppl 1], p.1549S-1553S
72. HARRISON P.M., AROSIO P. The ferritins: Molecular properties, iron storage function and cellular regulation. **Biochim Biophys Acta**. 1996. 1275, p.161-203
73. COSTA E., PEREIRA B., PEREIRA P. [Et al] - Role of Prohepcidin, Inflammatory Markers and Iron Status in Resistance to rhEPO Therapy in Hemodialysis Patients. **American Journal of Nephrology**. 2008. 28, p.677-683
74. FERNANDEZ-RODRIGUEZ A.M., GUINDEO-CASASUS M.C., MOLERO-LABARTA T., DOMINGUEZ-CABRERA C., HORTAL-CASCON L., PEREZ-BORGES P., VEGA-DIAZ N., SAAVEDRA-SANTANA P., PALOP-CUBILLO L. - Diagnosis of iron deficiency in chronic renal failure. **American Journal of Kidney Diseases**. 1999. 34, p.508–513
75. MACDOUGALL I.C., COOPER A.C. - Erythropoietin resistance: the role of inflammation and pro-inflammatory cytokines. **Nephrology Dialysis Transplantation**. 2002. 17 (Suppl 11), p.39-43

76. SCHINDLER R., SENF R., FREI U. - Influencing the inflammatory response of hemodialysis patients by cytokine elimination using large-pore membranes. **Nephrology Dialysis Transplantation**. 2002. 17, p.17-9
77. WEISS G., GOODNOUGH L.T. - Anemia of chronic Disease. **The New England Journal of Medicine**. 2005. 352, p.1011-23
78. STENVINKEL P., BARANY P., HEIMBURGER O., PECOITS-FILHO R., LINDHOLM B. - Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: what is the role of interleukin-6?. **Kidney International**. 2002. 80(3), p.103-8
79. ABENSUR H.; BASTOS M.G.; CANZIANI M.E.F. - Aspectos atuais da anemia na doença renal crônica. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. 2006. v.28, n.2, jun, p.104-107
80. BARROS F. [et al.] - Anemia na doença renal crônica – da evidência à prática clínica. **Acta Médica Portuguesa**. 2011. v.4, n.24, p.869-874
81. BREGMAN R. - Anemia na doença renal crônica. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. 2009 v.1, n.31(Supl 1), p.36-41
82. CANZIANI M.E.F. [et al]. Deficiência de ferro e anemia na doença renal crônica. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. 2006. v.28, n.2, jun. p.86 -90
83. DALLALIO G., FLEURY T., MEANS R.T. - Serum hepcidin in clinical specimens. **British Journal of Haematology**. 2003. 122 p.996–1000
84. GANZ T. - Heparin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. **Blood**. 2003. 102, p.783–788
85. SMITH A.G. – Prescribing iron. **Prescribers' Journal**. 1997. 37, p.82-7

86. BARROS F., NETO R., VAZ R., PESTANA M. – Anemia na doença renal crónica: da evidência à prática Clínica. **Acta Médica Portuguesa**. 2011. 24, p.869-874
87. COSTA E., LIMA M., ALVES J. [et al.] - Inflammation, T Cell Phenotype, and Inflammatory Cytokines in Chronic Kidney Disease Patients Under Hemodialysis and its Relationship to Resistance to Recombinant Human Erythropoietin Therapy. **Journal of Clinical Immunology**. 2008. 28, p.268- 275.
88. JONES M, IBELS L, SCHENKEL B, ZAGARI M. - Impact of epoetin alfa on clinical end points in patients with chronic renal failure: a meta-analysis. **Kidney International**. 2004. 65(3), p.757-67
89. ALEXANDER M., KEWALRAMANI R., AGODOA I., GLOBE D. - Association of anemia correction with health related quality of life in patients not on dialysis. **Current Medical Research and Opinion**. 2007. 23(12), p.2997-3008
90. LOCATELLI F., ALJAMA P, BÁRÁNY P., CANAUD B., CARRERA F, ECKARDT K.U., HÖRL W.H., MACDOUGAL I.C., MACLEOD A., WIECEK A., CAMERON S. - European Best Practice Guidelines Working Group: Revised European best practice guidelines for the management of anaemia in patients with chronic renal failure. . 2004. 19(suppl 2), p.ii1–ii47.
91. KANBAY M., PERAZELLA M., KASAPOGLY B., KOROGLU M., COVIC A.. - Erythropoiesis stimulatory Agent – Resistant Anemia in Dialysis Patients. Review of causes and Management. **Blood Purification**. 2010. 29, p.1-12.
92. HOFFBRAND A.V., PETTIT J.E., P.A.H. MOSS – Fundamentos em Hematologia. 4ªed. Porto Alegre. **Artmed Editora**. 2004.
93. PÁDUA M.M. – Patologia Clínica para Técnicos: Tomo III - Hematologia/Citologia. 1ªed. Loures. **Lusociência**. 2011.

94. WISH J.B. - Assessing Iron Status: Beyond Serum Ferritin and Transferrin Saturation. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**. 2006. 1, p.S4-S8
95. MACDOUGALL I.C., CAVILL I., HULME B., BAIN B., MCGREGOR E., MCKAY P., SANDERS E., COLES G.A., WILLIAMS J.D. - Detection of functional iron deficiency during erythropoietin treatment: A new approach. **BMJ**. 1992. 304, p.225–226
96. SCHAEFER R.M., SCHAEFER L. - The hypochromic red cell: A new parameter for monitoring of iron supplementation during rhEPO therapy. **Journal of Perinatal Medicine**. 1995. 23 p.83–88
97. TESSITORE N., SOLERO G.P., LIPPI G., BASSI A., FACCINI G.B., BEDOGNA V., GAMMARO L., BROCCO G., RESTIVO G., BERNICH P., LUPO A., MASCHIO G. - The role of iron status markers in predicting response to intravenous iron in haemodialysis patients on maintenance erythropoietin. **Nephrology Dialysis Transplantation**. 2001. 16, p.1416–1423
98. LORENZ M., WINKELMAYER W.C., HORL W.H., SUNDER-PLASSMANN G. - Anaemia after renal transplantation. *European Journal of Clinical Investigation*. 2005. 35[Suppl 3], 89–94
99. KALANTAR-ZADEH K., RODRIGUEZ R.A., HUMPHREYS M.H.- Association between serum ferritin and measures of inflammation, nutrition and iron in haemodialysis patients. **Nephrology Dialysis Transplantation**. 2004. 19, p.141-149
100. BOVY C., TSOBO C., CRAPANZANO L., RORIVE G., BEGUIN Y., ALBERT A., PAULUS J.M. - Factors determining the percentage of hypochromic red blood cells in hemodialysis patients. **Kidney International**. 1999. 56 p.1113–1119
101. SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS – Instruções de utilização ADVIA® Chemistry. **Siemens Healthcare Diagnostics Inc**. Tarrytown. 2016 Jun

102. FORTIN M.-F. – O Processo de Investigação: da concepção à realização. 1ªed.  
Loures. **Lusociência**. 1999.