



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA EM SAÚDE**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**QUANTIFICAÇÃO DO DEHP EM LINHAS DE HEMODIÁLISE REPROCESSADAS
FABRICADAS EM PVC**

Nome: Fernanda Maria

Orientadora: Prof^a Dra. Beatriz Luci Fernandes

CURITIBA

2011

FERNANDA MARIA

**QUANTIFICAÇÃO DO DEHP EM LINHAS DE HEMODIÁLISE REPROCESSADAS
FABRICADAS EM PVC**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia em Saúde. Área de concentração: Bioengenharia, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Tecnologia em Saúde

Orientadora: Dra. Beatriz Luci Fernandes

CURITIBA

2011

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central

Maria, Fernanda
M332q Quantificação do DEHP em linhas de hemodiálise reprocessadas fabricadas
2011 em PVC / Fernanda Maria ; orientadora: Beatriz Luci Fernandes. – 2011.
79 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná,
Curitiba, 2011
Bibliografia: f. 63-73

1. Hemodiálise. 2. Tubulações em PVC. 3. Cromatografia. I. Fernandes,
Beatriz Luci. II. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de
Pós-Graduação em Tecnologia em Saúde. III. Título.

CDD 20. ed. – 617.461059



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia em Saúde

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA EM SAÚDE
DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº-147

Aos 15 dias de dezembro de 2011 realizou-se a sessão pública de defesa da dissertação:
"Qualificação do DEHP em Linhas de Hemodiálise reprocessadas fabricadas em PVC,"
apresentada por **Fernanda Maria**, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em
Tecnologia em Saúde – Área de Concentração – Bioengenharia perante uma Banca Examinadora
composta pelos seguintes membros:

Profª. Drª. **Beatriz Luci Fernandes**,
PUCPR (Orientadora e presidente)



assinatura

APROVADO

parecer (aprov/ reprov.)

Prof. Dr. **Roberto Pecoits Filho**,
PUCPR (Examinador)



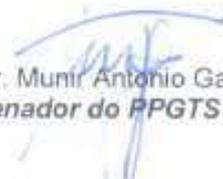
APROVADO

Prof. Dr. **Arquimedes Gasparotto Junior**,
UNIPAR (Examinador)



APROVADO

Conforme as normas regimentais do PPGTS e da PUCPR, o trabalho apresentado foi considerado
APROVADO (aprovado/reprovado), segundo avaliação da maioria dos membros desta
Banca Examinadora. Este resultado está condicionado ao cumprimento integral das solicitações da
Banca Examinadora registradas no Livro de Defesas do Programa.


Prof. Dr. **Munir Antonio Gariba**,
Coordenador do PPGTS PUCPR



Dedico este trabalho a
A Vó Dalva (in memoriam)
Aos meus pais Arlindo e Helenir,
À minha irmã Roberta e
Ao meu esposo Ravanelli.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Beatriz Luci Fernandes, pela dedicação, carinho e paciência, pelos importantes ensinamentos científicos que foram fundamentais do início ao término deste trabalho.

Aos meus pais Arlindo e Helenir, minha irmã Beta e aos demais familiares, por todo amor, carinho e apoio incondicional.

Ao meu esposo Ravanelli, pelo amor, companheirismo e paciência.

Aos pacientes de hemodiálise da Clínica Cajuru, pela disponibilidade em participar deste projeto, permitindo a coleta de sangue.

A toda equipe de enfermagem, médicos, assistentes administrativo da Clínica Cajuru, pela colaboração.

Ao Dr. Roberto Pecoits por permitir acesso ao serviço de hemodiálise da Clínica Cajuru.

A Profa. Dra. Lia Nakao e toda a equipe do laboratório por disponibilizar o equipamento de cromatografia.

A Hosp Med, principalmente Sr. Ruimar e a Helena pela paciência e compreensão durante a realização deste trabalho.

Aos colegas de trabalho que souberam compreender, com paciência e carinho, que muitas vezes enfrentaram o mau humor e ansiedade na realização deste trabalho. Em especial a Fer Souza pela colaboração na metodologia e formatação deste trabalho.

Aos meus amigos que fizeram parte deste trabalho sempre me ajudando e incentivando.

E principalmente a Deus, pela presença constante em minha vida, por ter me dado forças para continuar quando eu queria desistir.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para realização deste trabalho, seja pela ajuda constante ou por uma palavra de amizade os meus sinceros agradecimentos.

“ A vida não é um corredor reto e tranquilo que nós percorremos livres e sem empecilhos,mas um labirinto de passagens, pelas quais nós devemos procurar nosso caminho, perdidos e confusos, de vez em quando presos em um beco sem saída. Porém se tivermos Fé, uma porta sempre será aberta para nós, não talvez aquela sobre a qual nós mesmos nunca pensamos, mas aquela que definitivamente se revelará boa para nós.”

(A. J. Cronin)

RESUMO

Muitas pessoas que sofrem de doença renal Crônica, DRC, são submetidas a terapias renais substitutivas dentre elas a hemodiálise, a mais aceita e utilizada, que é um tratamento intermitente realizado três vezes por semana em sessões com duração entre três e quatro horas. A circulação extracorpórea utilizada na terapia de hemodiálise é formada por um conjunto de tubos em circuito fechado onde o sangue sai de um vaso através do equipo arterial, passa pelo dialisador e retorna ao paciente através do equipo venoso. Estes circuitos são fabricados em policloreto de vinila, PVC, um dos polímeros mais utilizados na indústria de produtos para saúde. Para tornar o PVC flexível são incorporados plastificantes como o di (2-etil hexil ftalato), DEHP, que constitui de 20 e 40% a massa do PVC. Por ser um plastificante, o DEHP não se liga covalentemente ao polímero sendo, por isso, liberado com facilidade para o meio em que o PVC está em contato e muitos estudos tem demonstrado seu potencial tóxico ao organismo. Por ser lipossolúvel, o DEHP se agrega aos tecidos adiposos e aos fluidos corpóreos que contem gorduras como os tecidos subcutâneos, leite materno e tecido hepático. Este trabalho tem o objetivo de quantificar o DEHP liberado pelo PVC no sangue de pacientes durante sessões de hemodiálise. Para tanto, a exposição de pacientes DEHP proveniente do circuito extracorpóreo em primeiro uso e reutilizado (linhas sanguíneas e dialisador) em procedimento de hemodiálise de 4 h de duração foi investigada em 5 pacientes voluntários. Amostras contendo 10 ml de sangue foram coletadas 15 min. Após o inicio da sessão e 15 min antes do seu término, procedimento adotado pelo período de vida útil do circuito. Foram também coletadas amostras de 10 ml de sangue de 3 voluntários saudáveis. As amostras tiveram o plasma isolado por centrifugação e armazenado em -80°C a fim de evitar a degradação do DEHP. A análise das amostras foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, CLAE, depois da padronização e do desenvolvimento de metodologia específica. Os valores obtidos foram convertidos em unidade de massa e analisados estatisticamente. Os resultados mostraram que a heparina inserida no circuito durante o procedimento afeta a metabolização do DEHP, pois, entre os pacientes que tiveram o mesmo fluxo sanguíneo, o não heparinizado (P2) apresentou uma massa média acumulada de 113,27 mg, enquanto que o P1 e P3 tiveram uma massa de 23,67 mg e 43,07 mg, respectivamente. O fluxo de sangue visivelmente afetou a massa de DEHP detectada, pois considerando os pacientes heparinizados, a média entre P1 e P3 (300 ml/min.) foi 33,42 mg, enquanto que a média entre P4 e P5 (350 ml/min.) foi 170,10 mg. Foi possível observar claramente que ocorreu aumento da quantidade de DEHP ($\mu\text{g/ml}$) entre o início e o final das sessões em todos os pacientes. A comparação entre o plasma dos pacientes e dos voluntários saudáveis comprovou a maior exposição dos primeiros ao DEHP. O menor valor encontrado nos voluntários foi de $0,012 \pm 0,050 \mu\text{g/ml}$ e o menor valor médio entre os pacientes foi de $0,330 \mu\text{g/ml}$. A comparação entre o IMC dos pacientes e a quantidade de DEHP detectada apresentou correlação: quanto maior o IMC, maior a quantidade de DEHP acumulada. Os resultados mostraram que, embora existam vários parâmetros que afetam a quantidade de DEHP acumulada no organismo, os procedimentos de hemodiálise que utilizam PVC como material de fabricação expõe os pacientes a maior quantidade de DEHP comprometendo ainda mais a qualidade de vida do indivíduo já debilitado.

Palavras-chave: DEHP, hemodiálise, cromatografia líquida de alta eficiência.

ABSTRACT

Many people that have chronic kidney disease are subjected to renal therapies, among them, the hemodialysis, the most accepted and use being a treatment performed three times per week in sessions periods between three and four hours. The blood lines used in hemodialysis therapy consists of a set of tubes in a closed circuit where the blood comes out of a blood vessel through the tubing, pass through the dialyzer and back to the patient through the venous tubing. These circuits are made of polyvinyl chloride, PVC, a polymer commonly used in health products industry. To make PVC flexible plasticizers are incorporated like the di (2-ethyl hexyl phthalate), DEHP, from 20 to 40% weight of PVC. The plasticizer, DEHP does not bind covalently to the polymer and, therefore, is easily released to the environment in which the PVC is in contact with and many studies have demonstrated its potential toxicity to the body. Because it is fat soluble, the DEHP binds to fatty tissues and body fluids that contain fats such as subcutaneous tissue, breast milk and liver tissue. This work aims to quantify the DEHP released from PVC to the blood of patients during hemodialysis sections. To this end, was quantified the DEHP released in blood of 5 volunteers from the extracorporeal circuit in its first use and reuse (dialyzer and blood lines), during the hemodialysis procedure of 4 h. Samples containing 10 ml of blood were collected 15 min. after the beginning of the session and 15 min before the end of the sessions, the procedure was adopted during the working life of the circuit. Samples were collected from 10 ml of blood from 3 healthy volunteers. The plasma samples were isolated by centrifugation and stored at - 80°C to avoid degradation of DEHP. Sample analysis was performed by High Performance Liquid Chromatography, HPLC, after standardization and development of specific methodology. The values obtained were converted into units of mass and statistically analyzed. The results showed that heparin inserted into the circuit during the procedure affects the metabolism of DEHP since among patients, who had the same blood flow, the non-heparinized (P2) had an average mass of accumulated 113.27 mg, while the P1 and P3 had a mass of 23.67 mg and 43.07 mg, respectively. The blood flow visibly affected the mass of DEHP detected, because considering the heparinized patients, the mean between P1 and P3 (300 ml/min) was 33.42 mg, while the average between P4 and P5 (350 ml/min) was 170.10 mg. It was possible clearly to see that there was an increased amount of DEHP ($\mu\text{g/ml}$) between the beginning and end of the sessions in all patients. The comparison between the plasma of patients and healthy volunteers showed the greatest exposure to DEHP on the first group. The lowest value found in the volunteers was $0.012 \pm 0.050 \mu\text{g/ml}$, and the lowest rate among patients was $0.330 \mu\text{g/ml}$. The comparison between the IMC of the patients and the amount of DEHP detected correlated: the higher the IMC, the greater the amount of DEHP accumulated. The results showed that, although there are several parameters that affect the amount of DEHP accumulated in the body, the hemodialysis procedures that use PVC as a material of manufacture expose patients to toxic amounts of DEHP and its metabolic, further compromising quality of life of individuals already weakened.

Key-words: DEHP, hemodialysis, high performance liquid chromatography (HPLC)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Principais órgãos formadores do sistema urinário.....	17
Figura 2.	Suprimento sanguíneo no rim.....	18
Figura 3.	Estrutura do néfron.....	19
Figura 4.	Procedimento de diálise peritoneal.....	23
Figura 5.	Ilustração do processo de hemodiálise, mostrando o dialisador e a circulação extracorpórea formada pela linha arterial e venosa.....	24
Figura 6.	Localização da fístula arteriovenosa, principal acesso à hemodiálise...25	
Figura 7.	Sistema de circulação extracorpórea, mostrando os tubos de PVC que conduzem o sangue durante a hemodiálise.....	26
Figura 8.	Formação da cadeia polimérica do PVC a partir do monômero cloreto de vinila.	28
Figura 9.	Plastificante dentro da estrutura molecular de um polímero semicristalino como o PVC, servindo como espaçadores das cadeias.	29
Figura 10.	A difusão do plastificante para o meio ocorre devido à diferença de concentração de plastificante entre os mesmos, no sentido do mais concentrado (esquerda) para o menos concentrado (direita).....	30 30 30 30
Figura 11.	Estrutura química do DEHP.....	31
Figura 12.	Equipamento de CLAE utilizado na análise.....	44
Figura 13.	Esquema mostrando o processo de detecção do composto químico através da CLAE.....	44
Figura 14.	Amostra após centrifugação, mostrando o sobrenadante coletado para análise do DEHP em CLAE e as proteínas isoladas.	45 45
Figura 15.	Injeção da amostra.....	46
Figura 16.	Detecção do DEHP em fase móvel em, aproximadamente, 8 min. (seta).	47
Figura 17.	Cromatograma de paciente renal crônico e solução padrão.	48
Figura 18.	Espectro do padrão DEHP, mostrando o comprimento de onda de 245 nm.	51
Figura 19.	Compara comparação entre as médias da liberação do DEHP ($\mu\text{g/ml}$) das sessões para cada paciente e os valores encontrados nos voluntários saudáveis.....	58 58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Critérios de inclusão e exclusão dos sujeitos da pesquisa.	41
Tabela 2.	Pacientes e o número de reuso	49
Tabela 3.	Equação de regressão linear para cada dia de análise usando o CLAE...	53
Tabela 4.	Resultados DEHP, em µg/ml, encontrado em pacientes.	54
Tabela 5.	Resultados da análise de DEHP no sangue dos voluntários saudáveis	54
Tabela 6.	Resultados da análise de DEHP no sangue dos pacientes.	55
Tabela 7.	Massa corporal do paciente, liberação média de DEHP por sessão e mg/dia de DEHP.....	59
Tabela 8.	Idade, IMC e MDEHP por sessão da amostra de estudo.	59

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Estadiamento da doença renal.....	21
Quadro 2.	Propriedades físicas do DEHP.	31
Quadro 3.	Doses estimadas de DEHP (mg/kg/dia) liberadas em procedimentos médicos usando produtos em PVC.	37
Quadro 4.	Respostas orgânicas a exposição em dose de DEHP de 750 mg/kg em ratos machos.....	38
Quadro 5.	Métodos analíticos usados na determinação de DEHP em materiais biológicos.	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância
BUN: uréia nitrogenada no sangue
CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência
DEHP: di (2-etil hexil) ftalato
DOP: di- octil- ftalato
DRC: Doença Renal Crônica
FAV: Fístula arteriovenosa
FDA: Food and Drug Administration
HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência
H: Horas
ICR: Insuficiência Renal Crônica
IRA: Insuficiência Renal Aguda
IMC: Índice de Massa Corporal
SBN: Sociedade Brasileira de Nefrologia
PVC: cloreto de polivinil
TRS: terapia renal substitutiva
SUS: Sistema Único de Saúde
MCV: Monômeros de Cloreto de vinila
Kg: Quilograma
l: litro
m² : metro quadrado
ml: mililitro
MEHP: mono (2 etilhexil) ftalato
MIN.: Minuto
nm: nanômetro
N: normal
NaOH: Hidróxido de sódio
(NH₄)SO₄: Sulfato de amônio
OMS: Organização Mundial da Saúde
ppm: parte por milhão
R: coeficiente de correlação
R²: coeficiente de determinação
RDC: Resolução da Diretoria Colegiada
rpm: rotação por minuto

TOTM: trioctiltrimelitato

TEHTM: tri 2 (etilhexil) trimelitato

TCLE: Termo de consentimento livre e esclarecido

TG: Temperatura de transição vítrea

UV-VIS: ultravioleta visível

μ l: microlitros

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 OBJETIVOS	16
1.1.1 Objetivo geral	16
1.1.2 Objetivos específicos.....	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 SISTEMA URINÁRIO	17
2.2 DOENÇA RENAL	20
2.3 PROCEDIMENTOS DE DIÁLISE	22
2.4 POLICLORETO DE VINILA (PVC) E DI-ETIL HEXIL FTALATO (DEHP).....	27
2.5 DEHP EM CONTATO COM O ORGANISMO	32
2.5.1 Detecção do DEHP em materiais biológicos	38
3 METODOLOGIA.....	41
3.1 POPULAÇÃO E AMOSTRA	41
3.2 Coleta e armazenagem das amostras de sangue	42
3.3 VARREDURA DE ESPECTRO DO PADRÃO DEHP	42
3.4 Quantificação de DEHP em CLAE	43
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
4.1 COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE.....	49
4.2 VARREDURA DE ESPECTRO DO PADRÃO DE DEHP	50
4.3 QUANTIFICAÇÃO DO DEHP	51
CONCLUSÕES	61
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	62
REFERÊNCIAS.....	63
ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEP-PUCPR	14
ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	14

1 INTRODUÇÃO

A Doença Renal Crônica, DRC, é uma síndrome complexa que tem como consequência uma progressiva e lenta perda da capacidade excretória renal, ou seja, redução progressiva da filtração glomerular, principal mecanismo de excreção de solutos tóxicos eliminados pelo organismo (DRAIBE, 2002).

Na DRC os sintomas manifestam-se muito lentamente e com a progressão da doença ocorre um acúmulo de substâncias tóxicas no sangue levando o paciente a apresentar sintomas que não parecem estar vinculados à doença como fadiga, cansaço, espasmos musculares, hipertensão arterial, redução do volume da urina, falta de ar, inchaço, falta de apetite, náuseas, coma e confusão mental. Geralmente, os sintomas aparecem após a perda de mais de 50% da função renal (MAZERA, 2008; SILVA, 2008).

De acordo com os estudos de Capellari (2007) grande parte dos casos de DRC é descoberta em fase terminal, tendo que se iniciar imediatamente a terapia renal substitutiva, TRS.

No Brasil, as Terapias Renais Substitutivas utilizadas são hemodiálise, diálise peritoneal ou transplante renal. Dentre estas terapias, a Hemodiálise é a mais utilizada. Esses tratamentos substituem parcialmente a função renal, aliviam os sintomas da doença e preservam a vida do paciente, porém, nenhum deles é de caráter curativo (MARTINS; CESARINO 2005).

A hemodiálise é uma terapia realizada através da depuração do sangue, com auxílio de uma circulação extracorpórea na qual o sangue é impulsionado por uma bomba, passa por um dialisador que o depura e retorna ao paciente. O dialisador utilizado para a depuração é composto por túbulos conhecidos como capilares constituídos por uma membrana semipermeável, dispostos em feixe dentro de um cilindro oco. Por dentro destes capilares passa o sangue e, banhando-os, passa o dialisato em contra fluxo ao sangue (CAPELLARI, 2007).

Os circuitos extracorpóreos, ou linhas arteriais e venosas, utilizados na terapia de hemodiálise são fabricados, geralmente, em policloreto de vinila, PVC. O PVC é um dos polímeros mais utilizado na indústria de produtos para saúde por ser facilmente processado, pelo baixo custo das matérias primas envolvidas na sua formulação e por apresentar propriedades adequadas a várias aplicações. Mais de

25% de todos os plásticos utilizados em produtos médicos são constituídos de PVC (TICKNER *et al.*, 2000; ESTEVES *et al.*, 2007).

O PVC é constituído de uma cadeia de átomos de carbono e cloro unidos através de ligações covalentes, formando um polímero rígido. Para tornar o PVC flexível são incorporados plastificantes como o di (2-etil hexil ftalato), DEHP, também conhecido como di (octil-ftalato), DOP. O DEHP constitui de 20 a 40% a massa do PVC e este plastificante não se liga covalentemente ao polímero sendo, por isso, liberado com facilidade para o meio em que o PVC está em contato (DINE *et al.*, 2000).

Muitos estudos tem demonstrado efeitos tóxicos da exposição ao DEHP. O emprego de PVC nas sessões de hemodiálise, que duram cerca de 4 h, tem aumentado a preocupação com a migração deste aditivo para o sangue que pode provocar efeitos adversos à saúde humana (MONTEIRO, 2005; DINE *et al.*, 2000). Por serem lipossolúveis, os ftalatos se agregam aos tecidos adiposos e aos fluidos corpóreos que contem gorduras como tecidos subcutâneos, leite materno e tecido hepático (JAROŠOVÁ, 2006).

Stroheker *et al.* (2006), em um estudo em ratas grávidas e filhotes, verificaram que o DEHP atravessa a barreira placentária. A administração de 750 µg de DEHP para cada 100 g de massa corporal em ratos da linhagem Wistar, ocasionaram aumento de glicose sanguínea, alteração em hormônios tireoidianos como T3 e T4 e diminuição de insulina e glicogênio do fígado (GAYATHRI, 2004).

No Brasil, as pesquisas relacionadas com a contaminação do sangue a partir do uso de materiais plásticos são ainda incipientes. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA, de acordo com a RDC nº 154 de 15 de junho de 2004, autoriza a reutilização de equipos para hemodiálise e dialisador para o mesmo paciente até 12 vezes, quando utilizado reprocessadores que medem apenas o volume interno do capilar, ou até 20 vezes quando utilizado máquina automática de reprocessamento que realize teste de integridade das fibras do dialisador. Esta decisão pode causar problemas ainda mais graves devido à degradação do material utilizado várias vezes sendo, portanto, objeto de controvérsias.

Este trabalho tem o objetivo de determinar a quantidade de DEHP liberada pelo PVC no sangue de pacientes durante sessões de hemodiálise, desde o primeiro uso do circuito até o seu descarte. Com os resultados, pretende-se quantificar e avaliar a

liberação de DEHP do circuito, contribuindo para pesquisas futuras que envolvam o desenvolvimento de novos materiais plásticos na utilização em produtos médicos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Quantificar o DEHP liberado em circuitos durante as sessões de hemodiálise através de análise em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, CLAE.

1.1.2 Objetivos específicos

1. Padronizar a metodologia para quantificação de DEHP em plasma;
2. Quantificar o DEHP durante uma sessão de hemodiálise desde o primeiro uso até o final da vida útil do circuito reprocessado;
3. Avaliar a influência do procedimento de hemodiálise na concentração de DEHP no plasma sanguíneo, comparada com voluntários saudáveis;
4. Avaliar a influência do IMC na concentração de DEHP liberado no plasma sanguíneo de pacientes submetidos ao procedimento de hemodiálise.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Neste capítulo são abordados o sistema urinário, os tratamentos dialíticos utilizados enfatizando a hemodiálise, a circulação extracorpórea, o PVC e o plastificante DEHP. São também abordados relatos de sintomas adversos em pacientes com DRC e que possam estar relacionados com efeitos tóxicos do DEHP.

2.1 SISTEMA URINÁRIO

O sistema urinário, ilustrado na figura 1, é composto pelos ureteres, bexiga e uretra, além dos órgãos responsáveis pela formação da urina, os rins.

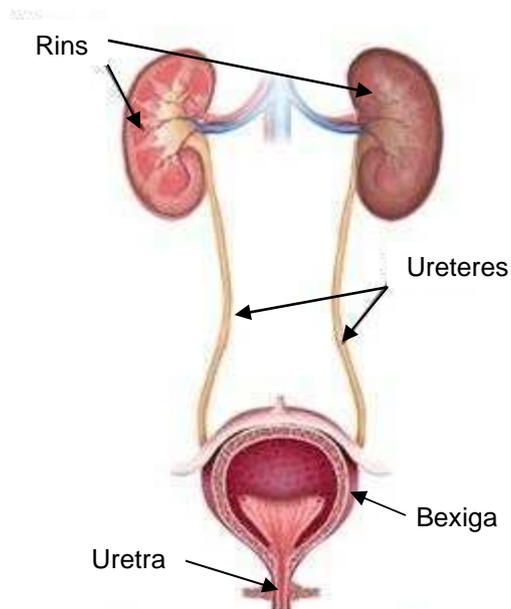


Figura 1. Principais órgãos formadores do sistema urinário.
Adaptado de: THE HUMAN URINARY TRACT SYSTEM (2010).

Os rins, em número de dois, são órgãos excretores, de coloração marrom-avermelhada, localizados posteriormente ao peritônio parietal (retroperitoneais), com comprimento entre 110 e 130 mm, largura entre 50 e 75 mm e espessura entre 25 e 30 mm. Sua massa varia entre 125 e 170 g no homem e entre 115 e 155 g na mulher, contribuindo com 0,5% da massa corporal (DANGELO; FATTINI, 2002; RIELLA *et al.*, 2003).

Os rins com funcionamento normal produzem entre 1,0 e 1,5 L de urina por dia que é excretado pelos ureteres e fica armazenado na bexiga até a eliminação pela urina (The Human Urinary Tract System, 2010; SOUZA; ELIAS, 2006).

O órgão possui duas faces, anterior e posterior, e duas bordas, medial e lateral. Suas duas extremidades, superior e inferior são conhecidas como pólos e acima do pólo superior encontra-se a glândula suprarenal pertencente ao sistema endócrino (DANGELO; FATTINI, 2002). Cada rim recebe uma artéria renal principal que se origina da aorta ao nível da primeira ou segunda vértebra lombar. A figura 2 ilustra como é efetuado o suprimento sanguíneo do rim (RIELLA *et al.*, 2003).

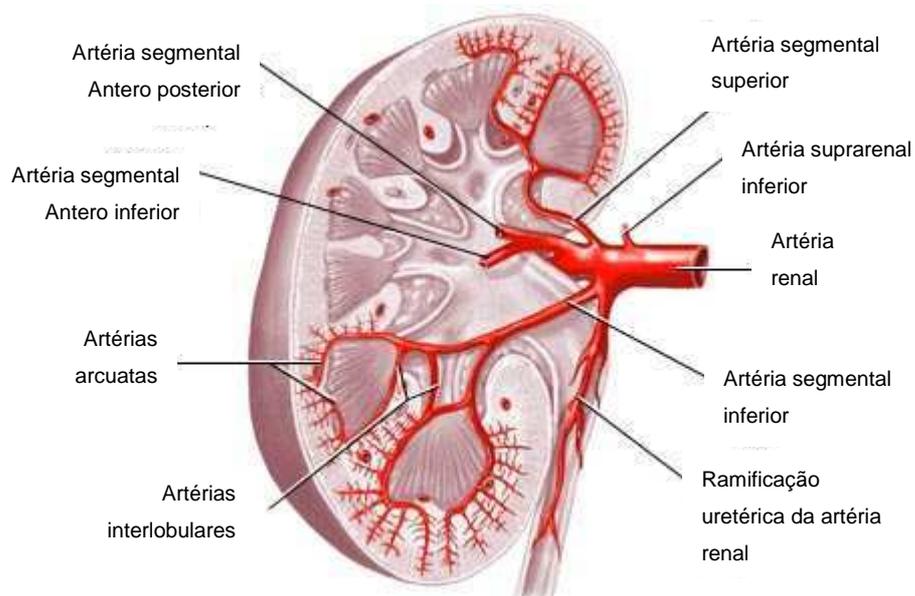


Figura 2. Suprimento sanguíneo no rim.
Adaptado de: KIDNEY BLOOD SUPPLY (2011).

O fluxo sanguíneo através dos rins representa de 20 a 25% do débito cardíaco correspondendo a 400 ml de sangue por 100 g de tecido renal por minuto, 5 a 50 vezes maior que o de outros órgãos. O fluxo sanguíneo renal é muito maior que a necessidade metabólica. O filtrado glomerular possui, aproximadamente, a mesma composição iônica e de substâncias cristaloides idênticas ao plasma, exceto em relação às proteínas que se encontram em quantidades diminutas e sem a presença de elementos figurados do sangue (SOUZA; ELIAS, 2006; RIELLA *et al.*, 2003).

Os rins são formados por unidades de filtração chamadas néfrons, figura 3, dentro dos quais ocorre o processo de filtração e formação da urina. Um rim é composto de cerca de 1.200.000 néfrons, funcionando alternadamente, de acordo com a necessidade do organismo. O processo de filtração tem início dentro de cada néfron em estruturas chamadas glomérulos (rede de até 50 capilares sanguíneos) que enviam os produtos para um sistema de túbulos, os túbulos renais, onde continua o processo de eliminação de certas substâncias e de absorção de outras (SOUZA; ELIAS, 2006; RIELLA *et al.*, 2003).

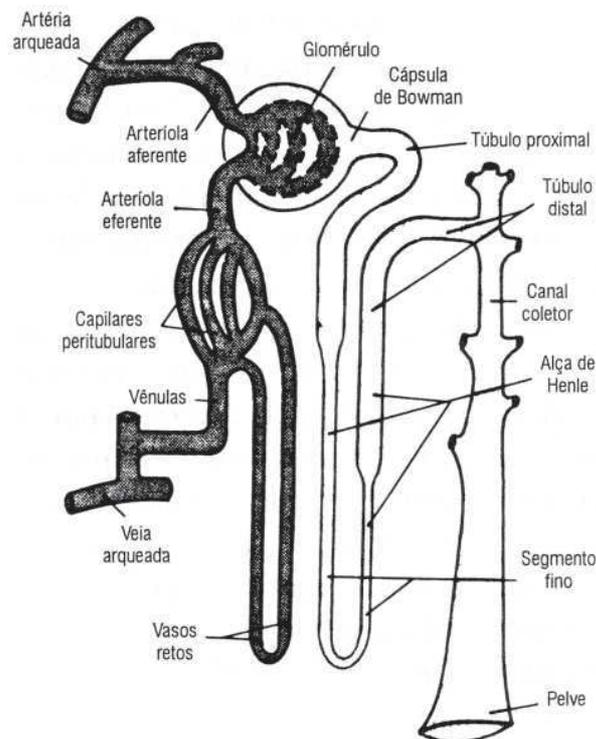


Figura 3. Estrutura do néfron (SOUZA; ELIAS, 2006).

A função essencial do néfron é a depuração de toxinas do plasma sanguíneo, substâncias estas que devem ser eliminadas do organismo. Cerca de 1/5 do volume que atravessa o glomérulo é filtrado (SOUZA; ELIAS, 2006).

Durante as atividades orgânicas normais, ocorre a decomposição de proteínas, lipídeos e carboidratos ingeridos, com produção de compostos, principalmente a uréia e a creatinina, que devem ser eliminados do organismo. A urina é um dos veículos de excreção (DANGELO; FATTINI, 2002).

Creatinina e uréia são os principais produtos do metabolismo muscular proveniente dos alimentos ingeridos. Em rins normais, estes metabólicos são produzidos de forma contínua e podem ser identificados no plasma sanguíneo. Com a deterioração da função renal, o nível da creatinina e de uréia no sangue se eleva podendo ser diagnosticada a insuficiência renal, a qual pode ser tratada com hemodiálise ou diálise peritoneal (HELITO; KAUFFMAN, 2007).

A diálise não tem efeito terapêutico sobre os rins tendo apenas uma função de substituição renal. O paciente a utiliza somente durante o período de reabilitação renal ou indefinidamente, caso o quadro seja irreversível (HELITO; KAUFFMAN, 2007).

2.2 DOENÇA RENAL

Insuficiência renal é uma situação na qual ocorre redução da função principal dos rins que é a filtração. A insuficiência renal pode ser classificada em aguda, IRA, e crônica, IRC (HELITO; KAUFFMAN, 2007).

A IRA pode ser definida como perda da função renal, de maneira súbita, independente da etiologia ou mecanismos, provocando acúmulo de substâncias nitrogenadas (uréia e creatinina), acompanhada ou não da diminuição da diurese. A IRA pode ser classificada em IRA pré-renal, renal e pós-renal (COSTA; NETO; NETO, 2003).

A IRC é uma deterioração progressiva da função renal, onde mecanismos homeostáticos entram em falência tendo como resultado, aumento da uremia. Como consequência desta deterioração, ocorre elevação das concentrações séricas ou

plasmáticas de catabólitos provenientes do metabolismo protéico, acarretando um aumento de uréia e creatinina, diagnosticada como insuficiência renal crônica (CAVALCANTE, 2004; CAMPOS, 2002).

A IRC é caracterizada por um índice de filtração glomerular inferior a 60 ml/min/1,73m² de superfície corporal, por três ou mais meses consecutivos (NKF, 2002; STEVES, 2010). O grau da IRC varia conforme o índice de filtração glomerular e valores abaixo de 15 ml/min/1,73m², caracterizam falência renal (DRAIBE; CANDEROGLO, 2004; VARELLA; RUANO, 2005).

Em fases avançadas da IRC os rins não conseguem manter a normalidade do meio interno do paciente que apresenta múltiplas alterações clínico-laboratoriais tais como aumento de creatinina plasmática, albuminúria e uremia. Com o comprometimento da função renal os demais órgãos são também afetados e o paciente renal crônico desenvolve, frequentemente, complicações como edema pulmonar e derrame pleural (LIMA, 2000; BIANCHI, 2009).

A albumina na urina é um marcador de lesão renal, e a taxa de filtração glomerular é, geralmente, estimada usando equações que incluem marcadores de filtração, assim como creatinina no soro e variáveis demográficas características que representam os fatores que afetam a geração de creatinina (STEVES, 2010).

A doença renal pode ser classificada de acordo com a severidade, como mostra o quadro 1.

Quadro 1. Estadiamento da doença renal.

Estágio	Filtração Glomerular (ml/min)	Grau de Insuficiência Renal
0	entre 90 e 120	Função renal normal
1	> 90	Lesão Renal com Função Renal Normal
2	60 – 89	Insuficiência Renal Leve ou Funcional
3	30 - 59	Insuficiência Renal Moderada
4	15 – 29	Insuficiência Renal Severa
5	< 15	Insuficiência Renal Terminal ou Dialítica

Fonte: Adaptado de ROMÃO Jr. (2004).

Além de alterações no aspecto físico, a IRC e o tratamento hemodialítico provocam situações incômodas para o paciente comprometendo o seu estado

psicológico com repercussão pessoal, familiar e social (CESARINO; CASAGRANDE, 1998).

A IRC, muitas vezes, não é facilmente perceptível. Evidências epidemiológicas mostram que a doença vascular é a sua etiologia predominante e vários são os fatores de risco para o seu desenvolvimento, incluindo diabetes, hipertensão e obesidade (STEVES, 2010).

No Brasil, a IRC tem alta morbidade e mortalidade e a sua incidência vem aumentando gradativamente devido ao aumento da expectativa de vida que gera maiores possibilidade de doenças como hipertensão, diabetes melito e obesidade (THOMÉ *et al.*, 2006).

O número de pacientes com IRC terminal, ou estágio 5, tem aumentado constantemente (SILVA, *et al.*, 2009). A prevalência de pacientes em programa crônico de diálise praticamente triplicou nos últimos anos: de 24.000 pacientes em 1994 para 77.589 em 2009 (SESSO *et al.*, 2010; SESSO *et al.*, 2008). Dos pacientes em diálise crônica, 89,6% faz uso da terapia dialítica modalidade hemodiálise e 10,4% faz uso da diálise peritoneal (SESSO *et al.*, 2010).

Estimativas apontam que cerca de 3,1 milhões de brasileiros possuem alguma disfunção renal (1,7% da população) e cerca de 2,0 milhões tem insuficiência renal crônica moderada, grave ou em estágio terminal (SESSO, 2006; VIEIRA *et al.*, 2009) e a sua sobrevida é conseguida através de métodos de filtração artificial ou de transplante renal (LIMA, 2000).

2.3 PROCEDIMENTOS DE DIÁLISE

Até a década de 1960 pouco se podia fazer em prol do paciente renal. No entanto, a partir deste período foram desenvolvidas algumas técnicas terapêuticas para o tratamento da IRC a fim de aliviar os sintomas do paciente e preservar a vida. No Brasil, os tratamentos normalmente utilizados são a hemodiálise, a diálise peritoneal e o transplante renal (CAVALCANTE, 2004) (BEZERRA, 2006).

Dentre estas terapias, o transplante tem demonstrado ser o tratamento ideal por ser o mais adequado para o paciente e de menor custo operacional (SILVA *et*

al., 2009; LIMA, 2000). Entretanto, é grande a dificuldade de obtenção de rins compatíveis e ainda são poucos os centros transplantadores capacitados para realizar o procedimento (LIMA, 2000). O número de transplantes realizados ainda é inferior ao número de novos casos de IRC estágio 5 por milhão de habitantes por ano (SILVA *et al.*, 2009).

A diálise peritoneal e a hemodiálise tem obtido bons resultados, porém implicam em altos custos nos orçamentos da saúde pública e nos programas de assistência a saúde (SILVA *et al.*, 2009). Embora tenham um custo menor em relação ao transplante, quando se analisa o custo anual, os gastos com o transplante são bem menores quando comparados à diálise peritoneal e à hemodiálise (BEZERRA, 2006).

A diálise peritoneal, figura 4, usa o peritônio como membrana semipermeável para depuração de toxinas urêmicas, removendo-se o excesso de água e solutos acumulados no sangue como potássio, uréia, creatinina, consideradas substâncias tóxicas ao organismo. Água e toxinas urêmicas movem-se do sangue e dos tecidos para a solução de diálise por difusão e ultrafiltração (PECOITS, 2003; JACOBOWSKI *et al.*, 2005).

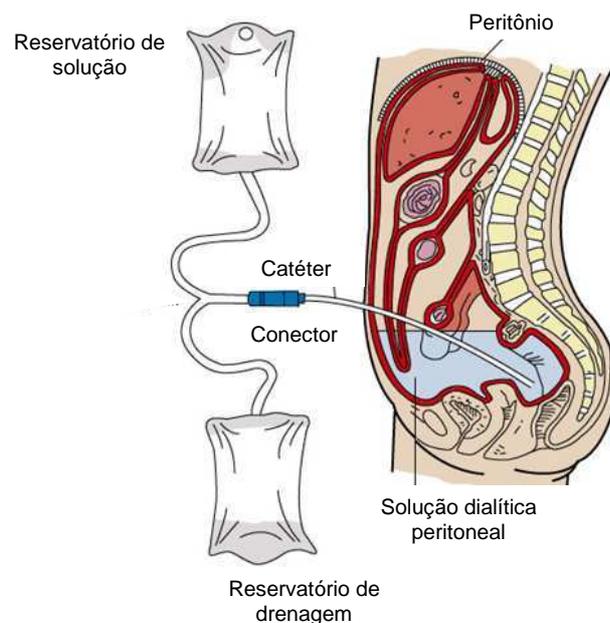


Figura 4. Procedimento de diálise peritoneal.
Adaptado de: Peritoneal Dialysis/Home therapies service, 2011.

A terapia de hemodiálise, ilustrada na figura 5, é realizada através da depuração do sangue durante a circulação extracorpórea. O sangue, que escoia do corpo do paciente, é impulsionado por uma bomba, passa por um dialisador que o depura e retorna ao paciente (SCHIMITT, 2006). A hemodiálise permite a remoção de substâncias tóxicas e fluídos a fim de manter o equilíbrio ácido-base, eletrolítico e volêmico. A remoção dessas toxinas ocorre por dois princípios fisiológicos: a difusão e a ultrafiltração (LARA; SARQUIS, 2004).

O dialisador utilizado para a depuração é composto por tubos, capilares, uma entrada e uma saída. Os capilares, constituídos por uma membrana semipermeável, são dispostos em feixe dentro de um cilindro oco. Por dentro destes passa o sangue, e banhando-os passa o dialisado em contra fluxo ao sangue (CAPELLARI, 2007).

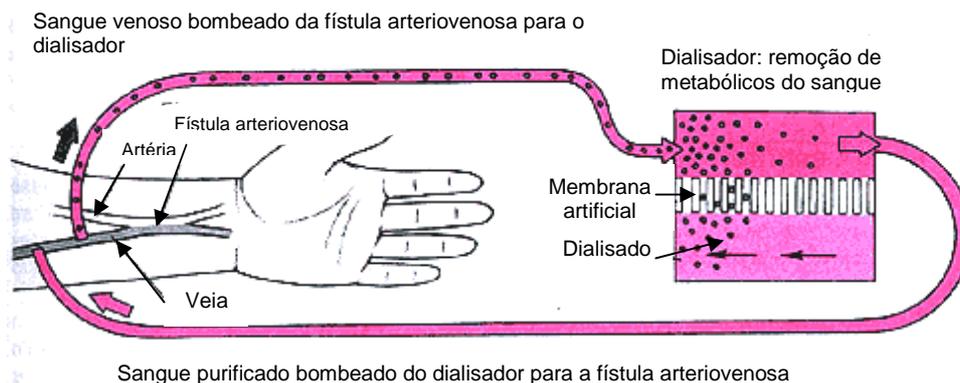


Figura 5. Ilustração do processo de hemodiálise, mostrando o dialisador e a circulação extracorpórea formada pela linha arterial e venosa (MERCK, 2010).

A membrana responsável pelas trocas entre o sangue e o dialisado pode ser constituída de derivados de celulose e de polímeros sintéticos (VARELA; RUANO, 2005).

A solução de diálise contém solutos como sódio, potássio, bicarbonato de sódio, cálcio, magnésio, dentre outros, que entram em equilíbrio com o sangue durante o processo dialítico, mantendo a concentração sérica desses solutos dentro dos limites normais (MALLICK; GOKAL, 1999).

Os equipamentos de diálise possuem vários sensores (pressão, condutividade do dialisato, temperatura, volume do ultrafiltrado) que torna o procedimento seguro e confiável (BERTONCELLO, 2007).

Segundo dados do censo 2008 da Sociedade Brasileira de Nefrologia, SBN, a terapia de hemodiálise continua sendo a mais aceita e utilizada. Esta terapia é, geralmente, realizada em hospitais e clínicas de nefrologia por uma equipe especializada. É um tratamento intermitente que gera um desgaste físico e emocional ao paciente, modificando hábitos e rotinas por ser realizado três vezes por semana em sessões com duração entre três e quatro horas. Durante o procedimento de hemodiálise são administrados anticoagulantes, como heparina, a fim de evitar a formação de coágulos no interior do circuito extracorpóreo (MALLICK; GOKAL, 1999).

O principal método de escolha para acesso à hemodiálise é a fístula arteriovenosa, FAV, em membros superiores, ilustrada na figura 6, que pode ser estabelecida pela anastomose subcutânea de uma extremidade arterial e uma veia. A FAV é a via de acesso vascular permanente de maior durabilidade (LIMA, 2000).



Figura 6. Localização da fístula arteriovenosa, principal acesso à hemodiálise. Adaptado de: SURGERY ARTICLES (2009).

Os circuitos extracorpóreos, especificamente os equipos, são fabricados em PVC, um dos polímeros mais utilizados na indústria de produtos para saúde (ESTEVEES *et al.*, 2007).

No Brasil, os circuitos extracorpóreos utilizados em hemodiálise são reprocessáveis, ou seja, podem ser reutilizados em um mesmo paciente, com anuência da ANVISA, por até 12 vezes se o reprocessamento for manual e por até 20 vezes se o reprocessamento for automatizado. A Figura 7 ilustra um sistema de circulação extracorpórea típico para hemodiálise

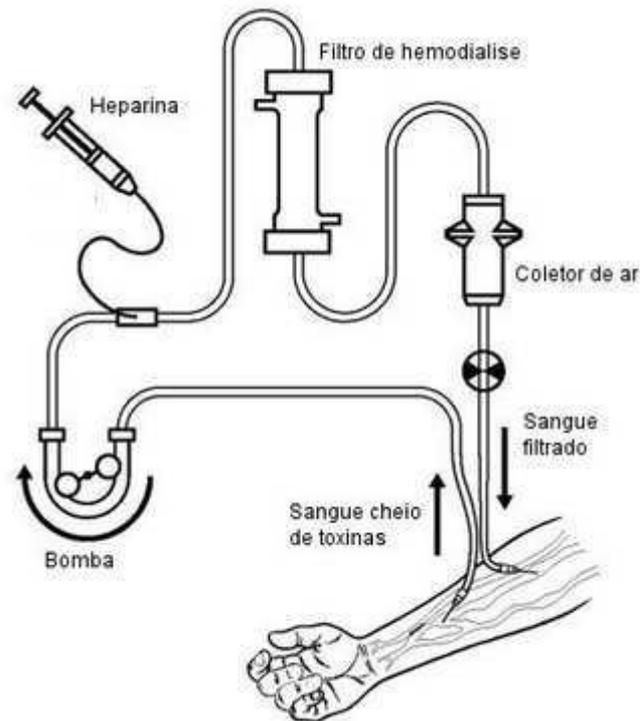


Figura 7. Sistema de circulação extracorpórea, mostrando os tubos de PVC que conduzem o sangue durante a hemodiálise. Adaptado de: NKF (2009).

O reuso de dialisadores é uma prática rotineira em alguns centros de hemodiálise, no entanto, tal prática tem sido objeto de controvérsia por muitos pesquisadores e profissionais da saúde (TWARDOWSKI, 2006).

Nos Estados Unidos da América, ao longo dos últimos anos, tem se observado uma redução progressiva das técnicas de reuso de dialisadores. Em 1997, 80% dos

centros de diálise reutilizavam dialisadores e, em 2005, somente 40%. Alguns estudos tem avaliado e comparado a reutilização e o uso único do dialisador demonstrando que o reuso tem aumentado o número de hospitalização e de mortalidade (UPADHYAY *et al.*, 2007; LACSON; LAZARUS, 2006).

Os fatores que motivam a reutilização de dialisadores são o aumento de custos com a terapia de diálise, o impacto ambiental, a biocompatibilidade das membranas, particularmente as de celulose e a síndrome do primeiro uso, relacionada à esterilização com óxido de etileno. Porém, atualmente, já existem membranas sintéticas e métodos alternativos para a esterilização como os raios gama que minimizam este efeito (UPADHYAY *et al.*, 2007). Dentre os fatores mencionados, o benefício econômico é considerado o maior motivador (UPADHYAY *et al.*, 2007; LOWRIE *et al.*, 2004).

Alguns pesquisadores afirmam que, se o reuso de dialisadores for efetivado de forma adequada e cuidadosa de acordo com protocolo pré-estabelecido, pode ser perfeitamente compatível com um programa de hemodiálise de qualidade, além de diminuir o custo e a quantidade de material plástico descartado (SILVA *et al.*, 2009; MANANDHAR *et al.*, 2009).

2.4 POLICLORETO DE VINILA (PVC) E DI-ETIL HEXIL FTALATO (DEHP)

O PVC é o segundo termoplástico mais consumido em todo o mundo, sendo o mais versátil dentre os plásticos de engenharia, pois permite a incorporação de vários aditivos que modificam as suas propriedades a fim de se adequar a aplicação desejada. Pode ser especificado para comportar-se como um material flexível ou extremamente rígido. Além destas vantagens, os produtos em PVC podem ser obtidos por vários processos de fabricação como moldagem, injeção, extrusão e calandragem (RODOLFO *et al.*, 2007).

O PVC é um polímero de baixa cristalinidade ou amorfo, característica que depende das condições de polimerização. Na forma cristalina pode apresentar índice de cristalinidade de 8 a 10% porém, em condições especiais é possível aumentar este valor. Se obtidos em 5°C podem apresentar cristalinidade em torno

de 15%. Se a polimerização for realizada em -75°C , a cristalinidade aumenta para cerca de 30%. Quanto mais cristalino, mais rígido o material (SUMMERS, 2004).

A cadeia polimérica do PVC é formada a partir da reação de monômeros de cloreto de vinila (CAVENAROLO, 2002). Os átomos de cloro são unidos à cadeia principal através de ligações covalentes polares que conferem rigidez ao polímero. Os plastificantes desestabilizam essas ligações produzindo uma maior flexibilidade e mobilidade à cadeia polimérica que, por sua vez, fornece flexibilidade ao material. O elevado teor de cloro na cadeia do PVC, que o torna uma molécula polar, aumenta a sua afinidade com aditivos, tornando o material extremamente versátil (VINHAS *et al.*, 2003; BOURDEAUX *et al.*, 2003). A Figura 8 ilustra a formação da cadeia polimérica do PVC.

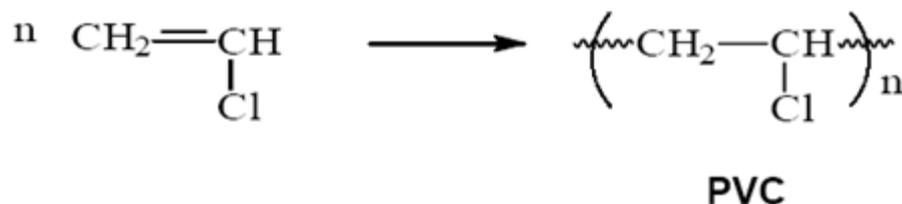


Figura 8. Formação da cadeia polimérica do PVC a partir do monômero cloreto de vinila.
Adaptado de: ZAICONCZ (2004).

Segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada, IUPAC, plastificante é definido como “substância incorporada ao plástico ou elastômero com a finalidade de aumentar a sua flexibilidade, processabilidade ou capacidade de alongamento”. Portanto, o plastificante pode reduzir a viscosidade do material fluido, baixar sua temperatura de transição vítrea, T_g , e diminuir o seu módulo de elasticidade (NUNES, 2002).

Os plastificantes, geralmente, são líquidos inodoros, incolores, com alto ponto de ebulição, insolúveis em água e de baixa volatilidade. Podem ser classificados quimicamente como ésteres ou poliésteres, incluindo outros com base em ácidos adípicos, fosfóricos, sebáceos, trimelíticos ou azeláticos (RODOLFO *et al.*, 2006).

A permanência do plastificante no polímero depende da volatilidade e das forças de atração entre o mesmo e as cadeias do polímero. A migração do plastificante em plásticos é muito comum e pode ser identificada pelo surgimento de

uma superfície “suada” e a ocorrência de trincas devido ao enrijecimento do plástico causado pela falta de plastificante. Por isso, cuidados são necessários na produção de artigos plásticos que entrarão em contato com alimentos e medicamentos, pois, a presença de líquidos remove o plastificante por extração, contaminando o meio (RABELLO, 2000).

Os plastificantes atuam como solventes, provocando o distanciamento entre as cadeias poliméricas, como ilustra a figura 9. Para que isso ocorra é necessário afinidade entre o plástico e o plastificante, estimada pelo parâmetro de solubilidade e pela constante dielétrica (RABELLO, 2000).

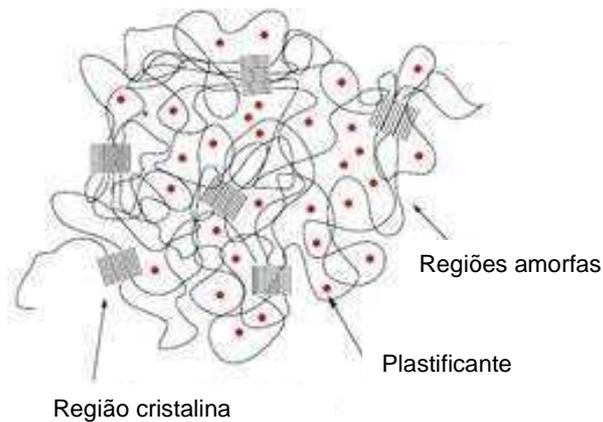


Figura 9. Plastificante dentro da estrutura molecular de um polímero semicristalino como o PVC, servindo como espaçadores das cadeias.
Adaptado de: OFFICE FOR TECHNOLOGY COMMERCIALIZATION (2010).

Por não estarem quimicamente ligados com o polímero, os plastificantes são capazes de migrar para a superfície, sendo removidos. Este processo de migração do plastificante é conhecido como difusão, que obedece a Lei de Fick (SHACKELFORD, 2000) segundo a qual, o fluxo mássico de plastificante para o meio com o qual está em contato, figura 10, é diretamente proporcional à diferença de concentração de plastificante no meio e no plástico, como mostra a equação 1. A constante de proporcionalidade ou coeficiente de difusão do plastificante no polímero, D , em cm^2/s , é característico para cada sistema plástico-plastificante e depende da temperatura, equação 2. Quanto maior a temperatura, mais rápido ocorre a difusão.

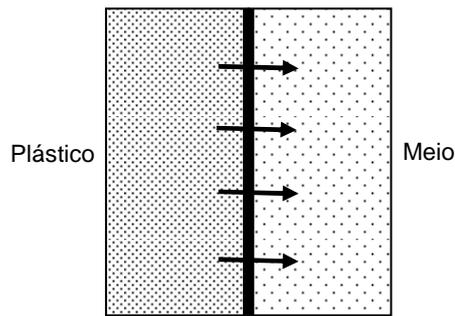


Figura 10. A difusão do plastificante para o meio ocorre devido à diferença de concentração de plastificante entre os meios, no sentido do mais concentrado (esquerda) para o menos concentrado (direita).

$$J = -D (dC/dx)$$

Equação 1

Onde:

J= fluxo de difusão

D= coeficiente de Difusão

dC/dx = gradiente de concentração

$$D = D_0 \exp[-Q_d/R(T + 273,15)]$$

Equação 2

Onde:

D= coeficiente de Difusão

D_0 = pré exponencial

Q_d = energia de ativação para difusão

R = constante do gás

T = temperatura absoluta

Os ftalatos ou ésteres ftálicos são amplamente utilizados como plastificantes pela indústria médica para aumentar a flexibilidade e a processabilidade dos polímeros de alto peso molecular como o PVC, diminuindo a sua temperatura de fusão (KATO *et al.*, 2005; HAISHIMA *et al.*, 2004). Um quarto dos plastificantes produzidos corresponde ao di(2-etil-hexil) ftalato, DEHP ($C_{24}H_{38}O_4$), que está presente, especialmente nos plásticos vinílicos, os quais podem conter até 40% em massa do plastificante. No mínimo, 95% do DEHP produzido é usado como plastificante em PVC, que dentre os plásticos, é o que apresenta capacidade de receber grandes quantidades deste aditivo (MONTEIRO; GOTARDO, 2005).

O DEHP é produzido através da reação entre 2-etilhexanol com anidrido ftálico na presença de ácido ou de um metal como catalisador, em alta temperatura. A Figura 11 ilustra a sua estrutura química.

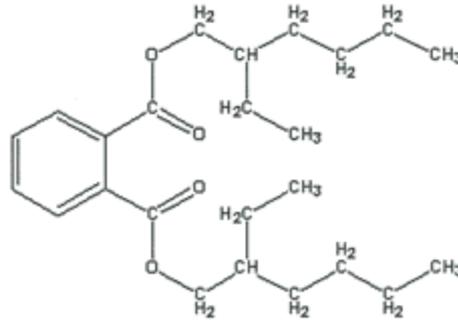


Figura 11. Estrutura química do DEHP (UNIVERSITÉ DE VERSAILLES, 2011).

DEHP é um líquido incolor com odor suave, insolúvel em água, miscível com óleo mineral e hexano e solúvel na maioria dos solventes orgânicos. Dissolve-se rapidamente nos fluidos corpóreos como saliva, sangue e plasma (HINBERG, 2001).

As propriedades únicas dos ftalatos provem de sua estrutura química que contém um anel benzênico, dois grupos carboxila e dois grupos alcoóis. O anel benzênico reduz a viscosidade, porém dificulta a degradação (DiGANGLI *et al.*, 2002).

Algumas propriedades físicas do DEHP são apresentadas no quadro 2.

Quadro 2. Propriedades físicas do DEHP.

Propriedade	Valor
Massa molecular	390,57 g/mol
Ponto de fusão	-46°C
Ponto de ebulição	386°C
Solubilidade em água	Praticamente insolúvel: < 3,0 µg/L em 20°C
Pressão de vapor	4,6 x 10 ⁻⁵ Pa em 25°C
Massa específica	0,99 g/mL

Fonte: Adaptado de HINBERG (2001).

O motivo do uso de PVC com DEHP em produtos médicos é a combinação das suas propriedades mecânicas, propriedades funcionais, facilidade de fabricação e baixo custo. É possível, por exemplo, soldar peças com estes materiais usando solventes ou outros processos de soldagem e a sua flexibilidade permite a utilização em tubos e cateteres inseridos no corpo humano. A maioria dos polímeros alternativos ao PVC que possui as mesmas propriedades tem um custo de 5 a 10 vezes superior ao mesmo (THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON MEDICINAL PRODUCTS AND MEDICAL DEVICES, 2002).

No entanto, durante o ciclo de vida do PVC, ocorre a liberação de químicos altamente perigosos à saúde e ao ambiente. Mercúrio e dioxinas são liberados durante a fabricação dos produtos em PVC. O mercúrio é potencialmente tóxico aos sistemas gastrointestinais, neurológicos e urinários, sendo considerado um indutor do autismo (BERNARD *et al.*, 2001). As dioxinas, também liberadas quando o PVC é queimado, são compostos organoclorados altamente tóxicos, mesmo em quantidades extremamente baixas, conhecidas pelo seu alto potencial carcinogênico e de alteração do sistema imunológico e reprodutivo. O plastificante DEHP é liberado durante o uso dos produtos em PVC e no seu descarte (GOING GREEN, 2006).

Plastificantes alternativos para o PVC são triociltrimelitato, TOTM, Tri-2(etilhexil) trimelitato, TEHTM, e Citrato de acetiltri-n-butila. Plásticos alternativos para uso médico são as poliolefinas metalocênicas, polietileno, copolímero polietileno/polipropileno, polipropileno, acetato etileno vinílico, politetrafluoretileno e silicone (HINBERG, 2001).

2.5 DEHP EM CONTATO COM O ORGANISMO

O ser humano está constantemente exposto a ftalatos presentes em filmes plásticos para embalagem de alimentos e de cosméticos; brinquedos; produtos da construção civil; equipamentos e móveis de escritório; produtos médicos como bolsas de sangue, cateteres, circulação extracorpórea, linhas/equipos de hemodiálise, entre outros (KOCH *et al.*, 2003b; KOCH *et al.*, 2003c; KATO *et al.*, 2005; COURTNEY *et al.*, 1999; RASTOGI *et al.*, 2006).

A adição do DEHP confere ao PVC, além da flexibilidade, ampla faixa de tolerância a temperatura e estabilidade química durante os processos de esterilização (SILVA *et al.*, 2006). Este é o único plastificante ftalato aprovado pelo “Food and Drug Administration”, FDA, para uso em dispositivos médicos como cateteres, equipos de circulação extracorpórea, bolsas sanguíneas, equipos para administração de soluções, sondas nasogástricas, entre outros (SILVA *et al.*, 2006; CALAFAT *et al.*, 2004). No entanto, a exposição do organismo ao DEHP através de procedimentos médicos é muito maior do que qualquer outra exposição no ambiente, pois pode ser introduzido diretamente na corrente sanguínea durante uma transfusão, diálise ou terapias que utilizem tubos plásticos flexíveis (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR DI(2-ETHYLHEXYL) PHTHALATE, 2002).

A preocupação com o DEHP começou a cerca de 30 anos devido ao uso indiscriminado deste plastificante em produtos de aplicações domésticas e industriais e, conseqüentemente, ao aumento da exposição ao produto. Mais recente é a preocupação com a utilização de PVC em produtos médicos. Desde a sua introdução na fabricação das bolsas de sangue, cujo uso em massa ocorreu durante a II Guerra Mundial em 1949, o PVC rapidamente se tornou o produto de escolha para produtos médicos e na década de 1960 aconteceu a primeira pesquisa sugerindo a possibilidade de contaminação do sangue com o uso de bolsas de sangue e tubos e as respostas biológicas aos plastificantes do PVC em estudos *in vivo* em animais. Muitos outros estudos foram realizados na década de 1970, porém sem nenhuma comprovação clínica. Nas décadas de 1980 e 1990, estudos *in vivo* e avaliações clínicas produziram fortes indícios de alterações orgânicas produzidas pela presença de DEHP em tecidos e fluidos corpóreos (THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON MEDICINAL PRODUCTS AND MEDICAL DEVICES, 2002).

Os produtos médicos possuem entre 20 e 40% de DEHP em massa, o que representa cerca de 10 g do plastificante em uma bolsa de sangue (HINBERG, 2001). Dependendo das circunstâncias de uso, de 2% a 50% do conteúdo de DEHP do produto pode ser liberado para o meio (DiGANGLI *et al.*, 2002).

Devido à sua estrutura química e à sua lipossolubilidade o DEHP, difundindo do plástico para o meio, pode ser facilmente absorvido pelo organismo (MONTEIRO; GOTARDO, 2005; HAISHIMA *et al.*, 2004). A difusão do DEHP das linhas de hemodiálise para o sangue depende de diversos fatores, entre eles, temperatura,

tempo de armazenamento do equipo, fluxo da solução dentro do tubo, porcentagem de DEHP no produto e natureza lipofílica da solução em contato com o PVC (CALAFAT *et al.*, 2004).

O alto conteúdo de lipídios presente nas soluções nutricionais oferecidas via parenteral em neonatos facilita a liberação de DEHP dos tubos de PVC, expondo estes pacientes a altas doses deste plastificante. Órgãos regulatórios de alguns países proíbem a utilização de produtos de PVC na administração parenteral de nutrientes em neonatos e em crianças (DiGANGLI *et al.*, 2002).

Muitos estudos identificaram vários medicamentos, que dispersos nos fluidos corpóreos, aumentam de forma significativa a extração de DEHP de produtos de PVC. Entre elas encontra-se a cefoperazona, clordiazepoxida, ciprofloxacino, cimetidina, ciclosporina, etoposida, fluconazol, metronidazol, micronazol, paclitaxel, tacrolimus, taxotera, teniposida, fórmulas nutricionais parenteral e vitamina A (HINBERG, 2001).

Em várias crianças tratadas com ventilação forçada composta por tubos de PVC contendo DEHP, foi diagnosticada a doença da membrana hialina, que causa insuficiência respiratória. O mesmo não ocorre em crianças onde foram usados tubos de acetato de vinilileno que não contem o plastificante. Obstrução bronquial, característica de ataques de asma, é frequente em crianças expostas ao DEHP liberado por assoalhos que se mistura à poeira doméstica (DiGANGLI *et al.*, 2002).

Existem evidências de que crianças entre dois e seis anos de idade expostas ao plastificante são mais susceptíveis à intoxicação, quando comparadas com adultos, através do aumento significativo do metabolismo oxidante (KOCH *et al.*, 2003a). Quando usando equipamentos e dispositivos médicos instalados em unidades de terapia intensiva, as crianças ficam expostas a doses até duas vezes maiores daquelas típicas em adultos que é de 30 µg/kg/dia (WEUVE *et al.*, 2006).

Estes dados são corroborados pelo FDA que justifica a absorção de maior quantidade de DEHP por crianças pelo metabolismo mais acelerado que apresentam (DiGANGLI *et al.*, 2002).

A metabolização *in vivo* do DEHP ocorre de forma rápida e ostensiva. Por isso, a determinação do mesmo pode ser feita, também, através dos seus metabólicos. O principal metabólico produzido é o mono (2-etilhexil) ftalato, MEHP, com efeito tóxico similar ou superior ao DEHP, catalisado pelo plasma e por lipases hepáticas. Como

heparina e DEHP são ativadores da lipase, sugere-se que a exposição de produtos médicos de PVC heparinizados, durante os tratamentos, aumenta a taxa de conversão do DEHP em MEHP. O MEHP sempre acompanha o DEHP e se apresenta sempre em maior quantidade, pois é a soma do MEHP formado *in vitro* e o formado *in vivo* pela hidrólise do DEHP (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR DI(2-ETHYLHEXYL) PHTHALATE, 2002; HINBERG, 2001).

Quando o DEHP é ingerido, o mesmo é rapidamente metabolizado em MEHP e 2-etilhexanol. Este processo metabólico, no entanto, é muito mais lento do que quando o DEHP é inserido diretamente no sangue e muito DEHP ainda permanece no corpo podendo ser expelido pelas fezes. Quando na corrente sanguínea, o DEHP percorre o fígado e os rins, podendo se estocar no tecido adiposo e podendo, ainda, ser secretado através do leite materno. A maioria do DEHP, MEHP e do 2-etilhexanol, deixa o corpo em 24 h através da urina e das fezes (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR DI(2-ETHYLHEXYL) PHTHALATE, 2002; METTANG *et al.*, 1996).

Existe uma grande preocupação sobre o efeito tóxico do DEHP nos rins, pois este órgão é exposto durante a diálise e alguns estudos em ratos expostos ao produto, mostraram alterações renais (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR DI(2-ETHYLHEXYL) PHTHALATE, 2002). Os órgãos considerados alvos da toxicidade do DEHP são os rins, fígado e testículos. Em particular, a hepatomegalia (aumento do fígado) está relacionada à presença do DEHP e do seu metabólico MEHP, considerado pelo FDA como 10 vezes mais tóxico do que o DEHP (THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON MEDICINAL PRODUCTS AND MEDICAL DEVICES, 2002).

Durante o procedimento de transfusão de sangue e hemodiálise, inicialmente existe uma grande quantidade de DEHP e MEHP no sangue. No entanto, o nível de DEHP diminui rapidamente para a metade em 10 h, enquanto o nível de MEHP aumenta até que as concentrações se equilibrem. Entre uma sessão e outra, ambos desaparecem do sangue e a concentração de ácido ftálico aumenta. Isto leva a sugerir que a concentração de ácido ftálico no sangue se correlacione melhor com o nível de exposição do DEHP e do MEHP após a hemodiálise (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR DI(2-ETHYLHEXYL) PHTHALATE, 2002).

Hemodiálise, dentre os procedimentos médicos, é o que fornece a mais alta dose cumulativa de DEHP, devido à sua frequência e longa duração. Os dados mais

confiáveis são aqueles provenientes das determinações de quantidade do plastificante através da diferença entre o início e o final da sessão de 3 a 4 h de hemodiálise. Em alguns estudos, o valor médio encontrado é de 75 mg por sessão (HINBERG, 2001). Sugere-se que o aumento de plastificante no sangue dos pacientes ocorra não apenas como resultado da exposição ao DEHP e de seus metabólitos, mas também devido à diminuição da eliminação urinária desses compostos (METTANG *et al.*, 1996).

Outros estudos *in vitro* e *in vivo* apresentam concentrações de DEHP entre 7,7 e 360 mg no sangue de pacientes, durante a terapia de hemodiálise, em uma única sessão com duração de 4 h (POLLACK *et al.*, 1985; FAOUZI *et al.*, 1999; KAMBIA *et al.*, 2001; NÄSBERGER *et al.*, 1987).

Pacientes submetidos à circulação extracorpórea durante cirurgias cardíacas são expostos a quantidades de DEHP entre 2,2 e 80 mg por procedimento e pacientes transplantados entre 0,5 e 2,5 mg por procedimento (DiGANGLI *et al.*, 2002). Em 1991, a Comissão Europeia de Alimento estabeleceu como dose diária ingerida tolerável de DEHP, 25 µg/kg (JAROŠOVÁ, 2006).

O FDA cita vários estudos que indicam ser o DEHP um estimulador da agregação de plaquetas, o que pode levar à formação de coágulos sanguíneos, podendo causar complicações neurológicas em pacientes submetidos à circulação extracorpórea (DiGANGLI *et al.*, 2002).

A maioria dos estudos sobre os efeitos do DEHP no organismo foram realizados em animais. Efeitos em animais machos incluem alteração na concentração de zinco, atrofia testicular e infertilidade. O FDA tem notado esses mesmos sintomas em pacientes do sexo masculino que fazem tratamento de hemodiálise, sugerindo fortemente a similaridade entre as reações observadas em animais com aquelas observadas em seres humanos. Outras agências de controle sanitário também concluem que os efeitos reprodutivos causados pelo DEHP em animais são relevantes para os seres humanos (DiGANGLI *et al.*, 2002).

O quadro 3 apresenta as doses estimadas e as toleráveis de DEHP provenientes do PVC para alguns procedimentos médicos. Acima das doses toleráveis, o DEHP é considerado agressivo ao organismo.

Quadro 3. Doses estimadas de DEHP (mg/kg/dia) liberadas em procedimentos médicos usando produtos em PVC.

Procedimento	Dose de DEHP liberada	Consumo tolerável
Oxigenação extracorpórea (ECMO) em adulto	3,0	0,6
Oxigenação extracorpórea (ECMO) em neonato	14,0	0,6
Substituição de válvula cardíaca em adulto	0,28	0,6
Transfusão de sangue em neonato	22,6	0,6
Transplante de coração em adulto	2,4	0,6
Hemodiálise em adulto	0,36	0,6
Díálise peritoneal em adulto	< 0,01	0,6
Nutrição parenteral em adulto ou neonato	0,14	0,04

Fonte: DiGANGLI *et al.*, 2002

Quando ratas prenhas são expostas a altas doses orais de DEHP, ocorrem alterações na estrutura óssea, partes do cérebro, fígado e rins nos ratos neonatos. Estas alterações sugerem que o DEHP e seus metabólitos passam através da placenta e atingem o feto. Portanto, seres humanos expostos a altos níveis de DEHP durante a gravidez, podem gerar bebês com problemas nos sistemas nervoso e esquelético. Alguns destes produtos também podem ser transferidos da mãe para o bebê através do leite materno, onde já foram detectados (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR DI(2-ETHYLHEXYL) PHTHALATE, 2002).

Estudos em ratos e camundongos adultos também tem relacionado a exposição ao DEHP com atrofia testicular, toxicidade embrionária, e anomalias no sistema nervoso central (RASTOGI *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2009).

Este comportamento tóxico foi confirmado em estudos *in vivo* em ratos albinos que sofreram atrofia testicular quando foram administradas doses entre 50 e 500 mg de DEHP por kg de massa corpórea, durante 30 dias consecutivos (PARMAR *et al.*, 1995).

A administração de ácido fólico, com objetivo de induzir insuficiência renal crônica em ratos, e concomitante administração de DEHP (2.500 ppm), tem evidenciado aumento do volume urinário e Nitrogênio Uréico Sanguíneo (BUN) no soro, sugerindo toxicidade renal. Também foi observada diminuição da massa dos testículos, da próstata (glândula produtora do líquido espermático), das vesículas seminais (glândulas produtoras do líquido seminal), do epidídimo (duto que coleta e armazena espermatozoides) e diminuição no número de espermatozoides, bem

como mobilidade reduzida dos mesmos, além de danos nos tecidos testiculares e nas glândulas acessórias. Adicionalmente, metabólitos do DEHP foram encontrados no sangue, na urina e nos testículos (NABAE *et al.*, 2006).

Em macacos, o DEHP liberado por bolsas de sangue usadas em transfusão causaram efeitos adversos no fígado. Tais efeitos não foram observados em macacos que receberam sangue estocado em bolsas de polietileno, livre de DEHP. Alterações enzimáticas como as observadas nos animais, são observadas no sangue de pacientes que fazem tratamento de hemodiálise. O processo pelo qual o DEHP atua sobre o fígado causando a anormalidade não é, ainda, entendido, pois nunca foi efetivamente investigado (DiGANGI *et al.*, 2002).

O quadro 4 apresenta as reações causadas em animais machos pela exposição ao DEHP em doses elevadas.

Quadro 4. Respostas orgânicas a exposição em dose de DEHP de 750 mg/kg em ratos machos.

Procedimento	Porcentagem de animais que apresentaram as reações
Machos jovens – desenvolvimento de auréolas e mamilos semelhantes aos femininos	87
Redução do peso do filhote recém nascido	15
Má formação do feto	82
Redução do peso dos testículos em adultos	35
Diminuição da distância anogenital	30
Atrofia testicular e do epidídimo	90

Fonte: DiGANGI *et al.*, 2002.

2.5.1 Detecção do DEHP em materiais biológicos

Existe uma variedade de métodos analíticos disponíveis para a determinação de DEHP em sistemas biológicos. Dentre estes, o método considerado mais preciso, rápido e econômico é a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, CLAE, na qual as amostras são facilmente preparadas e os resultados são obtidos em 15 min. (CHAUDHARY *et al.*, 2010).

A cromatografia separa compostos orgânicos de misturas complexas, identificando-os e quantificando-os através de detectores como espectrofotômetro de massa, SM, e ultravioleta, UV. Antes de se proceder à análise, o DEHP deve ser separado da amostra biológica (sangue, urina ou tecidos) e preparado para a injeção no equipamento analítico. A separação pode ser feita através da extração com solventes orgânicos como clorofórmio, hexano, heptano ou acetonitrila; cromatografia por permeação em gel; precipitação; extração em fase sólida e com Florisil. Para extração de DEHP de tecidos adiposos, geralmente, mais de uma técnica é necessária (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR DEHP, 2002).

Aparentemente, a detecção de DEHP nas amostras biológicas é subestimada devido à sua rápida metabolização *in vivo*. Por isso, é importante analisar, juntamente com o DEHP, os seus metabólicos, principalmente o MEHP. A diferença da análise do DEHP e dos seus metabólicos está no procedimento de preparação da amostra (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR DEHP, 2002).

O quadro 5 mostra os métodos analíticos possíveis de serem utilizados para a determinação de DEHP em materiais biológicos.

Quadro 5. Métodos analíticos usados na determinação de DEHP em materiais biológicos.

Amostra	Método de preparação da amostra	Método analítico	Limite de detecção do DEHP
Soro sanguíneo	Extração com propanol/heptano/ ácido sulfúrico, dissolução em benzeno metilato de ácidos graxos, redissolução em acetona	GC/MS	3 µg/mL
Plasma sanguíneo	Extração com acetonitrila e hexano	GC/MS	0,15 µg/mL
Plasma sanguíneo	Mistura 1:1 com NaOH 1 M, extração com hexano, secagem, ressuspensão em acetonitrila	CLAE/UV	20 ng/mL
Sangue	Extração com acetato de etila	CLAE/UV	0,345 µg/mL
Tecido	Extração com clorofórmio/metanol	GC/MS	0.02 µg/g
Tecido	Extração com clorofórmio/metanol	GC	5 µg/g
Tecido adiposo	Extração com cloreto de metileno, remoção do conteúdo lipídico com cromatografia por permeação em gel, fracionamento com Florisil (eluição com éter dietílico/hexano)	HRGC/MS	9 ng/g

GC = cromatografia gasosa; CLAE = cromatografia líquida de alta eficiência; MS = espectroscopia de massa; HRGC = cromatografia gasosa de alta definição; UV = espectroscopia ultravioleta. Fonte: TOXICOLOGICAL PROFILE FOR DEHP, 2002.

A quantificação do plastificante DEHP no sangue de pacientes submetidos à hemodiálise, foi realizada por Faouzi *et al.* (1999), usando a CLAE. O estudo realizado com 21 pacientes, detectou, durante uma única sessão de hemodiálise, valor médio de 75,26 mg. Com deste resultado, os autores estimaram que, durante um ano, estes pacientes renais crônicos recebem 11,74 g de DEHP, considerando uma sessão de hemodiálise de 4 h, 3 vezes por semana.

Usando CLAE, o DEHP e o subproduto do seu metabolismo, MEHP, foram quantificados por Inoue *et al.* (2005), em 78 amostras de sangue estocadas em bolsas. As concentrações de DEHP encontradas estiveram entre 1,8 e 83,2 µg/ml, enquanto que o MEHP apresentou concentrações entre 0,1 e 9,7 µg/ml.

A quantificação de DEHP em terapia de diálise peritoneal e hemodiálise, através de cromatografia a gás realizada por Nässberger *et al.* (1987), mostrou uma concentração no soro entre 0,8 e 4,2 µg/ml em hemodiálise e entre 0,1 e 0,9 µg/ml em diálise peritoneal.

Apesar de realizado na década de 1970, um estudo *in vivo* de Lewis *et al.* (1978), apresentou dados bastante relevantes para as pesquisas atuais. A concentração média de DEHP analisada no soro pós hemodiálise de 27 pacientes foi de 751 µg/l. Considerando um volume total de sangue de 5 L por paciente, o mesmo está exposto a cerca de 3 mg de DEHP logo após o término do procedimento. Isso corresponde a, no mínimo, 250 mg por ano para um paciente dialisado duas vezes por semana. Como a excreção renal é o principal caminho de eliminação do DEHP e de seus metabólicos, grande parte dos 250 mg podem permanecer acumulados nos rins dos pacientes que já possuem o órgão debilitado. A larga faixa de concentração de DEHP encontrada no soro dos pacientes, entre 250 e 1.946 µg/l, é explicada pela influência exercida pelo hematócrito, contagem de plaquetas, concentração de lipídios e pela função hepática. Um dos pacientes, diagnosticado com hepatite aguda, apresentou concentração de DEHP de 2.000 µg/l. Outra observação interessante feita pelos autores foi em relação aos pacientes que realizaram hemodiálise mais de 50 vezes. Estes apresentaram concentração de DEHP 50% acima daqueles que realizaram poucos procedimentos, sendo sugerido que longo período de hemodiálise, as várias alterações fisiológicas podem alterar a habilidade com que o organismo reage ao DEHP.

3 METODOLOGIA

Este capítulo expõe os procedimentos metodológicos do estudo e compreende o local da pesquisa, o procedimento de coleta e preparação das amostras a serem analisadas e os procedimentos de análise das mesmas.

3.1 POPULAÇÃO E AMOSTRA

A população do estudo foi constituída de 5 pacientes, que realizaram procedimento de hemodiálise, respeitando os critérios de inclusão e exclusão. Para o grupo de indivíduos saudáveis foram selecionados 3 sujeitos que não realizam hemodiálise. Os critérios de inclusão e de exclusão são mostrados na tabela 1.

Tabela 1. Critérios de inclusão e exclusão dos sujeitos da pesquisa.

Critérios de inclusão
Sexo masculino
Possui entre 30 e 65 anos de idade
Portador de insuficiência renal crônica
Realiza terapia de hemodiálise
Realiza hemodiálise entre 12 meses e 12 anos
Realiza hemodiálise 3 vezes por semana
Realiza seções de hemodiálise com 4 horas de duração
Critérios de exclusão
Portador de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA)
Portador de hepatite

Antes de iniciar o estudo, o projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Parecer nº 0004373/10, protocolo CEP nº 5802, Anexo A. Os pacientes voluntários que participaram da pesquisa depois de assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, TCLE, apresentado no Anexo B, realizaram as

sessões de hemodiálise na Clínica Cajuru, localizada na cidade de Curitiba, PR, onde foram coletadas as amostras de sangue.

Todos os voluntários usaram as linhas de hemodiálise pertencentes ao mesmo fabricante e dialisadores com superfície de 2,1 m² de um mesmo fabricante.

3.2 COLETA E ARMAZENAGEM DAS AMOSTRAS DE SANGUE

Após 15 min. do início da sessão de hemodiálise foi coletada, da linha venosa, uma alíquota de 10 ml de sangue. A alíquota foi acondicionada em um frasco heparinizado e centrifugado imediatamente em centrífuga Eppendorf 5702 a 4,4 X 1000 rpm, durante 10 min, para separação do plasma. O plasma foi então pipetado, alíquotado em tubo de ensaio de vidro e congelado a - 20⁰C (FAOUZI *et al.*, 1999). Ao término das coletas as amostras foram armazenadas a - 80⁰C (TAKAHASHI *et al.*, 2008) com o objetivo de evitar a degradação do DEHP até o momento da análise do material em CLAE.

Quinze minutos antes do término da sessão de hemodiálise foi retirada uma segunda alíquota de 10 ml de sangue, também da linha venosa, sendo realizado o mesmo procedimento descrito para a primeira alíquota. Este procedimento foi repetido pelo número de reuso da circulação extracorpórea (dialisador e linhas arterial e venosa), respeitando o volume de “priming”.

O reprocesso do circuito de hemodiálise foi realizado por funcionários da Clínica Cajuru, responsáveis por este procedimento e de acordo com o protocolo hospitalar.

3.3 VARREDURA DE ESPECTRO DO PADRÃO DEHP

Para a preparação das amostras, o DEHP foi adquirido da Sigma Aldrich e os reagentes químicos hidróxido de sódio, ácido ortofosfórico, sulfato de amônia, azida e acetonitrila foram adquiridos da Merck.

Antes do início das análises, 2 µl do padrão de DEHP foi inserido em um espectrofotômetro UV-VIS Nanodrop 1000 a fim de realizar uma varredura de espectro do padrão DEHP e identificar em qual comprimento de onda o detector tinha a melhor resposta.

3.4 QUANTIFICAÇÃO DE DEHP EM CLAE

As análises foram realizadas utilizando um equipamento de CLAE, marca Shimadzu, mostrado na figura 12, com degaseificador modelo DGU-20 e forno para coluna. O equipamento opera com coluna de separação Phenomenex Gemini C₁₈ (5 µm, 4,6 x 250 mm), acondicionada em 40° C, com injetor manual Rheodyne, com forno injetor da Coulochem III e com uma bomba de medição de alta resolução modelo LC-20AD, comprimida com ar. O controle do equipamento e a análise dos dados foram realizados através do programa LC Solution (Shimadzu). O equipamento utiliza, ainda, um detector UV- VIS.

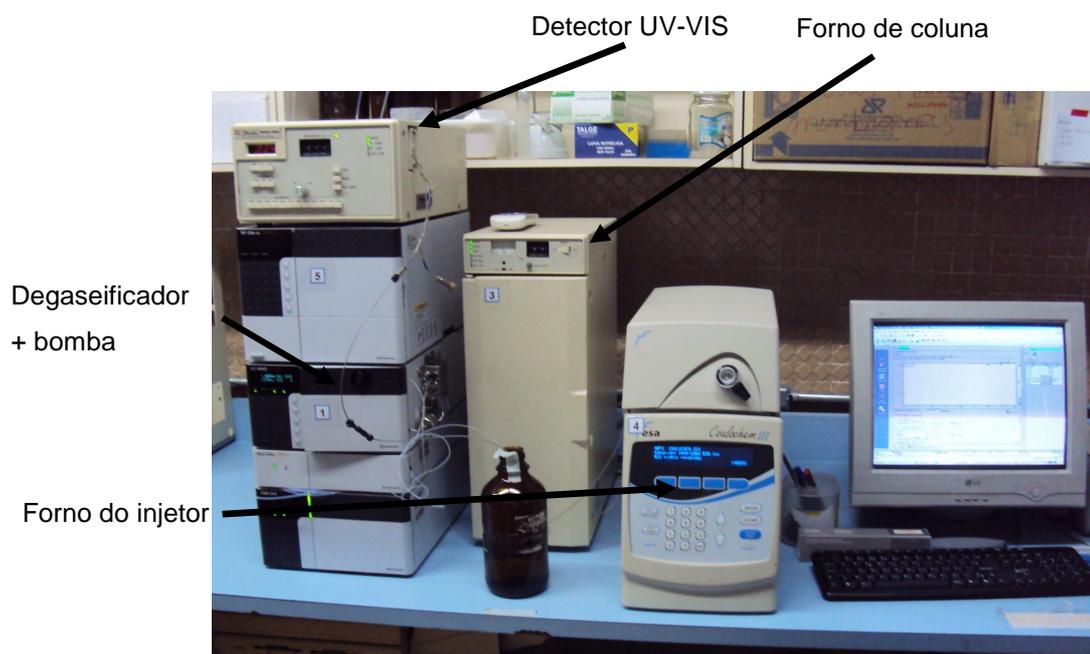


Figura 12. Equipamento de CLAE utilizado na análise

A figura 13 ilustra o sistema de coleta e análise de dados e do equipamento de CLAE.

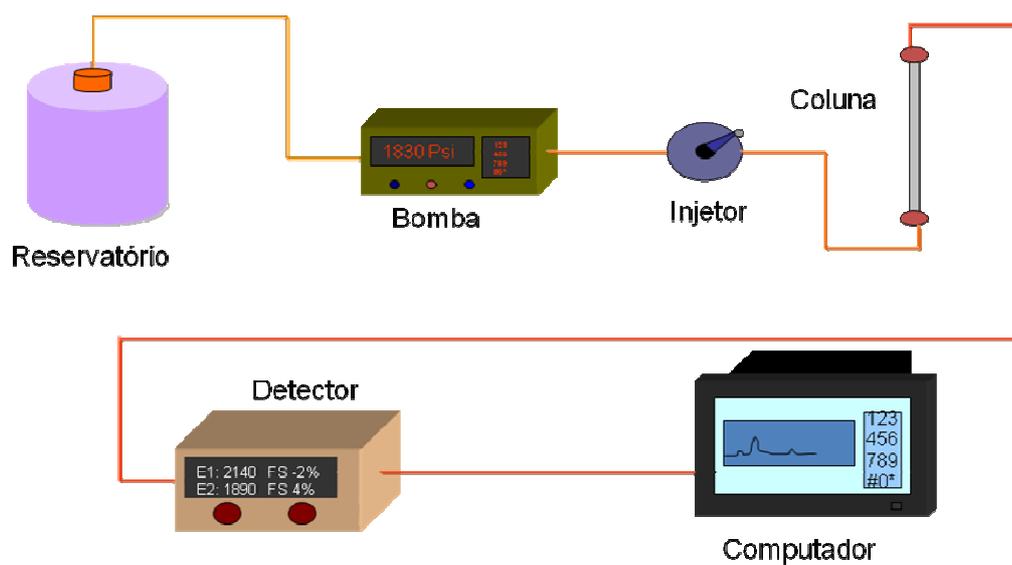


Figura 13. Esquema mostrando o processo de detecção do composto químico através da CLAE

Para que seja possível a análise do plasma pelo CLAE, é necessária a separação das proteínas. Para precipitação de proteínas plasmáticas foram avaliados dois agentes precipitantes: o hidróxido de sódio (NaOH, 1 N e 2 N) e o sulfato de amônio saturado ((NH₄)SO₄) (ZERALK *et al.*, 2008). O NaOH 1N e 2N foram os inicialmente ensaiados com base na referência Dine *et al.* (1991), porém os resultados foram insatisfatórios, pois acarretou em aumento da pressão do sistema do HPLC. Isso ocorreu devido à precipitação ineficaz das proteínas do plasma.

O (NH₄)SO₄ apresentou melhor eficácia e, por isso, foi o adotado como agente precipitante de proteínas. Para identificar a melhor concentração NH₄SO₄, foram ensaiadas quatro amostras contendo 250 µl de plasma e 750 µl de acetonitrila e 100, 150, 200 e 250 µl NH₄SO₄, saturado. Após a mistura, as amostras foram colocadas em vortex por 5 min. e centrifugadas em 13.000 rpm por 20 min. a 4°C. O melhor resultado foi obtido para 250 µl (NH₄)SO₄ e, portanto, este volume foi o adotado nas amostras analisadas.

As amostras de plasma que estavam acondicionadas na temperatura de - 80°C foram descongeladas até a temperatura ambiente, aproximadamente 20°C, quando foi realizada a precipitação das proteínas plasmáticas com 250 µl de sulfato de amônio saturado e 750 µl de acetonitrila adicionados a 250 µl de plasma, colocadas em vortex por 5 min. e centrifugadas em 13.000 rpm por 20 min. a 4°C, obtendo-se as fases mostradas na figura 14.

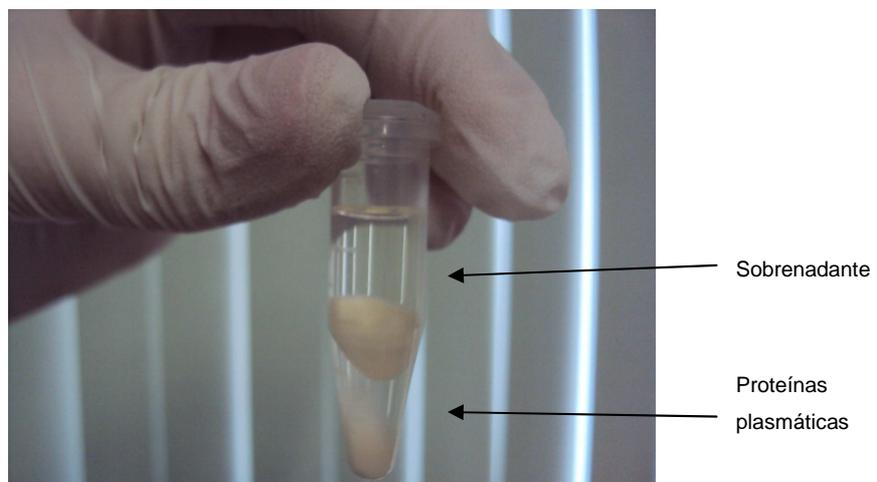


Figura 14. Amostra após centrifugação, mostrando o sobrenadante coletado para análise do DEHP em CLAE e as proteínas isoladas.

O sobrenadante foi isolado e filtrado com filtro de 0,22 μm e uma quantidade de 100 μl foi injetado manualmente no equipamento de CLAE como mostra a figura 15.

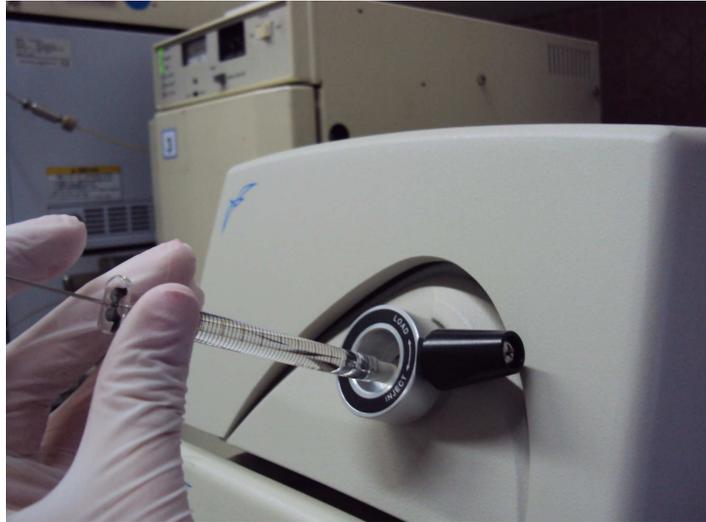


Figura 15. Injeção da amostra

O equipamento contém uma coluna impregnada com sílica de granulometria de 5 μm , chamada de fase estacionária, responsável pela separação dos analitos (fases) presentes na amostra. Esta separação se dá pela diferença de polaridade entre as moléculas da fase móvel e da fase estacionária (COLLINS *et al.*, 1997).

Cem microlitros de plasma foram eluídos na fase móvel, filtrada em membrana de 0,45 μm , composta de 92,5 ml de acetonitrila, 7,5 ml de água mili-Q tamponada (0,2% em volume de trietanolamina, 0,001% em volume de azida, ajustado pH para 2,5 com ácido ortofosfórico).

O analito, DEHP, foi detectado em um tempo aproximado de 8 min., como mostra a figura 16, sob um fluxo de 1,00 ml/min a um comprimento de onda de 245 nm. Vinte e dois minutos de corrida foram acrescentados para garantir que outros produtos originários do plasma fossem eluídos da coluna evitando a danificação da mesma e o entupimento do sistema.

O fluxo de 1 ml/min foi estabelecido levando em conta a eficiência e a resolução do pico cromatográfico.

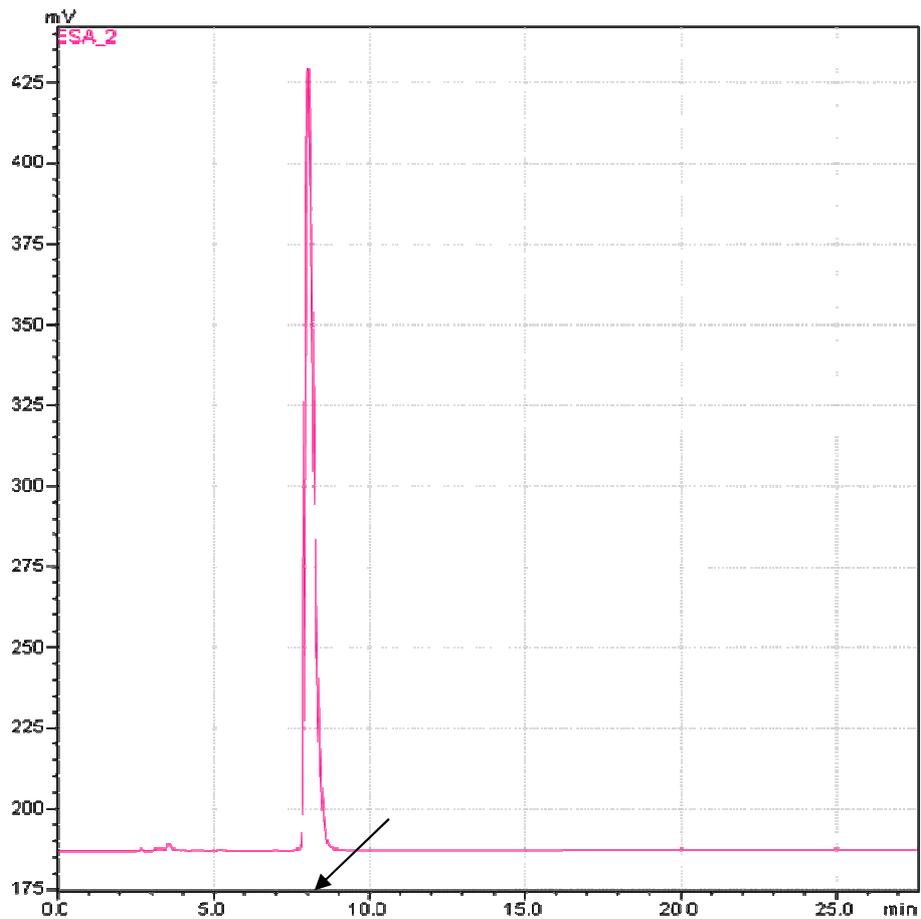


Figura 16. Detecção do DEHP em fase móvel em, aproximadamente, 8 min. (seta).

Antes de iniciar as quantificações no equipamento de CLAE, foi necessária a construção da curva de calibração. Para isso, amostras de plasma de um mesmo voluntário saudável foram usadas em todas as calibrações. Em cinco amostras deste plasma, antes da preparação da precipitação das proteínas, foram adicionadas as seguintes concentrações da solução padrão de DEHP (5 μL de DEHP puro, acetonitrila:água mili-Q na mesma concentração da fase móvel (92,5%:7,5%)): 0,000197 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 0,000394 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 0,000788 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 0,001182 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 0,001576 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 0,00394 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ e 0,00995 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$.

A curva de calibração forneceu um coeficiente de correlação (r) superior a 0,99, garantindo que os volumes sobre as curvas de DEHP, fornecidas pelo equipamento de CLAE, fossem diretamente proporcionais à concentração da substância em análise. A especificidade ou seletividade do método foi avaliada através da injeção da solução padrão de DEHP, de amostras de plasma de sujeitos saudáveis e de pacientes, garantindo que o pico de resposta fosse exclusivo do composto de

interesse, o DEHP. A repetitividade dos resultados foi comprovada pela reprodutibilidade das curvas de calibração (RIBANI *et al.*, 2004). A figura 17 mostra o pico solução padrão de DEHP e um pico de DEHP no plasma de paciente, ilustrando a viabilidade do método.

A significância estatística entre as médias de liberação de DEHP por sessão dos diferentes pacientes foi determinada por ANOVA, onde foi encontrado $p > 0,05$. O coeficiente de Spearman foi utilizado para verificar a correlação entre a média de liberação de DEHP por sessão e o IMC de cada paciente.

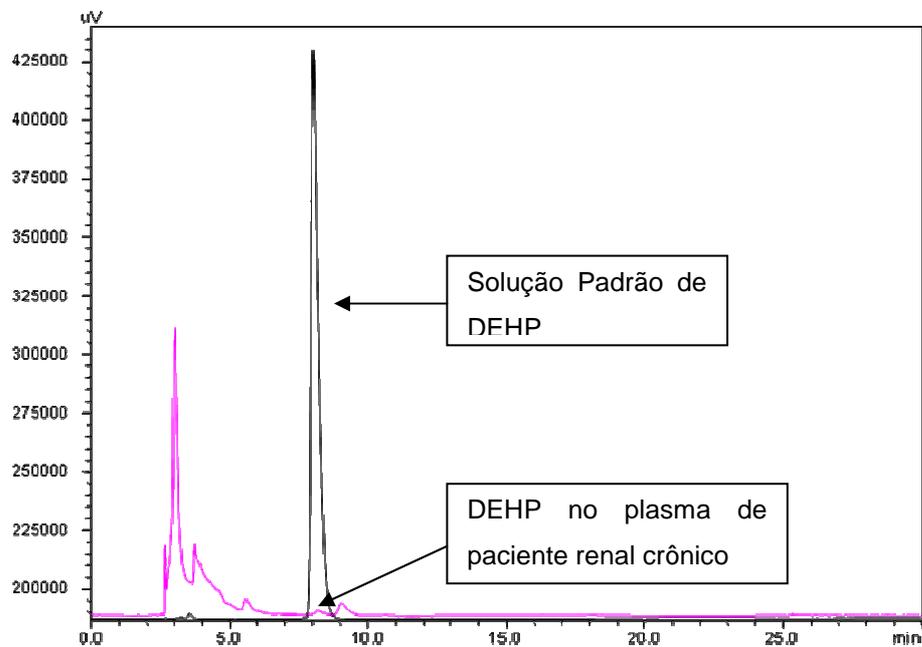


Figura 17. Cromatograma de paciente renal crônico e solução padrão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE

A tabela 2 mostra o número de reuso do circuito (linha de hemodiálise e dialisador) por paciente. O número de reuso foi contado a partir da segunda sessão.

Tabela 2. Pacientes e o número de reuso

Paciente	Número de reuso	Dose de heparina no circuito (UI)	Fluxo Sanguíneo (ml/min)	Tempo de diálise
P1	4	5000	300	3 anos e 3 meses
P2	9	Sem heparina*	300	5 anos
P3	13	6000	300	3 ano e 6 meses
P4	4**	7000	350	4 anos e 4 meses
P5	15	8000	350	4 anos e 9 meses

*Paciente candidato a transplante de rins

**Paciente mudou de turno após a mudança não foi realizado a coleta.

As diferenças no número de reuso do circuito de hemodiálise são devidas ao descarte feito sempre que o prime inicial do dialisador decresceu em 20% ou quando ocorreu o rompimento das fibras do dialisador. Através dos valores apresentados, embora pareça não existir uma relação direta entre a quantidade de heparina e o número de reuso, é de se esperar que a maior quantidade de heparina impeça a formação de coágulos no dialisador, evitando entupimentos e, portanto, aumentando a sua vida útil.

A diferença no número de reuso ocorreu apesar dos circuitos serem do mesmo fabricante. Considerando que todas as condições de tratamento foram repetidas em todas as sessões para cada indivíduo, essa diferença pode ter sido provocada por falha no controle de qualidade do fabricante, por danos ocasionados durante o

procedimento de reprocesso do sistema ou pela dose de heparina administrada ao paciente.

Em relação ao procedimento de limpeza no reprocesso, o mesmo exige o fluxo de água no dialisador em pressão de aproximadamente 25 psi. Esse fluxo pode ser automatizado ou manual. Um fluxo manual impede a verificação da pressão de água o que pode levar à danificação do feixe de fibras do dialisador, diminuindo a sua vida útil. Vale mencionar que a maioria dos fabricantes registra o circuito na ANVISA para uso único, porém a RDC 154 autoriza a sua reutilização em até 20 vezes.

4.2 VARREDURA DE ESPECTRO DO PADRÃO DE DEHP

Utilizando o padrão DEHP puro, o espectrofotômetro emitiu um cromatograma, figura 18, através do qual foi possível a identificação da faixa de absorbância do composto. Foi definido, portanto, o comprimento de onda de 245 nm, como aquele que identifica o DEHP.

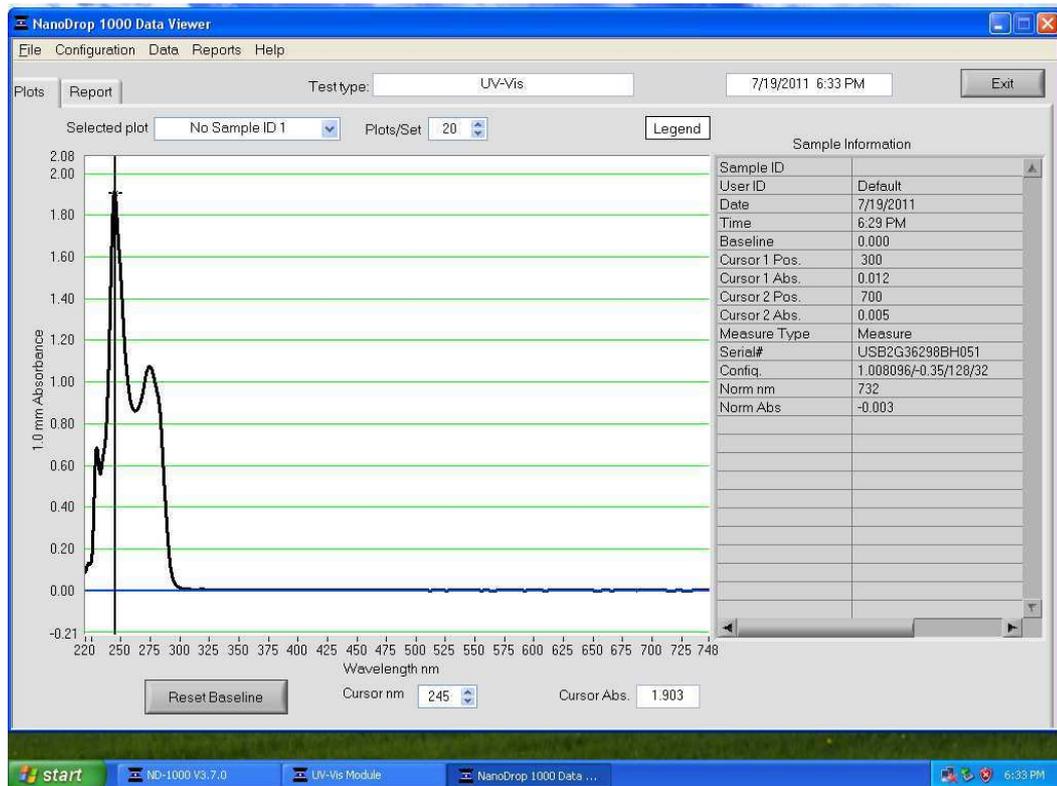


Figura 18. Espectro do padrão DEHP, mostrando o comprimento de onda de 245 nm.

Apesar da faixa de absorvância do DEHP, de acordo com a literatura, estar entre 220 e 300 nm, o cromatograma mostrou o pico bem definido em 245 nm. Valor este, próximo aos encontrados na literatura de referência (DINE *et al.*, 1991; FAOUZI *et al.*, 1999; KAMBIA *et al.*, 2001; SIRCAR *et al.*, 2008).

4.3 QUANTIFICAÇÃO DO DEHP

A massa de DEHP foi determinada através da área sobre o pico, fornecida pelo equipamento. Para cada dia de análise, uma equação de regressão linear foi construída, com base nos valores da curva de calibração, como mostra a tabela 3.

O valor de r^2 determina a proporção de variabilidade, indicando uma forte relação entre as 2 variáveis, e o valor de r indica a dispersão do conjunto dos pontos experimentais. Quanto mais próximo de 1,00, menor é a dispersão e, portanto,

menor a incerteza dos coeficientes de regressão linear. A ANVISA recomenda um valor mínimo de r de 0,99 e o INMETRO de 0,90 (RIBANI *et al.*, 2004). Os valores de r e r^2 estiveram sempre superiores a 0,99, indicando que a regressão linear é confiável para a obtenção dos resultados.

Tabela 3. Equação de regressão linear para cada dia de análise usando o CLAE.

Dia	Regressão linear	Coefficiente de determinação (r^2)	Amostra / sessão	Área sobre o pico (x)			
1	$y=3.10^{-8}x - 4.10^{-5}$	0,9974	P4 / 1 inicial	20.223,8			
			P4 / 1 final	3.576,0			
			P4 / 3 inicial	2.332,8			
			P4 / 3 final	2.480,0			
			P4 / 5 inicial	4.931,2			
			P4 / 5 final	6.680,0			
			P5 / 1 inicial	43.718,4			
			P5 / 1 final	34.129,6			
			P5 / 3 inicial	7.603,2			
			P5 / 3 final	7.740,8			
			P5 / 5 inicial	3803,2			
			P5 / 5 final	23950,4			
			2	$y=2.10^{-8}x + 2.10^{-5}$	0,9990	P5 / 7 inicial	2860,8
						P5 / 7 final	4089,6
3	$y=2.10^{-8}x + 6.10^{-6}$	0,9913				P1 / 1 inicial	5817,6
						P1 / 1 final	6905,6
			P1 / 3 inicial	6240,0			
			P1 / 3 final	6649,6			
			P1 / 5 inicial	1292,8			
			P1 / 5 final	4763,2			
4	$y= 3.10^{-8}x+ 8.10^{-5}$	0,9954	P2 / 1 inicial	6428,8			
			P2 / 1 final	14163,2			
			P2 / 3 inicial	5017,6			
			P2 / 3 final	12294,4			
			P2 / 5 inicial	7878,4			
			P2 / 5 final	8601,6			
			P2 / 7 inicial	7217,6			
			P2 / 7 final	11780,8			
5	$y= 3.10^{-8} x + 2.10^{-5}$	0,9989	P3 / 1 inicial	8726,4			
			P3 / 1 final	9568,1			
			P3 / 2 inicial	6364,8			
			P3 / 2 final	10486,4			
			P3 / 3 inicial	4528,8			
			P3 / 3 final	9740,8			
			P3 / 4 inicial	6803,2			
			P3 / 4 final	11356,8			
			P3 / 5 inicial	3510,4			
			P3 / 5 final	5291,2			
6	$y= 2.10^{-8} x - 2.10^{-5}$	0,9994	V1	2750,4			
			V2	1081,6			
			V3	1604,8			

Os valores da área sobre o pico (x) foram substituídos na equação de reta para cada caso e os resultados obtidos estão mostrados na tabela 4 para plasma sanguíneo de pacientes e na tabela 5 para plasma sanguíneo de voluntários saudáveis.

Tabela 4. Resultados DEHP, em $\mu\text{g/ml}$, encontrado em pacientes.

<i>Paciente /sessão</i>	<i>Massa de DEHP por volume de sangue ($\mu\text{g/ml}$) 15 min.após o início da sessão de hemodiálise</i>	<i>Massa de DEHP por volume de sangue ($\mu\text{g/ml}$) 15 min. antes do término da sessão de hemodiálise</i>	<i>Valor Médio ($\mu\text{g/ml}$) de DEHP por paciente</i>	<i>Desvio padrão</i>	<i>Coefficient e de Variação (%)</i>	<i>Valor média por sessão \pm desvio padrão</i>
P1 / 1	1,224	1,441	1,116	0,42	37,51	0,10 \pm 1,73
P1 / 3	1,308	1,389				0,04 \pm 1,85
P1 / 5	0,319	1,013				0,34 \pm 0,66
P2 / 1	2,729	5,049	3,302	0,91	27,59	1,16 \pm 4,19
P2 / 3	2,305	4,488				1,09 \pm 3,60
P2 / 5	3,164	3,380				0,10 \pm 4,47
P2 / 7	1,965	3,334				0,68 \pm 2,94
P3 / 1	2,418	2,670	1,894	0,73	38,42	0,12 \pm 3,42
P3 / 2	1,709	2,960				0,62 \pm 2,57
P3 / 3	1,010	2,018				0,50 \pm 1,59
P3 / 4	1,741	2,371				0,31 \pm 2,50
P3 / 5	0,753	1,287				0,26 \pm 1,13
P4 / 1	1,033	5,667	1,671	2,02	120,78	2,31 \pm 3,58
P4 / 3	0,299	0,344				0,02 \pm 0,42
P4 / 5	1,079	1,604				0,26 \pm 1,57
P5 / 1	9,839	12,716				1,47 \pm 14
P5 / 3	1,881	1,922	3,916	4,36	111,53	0,02 \pm 2,66
P5 / 5	0,961	4,990				2,01 \pm 3,15
P5 / 7	0,772	1,018				0,12 \pm 1,10
P5 / 9	0,075	1,069				0,53 \pm 0,75

Tabela 5. Resultados da análise de DEHP no sangue dos voluntários saudáveis

<i>Voluntário</i>	<i>DEHP (\pm 0,050) $\mu\text{g/ml}$</i>
V 1	0,035
V 2	0,012
V 3	0,016

Através da tabela 4 é possível observar claramente o aumento da quantidade de DEHP ($\mu\text{g/ml}$) entre o início e final da sessão.

Os valores de DEHP liberados dependem do fluxo sanguíneo e do tempo em que o PVC fica em contato com o mesmo (POLLACK *et al.*, 1989; DINE *et al.*, 2000). Os cálculos para a quantidade real de DEHP liberado para cada paciente, por sessão, de acordo com o fluxo de sangue e tempo da sessão aplicados estão apresentados na tabela 6. Embora a coleta tenha sido feita até o final da vida útil do circuito para cada paciente, foram selecionadas apenas 3 sessões para a análise do plasma sanguíneo devido à indisponibilidade do equipamento de CLAE para a análise completa de todas as sessões de todos os pacientes. As sessões ímpares foram selecionadas com a intenção de se verificar o efeito cumulativo do DEHP.

Inicialmente foi calculada a variação de DEHP por paciente, por sessão, ΔDEHP , de acordo com os valores apresentados na tabela 6. Em seguida foram determinadas as médias para cada paciente, $\overline{\Delta\text{DEHP}}$. Para cada paciente, por sessão, o valor do ΔDEHP foi multiplicado pelo fluxo de sangue aplicado para a determinação da quantidade de DEHP para cada minuto de contato do sangue com o PVC, $\Delta\text{DEHP} \times \text{fluxo}$ (DINE *et al.*, 2000). O valor do $\Delta\text{DEHP} \times \text{fluxo}$ foi multiplicado pelo tempo de duração da diálise (240 min. para todos os pacientes) e dividido por 1.000 para se obter o resultado em mg, MDEHP. Com estes resultados, foi calculada a média da massa liberada de DEHP por paciente, $\overline{\text{MDEHP}}$.

Tabela 6. Resultados da análise de DEHP no sangue dos pacientes.

Paciente	Sessão	ΔDEHP ($\mu\text{g/ml}$)	$\overline{\Delta\text{DEHP}}$ ($\mu\text{g/ml}$)	Fluxo de sangue aplicado (ml/min)	ΔDEHP \times fluxo ($\mu\text{g/min}$)	MDEHP por sessão (mg)	$\overline{\text{MDEHP}}$ (mg) \pm desvio padrão
P1	1	0,2176	0,33 \pm 0,32	300	65,28	15,66	23,67 \pm 23,14
	3	0,0819			24,58	5,89	
	5	0,6908			208,22	49,47	
P2	1	2,32032	1,57 \pm 1,17	300	696,09	167,06	113,27 \pm 84,74
	3	2,18304			654,91	157,17	
	5	0,21652			64,95	15,59	
P3	1	2,52510	0,59 \pm 0,38	300	75,75	18,18	43,07 \pm 27,49
	3	1,00816			302,44	72,58	
	5	0,53424			160,27	38,46	
P4	1	4,6342	1,73 \pm 2,52	350	1.621,47	389,27	145,68 \pm 181,64
	3	0,0442			15,45	3,70	
	5	0,52464			183,62	44,06	
P5	1	2,87664	2,32 \pm 2,05	350	1.006,82	241,63	194,52 \pm 172,40
	3	0,04128			14,45	3,46	
	5	4,02944			1.410,30	338,47	

Aplicando a ANOVA aos valores $\overline{\text{MDEHP}}$, obteve-se $p > 0,05$ o que indica não haver diferença significativa entre os pacientes sendo, portanto, possível comparar as quantidade de DEHP liberadas entre as amostras. Analisando as sessões 1,3 e 5 de cada paciente integrante do estudo, foi possível observar que não existiram evidencias de que o DEHP tenha efeito acumulativo, como registrado na literatura, (SCHMID; SCHLATTER, 1985). A grande variação no valor médio determinado, também foi observado na literatura que registra valores entre 44,3 mg a 197,1 mg em uma única sessão de hemodiálise (CONSUMER PRODUCT SAFETY COMMISSION, 2010) (POLLACK *et al.*, 1985; KAMBIA *et al.*, 2001).

Analisando o tempo de diálise de cada paciente com a média de liberação de DEHP por sessão foi possível observar que P1 teve uma liberação menor de DEHP e um número menor de exposição ao DEHP comparado com P3, o mesmo aconteceu comparando P5 com P4. A variação da concentração de DEHP no sangue também é afetada pelo número de exposições repetidas, ou seja, pelo número de procedimentos de hemodiálise repetido pelo paciente que pode afetar a habilidade que o organismo tem de metabolizar o DEHP (LEWIS *et al.*, 1978).

Avaliando os valores de $\overline{\text{MDEHP}}$ entre os pacientes 1, 2 e 3, que tiveram o mesmo fluxo sanguíneo, é possível observar que o P2 apresentou um valor bastante superior aos demais. Isso pode ser atribuído ao fato deste paciente não ter recebido heparina durante as sessões, administrada continuamente nos demais pacientes. A heparina é ativadora de lípases hepáticas (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR DI(2-ETHYLHEXYL PHTHALATE), 2002), conseqüentemente os pacientes que receberam heparina continuamente tiveram um aumento na taxa de conversão de DEHP em MEHP, acarretando em uma quantidade menor de DEHP detectada no plasma, através da CLAE.

Outra variável importante na liberação de DEHP das linhas sanguínea é o fluxo do sangue durante a hemodiálise (POLLACK *et al.*, 1985). Observa-se que o P4 e o P5, nos quais foi aplicado um fluxo de sangue maior, tiveram uma liberação média de DEHP superior aos demais pacientes, apesar de terem recebido uma quantidade maior de heparina. Na hemodiálise, as tensões de cisalhamento locais são altas e com altas tensões cisalhantes a probabilidade de formação de trombos sobre a superfície de um biomaterial, neste caso o PVC, é alta, pois estas tensões induzem

a ativação de plaquetas. Nos circuitos de hemodiálise, onde existem tubos com diâmetro médio de 3 mm, a tensão cisalhante chega a 63 dynas/cm² e a ativação de plaquetas ocorre em tensões entre 60 e 80 dynas/cm² (SPIJKER *et al.*, 2003).

O aumento do fluxo causa aumento na tensão de cisalhamento e, conseqüentemente, na ativação das plaquetas, exigindo maiores doses de heparina. Esperar-se-ia que estes pacientes apresentassem uma taxa de conversão de DEHP em MEHP maior e, portanto, uma quantidade menor de DEHP detectada no final das sessões, o que não ocorreu. Este aumento, no entanto, está visivelmente relacionado com o aumento do fluxo sanguíneo quando se compara P4 e P5 com P1 e P2. O aumento do fluxo faz com que um mesmo volume de sangue transite mais vezes pelo circuito o que, conseqüentemente, aumenta a concentração de DEHP.

Em relação ao PVC, o plastificante DEHP pode ser facilmente liberado no sangue por não estar fortemente ligado às cadeias poliméricas (DiGANGLI *et al.*, 2002; SIRCAR *et al.*, 2008). Como o plastificante é agregado ao plástico antes do processo de extrusão para a fabricação da matéria prima do circuito, pode ocorrer mistura não homogênea do DEHP no PVC formando focos de concentração do plastificante. Estes focos, quando em contato com o sangue podem liberar uma alta quantidade de DEHP de forma instantânea o que pode justificar a discrepância dos valores em um mesmo paciente. Essa variação também pode estar relacionada a natureza lipofílica do sangue de cada paciente, no momento da coleta, que poderia ser verificada através de lipidograma (CALAFAT *et al.*, 2004) ou ainda estar relacionada a função hepática de cada paciente, visto que o DEHP é metabolizado no fígado (LEWIS, 1978).

A figura 19 mostra a comparação entre as médias da liberação do DEHP (µg/ml) das sessões para cada paciente e os valores encontrados nos voluntários saudáveis.

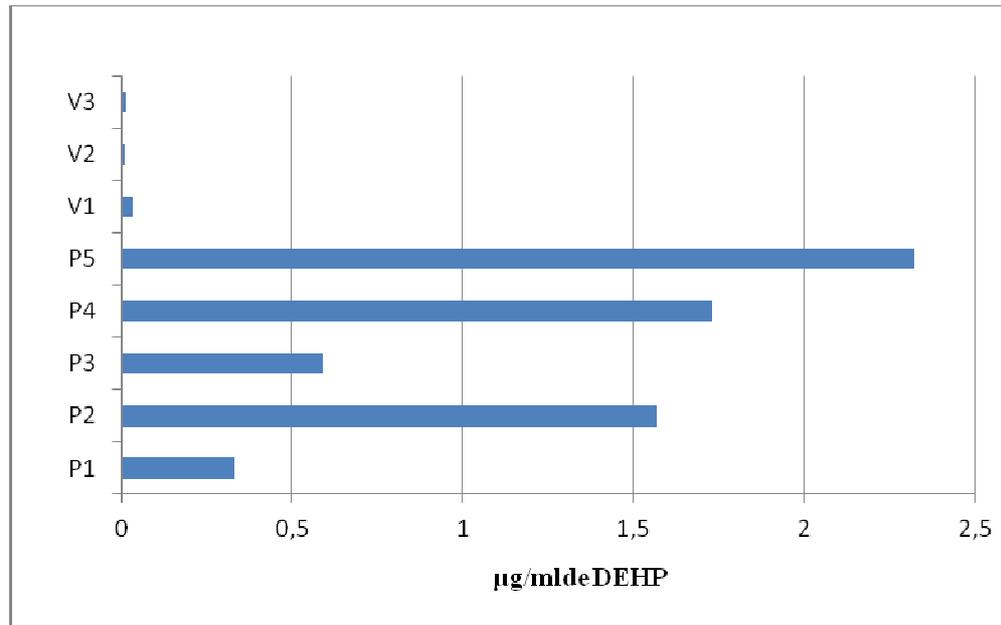


Figura 19. Comparação entre as médias da liberação do DEHP ($\mu\text{g/ml}$) das sessões para cada paciente e os valores encontrados nos voluntários saudáveis.

Pode-se observar como a exposição do organismo ao DEHP através de procedimentos médicos a influência na quantidade de DEHP presente no sangue, pois o mesmo é introduzido diretamente na corrente sanguínea. O DEHP não está ausente no sangue dos voluntários saudáveis devido à exposição do ambiente (TOXICOLOGICAL PROFILE FOR DI(2-ETHYLHEXYL) PHTHALATE, 2002).

Considerando dois grupos, pacientes e voluntários, a concentração média de DEHP nos pacientes foi de $1,31 \pm 0,82 \mu\text{g/ml}$ e a concentração média encontrada em plasma de voluntário foi de $0,052 \pm 0,050 \mu\text{g/ml}$. Portanto, a concentração média presente em plasma do grupo de pacientes encontra-se, aproximadamente, 25 vezes maior do que a concentração média do plasma dos voluntários.

A tabela 7 mostra a massa corporal de cada paciente e a liberação média de DEHP por sessão.

Tabela 7. Massa corporal do paciente, liberação média de DEHP por sessão e mg/dia de DEHP

Paciente	Sessão	MDEHP por sessão (mg)	MDEHP (mg)	Massa Corporal (kg)	DEHP/kg/dia (mg)	MDEHP por paciente/kg/dia
P1	1	15,66	23,67	65	0,24	0,36
	3	5,89			0,09	
	5	49,47			0,76	
P2	1	167,06	113,27	60	2,78	1,88
	3	157,17			2,61	
	5	15,59			0,25	
P3	1	18,18	43,07	71,5	0,25	0,60
	3	72,58			1,01	
	5	38,46			0,53	
P4	1	389,27	145,68	70	5,56	2,08
	3	3,70			0,05	
	5	44,06			0,62	
P5	1	241,63	194,52	75,5	3,21	2,57
	3	3,46			0,04	
	5	338,47			4,48	

Considerando a quantidade tolerável de DEHP é de 0,6 mg/kg/dia (DIGANGI *et al.*,2002), por procedimento de hemodiálise, utilizando cálculo matemático simples, relacionando a média de liberação de DEHP por sessão e a massa corporal dos pacientes, foi possível identificar que os pacientes estão expostos a concentrações maiores do que a permitida. A média encontrada nos pacientes foi de $1,49 \pm 1,60$ mg de DEHP/kg/dia.

A tabela 8 mostra a idade e o Índice de Massa Corpórea (IMC) dos pacientes (P) que participaram do estudo, assim como dos sujeitos saudáveis (V), escolhidos aleatoriamente no laboratório de patologia da UFPR.

Tabela 8. Idade, IMC e MDEHP por sessão da amostra de estudo.

	Indivíduos saudáveis			Pacientes				
	V1	V2	V3	P1	P2	P3	P4	P5
IMC (kg/m ²)	20,82	19,94	19,97	26,04	22,31	27,58	21,60	23,83
MDEHP por sessão (mg)	-	-	-	23,67	113,27	43,07	145,68	194,53

Os valores do IMC dos pacientes foram calculados com o objetivo de se verificar se existia correlação entre o DEHP detectado no sangue e o Índice de Massa Corporal. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) o excesso de peso e a obesidade podem ser definidos diretamente pelos valores do IMC, sendo que, para adultos valores até $24,9 \text{ kg/m}^2$ são considerados normais (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

A partir do ajuste de um modelo de regressão linear simples obteve-se o valor do coeficiente de determinação r^2 igual a 0,517, indicando que 51,7% das variações no DEHP liberados pode ser explicada pelo IMC. A equação de regressão linear, $y = bx+a$, apresentou valor de $a = 597,236$ (coeficiente linear) e $b = - 20,319$ (coeficiente angular). Portanto, a hipótese de ausência de relação linear entre as duas variáveis (coeficiente angular igual a zero) não foi rejeitada ($p = 0,719$).

Portanto, o IMC pode ser um indicador do aumento na liberação do DEHP durante a hemodiálise, pois o mesmo possui afinidade com moléculas lipídicas (CALAFAT *et al.*, 2004), as quais são mais frequentes em pacientes com sobre peso. Portanto, indivíduos com alta atividade lipolítica correm maior risco de ter efeitos adversos induzidos pelo DEHP do que os demais (FDA, 2011).

Embora esta relação não tenha sido abordada na literatura, comparando os pacientes com o mesmo fluxo sanguíneo e heparinizados, percebe-se que P3 apresentou um IMC ($27,58 \text{ kg/m}^2$) ligeiramente maior do que P1 ($26,04 \text{ kg/m}^2$) que refletiu no aumento do DEHP detectado, 43,07 mg e 23,67 mg, respectivamente. O mesmo ocorreu entre os pacientes P4 e P5 que, com IMC respectivos de $21,60 \text{ kg/m}^2$ e $23,83 \text{ kg/m}^2$, apresentaram valores de DEHP também respectivos de 145,68 mg e 194,52 mg. Isso mostra a influência da atividade lipídica no potencial toxicológico do DEHP.

CONCLUSÕES

De acordo com os objetivos propostos, foi realizada a padronização da metodologia para a quantificação do DEHP no plasma sanguíneo.

Através da análise dos resultados obtidos, não parece existir uma relação direta entre a quantidade de heparina e o número de reuso do circuito de hemodiálise. No entanto, a heparina evita a formação de coágulos no sangue que podem causar danos ao dialisador, aumentando a sua vida útil.

Apesar do pequeno número de pacientes na amostra, os valores apresentaram boa correlação ($p > 0,05$) sendo possível, portanto, quantificar o DEHP e compará-lo entre os pacientes.

Foi possível observar claramente que ocorreu aumento da quantidade de DEHP ($\mu\text{g/ml}$) entre o início e o final das sessões em todos os pacientes, comprovando que realmente existe liberação de DEHP do circuito.

Comparando os valores de DEHP a que os pacientes foram expostos com os valores de DEHP presentes no plasma de voluntários saudáveis, ficou claro que o procedimento de hemodiálise afetou sensivelmente a quantidade de DEHP no sangue.

Finalmente, os resultados mostraram a importância da busca por materiais alternativos para a fabricação de circuitos de hemodiálise, de forma a evitar que os pacientes já debilitados sejam expostos ao DEHP comprometendo a sua qualidade de vida.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Administração de DEHP via parenteral e análise histológica de rins e fígados em animais de laboratório;
- Desenvolvimento de um circuito extracorpóreo sem adição de DEHP, que seja financeiramente viável;
- Análise da estrutura química e física das linhas de sangue frente aos reusos.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. RDC nº 154, de 15 de junho de 2004. Estabelece o regulamento técnico para o funcionamento dos serviços de diálise. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 17 jun. 2004. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/e-legis>>

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). Portaria nº 82 de 03/01/2000. Estabelece o Regulamento Técnico para o funcionamento dos serviços de diálise e as normas para cadastramento destes junto ao Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 01, 03 de janeiro de 2000.

AIGNAISSE, A. F.; PROGNON, P.; STACHOWICZ, M.; GHEYUCHE, R.; PRADEAU, D. A new simple and rapid HPLC method for determination of DEHP in PVC packaging and releasing studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 113, p. 241 – 246, 1995.

BERNARD S.; ENAYATI A.; REDWOOD L.; ROGER H.; BINSTOCK T. Autism: a novel form of mercury poisoning. *Medical Hypotheses*, vol.56, n.4, pp.462–47, 2001.

BERTONCELLO, I. **Influência do tipo de membrana de hemodiálise e da sua reutilização nos marcadores de estresse oxidativo**. 2007, 68 f. Dissertação (Programa de Pós graduação em Bioquímica Toxicológica) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

BIANCHI, P. D.; BARRETO, S. S.; THOMÉ, F. S.; KLEIN, A. B. Repercussão da Hemodiálise na Função Pulmonar de Pacientes com Doença Renal Crônica Terminal. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 31, n. 1, p. 25 – 31, mar. 2009.

BOURDEAUX, D.; SAUTOU-MIRANDA, V.; BAGEL-BOITHIAS, S.; BOYER, A.; CHOPINEAU, J. Analysis by liquid chromatography and infrared spectrometry of di (2- ethylhexyl)phthalate released by multilayer infusion tubing. **Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. V. 35, p . 57 – 64, 2004.

CALAFAT, A. M.; NEEDHAM, L.L.; SILVA, M. J.; LAMBERT, G. Exposure to Di – (2 – Ethylhexyl) Phthalate Among Premature Neonates in a Neonatal Intensive Care Unit. **Official Journal of the American Academy of Pediatrics**. V. 113, nº 5, p. 429 – 434, 2004.

CAMPOS, CJG. A vivência do doente renal crônico em hemodiálise: significativos atribuídos pelos pacientes. Tese. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2002. P. 387. Doutorado em Ciências Médicas.

CAPELLARI, C. Validação do conteúdo das características de enfermagem definidoras do diagnóstico de enfermagem proteção ineficaz em pacientes em tratamento hemodialítico. 2007, 98 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

CAVALANTE, TE. **Insuficiência Renal Crônica e Hemodiálise: em busca de uma diálise psíquica**. 2004. 62 f. Monografia (Curso de Especialização em Psicologia Hospitalar) – Centro de Psicologia Hospitalar e Domiciliar do Nordeste, Recife.

CAVENAROLO SV, Jr. Ciências dos Polímeros. São Paulo (SP): Artliber Editora Ltda; 2002. 183 p.

CESARINO CB, CASAGRANDE LDR. Paciente com insuficiência renal crônica em tratamento hemodialítico: atividade educativa do enfermeiro. Rev Latino – Americana de Enfermagem. Ribeirão Preto.1998; 6(4): 31-40.

CHAUDHARY, A. K.; ANKUSHRAO WASKE, S.; YADAV, S.; CHANDRASHEKHAR, T. G.; SINGH, V. Validated reverse phase HPLC method for the determination of DEHP content in reconstituting diluents and in reconstituted solutions of imipenem and cilastatin for injection. E-Journal of Chemistry, v.7, n. 2, p. 501-513, 2010.

COLLINS, C. H; BRAGA, G.L; BONATO, P.L. **Introdução a métodos cromatográficos**.7ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1997.

COSTA, J. A. C.; NETO – VIERA, M. O.; NETO, M. M. Insuficiência Renal Aguda. **Medicina de Ribeirão Preto**, v. 36, p. 307 – 374, 2003.

COURTNEY, J. M.; ZHAO, X. B.; YIN, H. Q.; BLASS, C.R; WEST, R. H.; LOWE, G. D. O. Blood Interactions with plasticized poly(vinyl chloride): relevance of plasticized selection. **Journal of Materials Science: Materials and Medicine**, v. 10, p. 527 – 531, 1999.

DANGELO JG, FATTINI CA. Anatomia humana básica. São Paulo (SP): Atheneu Editora. 2ed. 2002. 184 p.

De Wildt, S. N.; Kearns, G. L.; Leeder, J. S.; Van den Anker, J. N. Glucuronidation in humans. Pharmacogenetic and developmental aspects. **Journal Clin Pharmacokinet**, . v. 36, n. 6, p. 439-452, 1999.

DIGANGI, J.; SCHETTLER, T.; COBBING, M.; ROSSI, M. Aggregate Exposures to Phthalates in Humans. *Health Care Without Harm*, 2002.

DINE, T; LUYCKX, M; GRESSIER, B; BRUNET, C; SOUHAIT, J; NOGAREDE, S; VANPOUCKE, J; COURBON, F; PLUSQUELLEC, Y; HOUIN, G. A pharmacokinetic interpretation of increasing concentrations of DEHP in haemodialysed patients. **Medical Engineering & Physics**, United Kingdom, V. 22,n^o 3, p. 157-165, abr. 2000.

DRAIBE, S.A. Insuficiência renal crônica. In: Schor, N. **Guia de Nefrologia**. São Paulo: Manole, 2002.

ESTEVEES, A.A; BORGES, V. S; ABRANTES, S; SILVEIRA, G. M; SOUZA, C. C. O. de M. C. Validação em laboratório de método analítico para determinação do teor de adipato e ftalato de di-(2 – etil- hexila) utilizados como plastificantes em filmes flexíveis de PVC. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 01, p. 219 – 233, set. 2007.

FAOUZI, M. A.; DINE, T.; GRESSIER, B.; KAMBIA, K.; LUYCKX, M.; PAGNIEZ, D.; BEUNET, C.; CAZIN, M.; BELABED, A.; CAZIN, J.C. Exposure of hemodialys patients to di-2- ethylhexyl phthalate. **International Journal of pharmaceutics**. v. 180, p. 113 – 121, 1999.

GAYATHRI, N. S.; DHANYA, C.R.; KURUP, I.; KURUP, P.A. Changes in some hormones by low doses of di (2-ethyl hexyl) phthalate (DEHP), a commonly used plasticizer in PVC blood storage bags & medical tubing. **Indian J. Med. Res.** Índia, v. 119, n. 04, p. 139 – 144, abr. 2004.

GOING GREEN. Why health care is moving away from the hazardous plastic polyvinyl chloride (PVC). Disponível em: http://www.noharm.org/all_regions/issues/toxins/pvc_phthalates. Acesso em: 10/05/2011.

HAISHIMA, Y.; MATSUDA, R.; HAYASHI, Y.; HASEGAWA, C.; YAGAMI, T.; TSUCHIYA, T. Risk assessment of di(2-ethylhexyl)phthalate released from PVC blood circuits during hemodialysis and pump-oxygenation therapy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 274, p. 119 – 129, 2004.

HELITO, A. S.; KAUFFMAN, P. Saúde. Entendendo as Doenças. São Paulo (SP). Editora Nobel. 1^o edição. p.719, 2007.

HINBERG, I. DEHP in medical devices: an exposure and toxicity assessment. Medical Devices Bureau Therapeutic Products Directorate Health Products & Foods Branch Health Canada, 2001.

http://www.lhsc.on.ca/Health_Professionals/CCTC/elearning/crrt/crrt.htm?view=print

INOUE, K.; KAWAGUCHI, M.; YAMANAKA, R.; HIGUCHI, T.; ITO, R.; SAITO, K.; NAKAZAWA, H. Evaluation and analysis of exposure levels of di(2-ethylhexyl) phthalate from blood bags. **Clínica Chimica Acta**, v. 358, p. 159 – 166, 2005.

ITO, R.; SESHIMO, F.; MIURA, N.; KAWAGUCHI, M.; SAITO, K.; NAKAZAWA, H. Effect of sterilization process on the formation of mono(2-ethylhexyl) phthalate from di(2-ethylhexyl) phthalate. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p. 455-460, 2006.

JACOBOWSKI, J. A. D; Borella, R.; LAUTERT, L. Pacientes com insuficiência renal crônica: causas de saída do programa de diálise peritoneal. **Revista Gaúcha Enfermagem**, Porto Alegre; v. 26, n.03, p. 381-391, dez. 2005.

JAMES, J. T. e J S CENTER. Spacecraft water exposure guidelines for selected contaminants. **National Academies Press**, v.1, Houston, Texas, 2004.

JAROŠOVÁ, A. Toxicological profile for di(2-ethylhexyl)phthalate U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry Phthalic Acid Esters (PAEs) in the Food Chain, vol. 24, n. 5, pp. 223–231, 2006.

KAMBIA, K.; DINE. T.; AZAR, R.; GRESSIER, B.; LUYCKX, M.; BRUNET, C. Comparative study of the leachability of di(2-ethylhexyl) phthalate and tri(2-ethylhexyl)trimellitate from hemodialysis tubing. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v. 229, p. 139 – 146, 2001.

KATO, K.; SILVA, M.; REIDY, J. A.; HURTZ III, D.; MALEK, N. A.; NEEDHAM, L. L.; NAKAZAWA, H.; BARR, D. B.; CALAFAT, A. M. Mono (2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate and mono (2-ethyl-5-oxohexyl) phthalate as biomarkers for human exposure assessment to di-(2-ethylhexyl) phthalate. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, p. 327-330, 2004a.

KATO, K; SILVA, M.J;NEEDHAM, L. L; CALAFAT, A.M. Determination of 16 Phthalate Metabolites in Urine Using Automated Sample Preparation and On-line Preconcentration/High-Performance Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 77, n. 9, p. 2985-2991, mai. 2005b.

Kidney blood supply. 2011. Disponível em: http://www.drugs.com/enc/image_pages/8817.html. Acesso em 22 de abril de 2011.

KOCH, H. M ; ROSSBACH, B.; DREXLER, H.; ANGERER, J. Internal exposure of the general population to DEHP and other phthalates—determination of secondary and primary phthalate monoester metabolites in urine. **Environmental Research**, v. 93, p. 177-185, 2003c.

KOCH, H. M.; DREXLER, H.; ANGERER, J. Internal exposure of nursery-school children and their parents and teachers to di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 207, p. 15-22, 2003a.

KOCH, H. M.; RECHE –GONZALEZ, L. M.; ANGERER, J. On line clean-up by multidimensional liquid chromatography- electrospray ionization tandem mass spectrometry for high throughput quantification of primary and secondary phthalate metabolites in human urine. **Journal of Chromatography B**, v. 784, p. 169–182, jan 2003b.

KUSOMOTA, L. **Avaliação da qualidade de vida relacionada à saúde de pacientes em hemodiálise**. 2005, 144 f. Tese (Doutorado em Enfermagem) – Universidade de São Paulo Escola de Enfermagem, Ribeirão Preto.

LACSON, E. J.; LAZARUS, J. M.; Dialyzers Best Practice: Single Use or Reuse? **Seminars in Dialysis**, v. 19, n. 2, p. 120 – 128, 2006.

LARA, E. A.; SARGUIS, L. M. M. O Paciente renal Crônico e sua Relação com o Trabalho. **Cogitare Enfermagem**, v. 9, n. 2, p. 99 – 105, 2004.

LIMA, A. F. C. **O significado da hemodiálise para o paciente renal crônico: a busca por uma melhor qualidade de vida**. 2000. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Universidade de São Paulo Escola de Enfermagem, São Paulo.

LOWRIE, E. G.; LI, Z.; OFSTHUN, N.; LAZARUS, M. Reprocessing dialysers for multiple uses: recent analysis of death risks for patients. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 19, n. 11, p. 2823 – 2830, 2004.

MALLICK, N. P.; GOLAK, R. **Hemodialysis**. The lancet , 1999.

MANANDHAR, D. N.; CHHETRI, P. K.; TIWARI, R.; LAMICHHANE, S. Evaluation of dialysis adequacy in patients under hemosialysis and effectiveness of dialysers reuses. **Nepal Medical College Journal**, v. 11, n. 2, p. 107 – 110, 2009.

MARTINS M. R. I. ; CESARINO C. B. Qualidade de vida de pessoas com doença renal crônica em tratamento hemodialítico. **Revista Latino-americano de Enfermagem**, v. 13, n. 05, set – out 2005.

MARTINS, G. S.; IOZZI, M. A.; MARTINS, M. A.; MATTOSO, L. H. C.; FERREIRA, F. C. Caracterização Mecânica e térmica de compósitos de poli (cloreto de vinila) reforçados com fibra de sisal. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. 14 (5): 326 – 333,2004.

MAZERA, L. **O filtro da vida: um estudo sobre as modificações sociais no modo de vida de pacientes renais crônicos em hemodiálise**. 2008, 116 f. Dissertação (Mestrado em Serviço Social) – Universidade Católica de São Paulo, São Paulo.

MERCK. Manual Merck de Informação Médica - Saúde Para a Família. Cap.123 - Insuficiência Renal, Seção 11 - Distúrbio dos Rins e do Trato Urinário (2010). Disponível em: http://www.msd-brazil.com/msdbrazil/patients/manual_Merck/mm_sec11_123.html. Acesso em 01/03/2010.

METTANG, T.; THOMAS, S.; KIEFER, T.; FISCHER, F. P.; KUHLMANN, U.; WODARZ, R.; RETTENMEIER, A. W. Uraemic pruritus and exposure to di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) in haemodialysis patients. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 11, p. 2439-2443, 1996.

MONTEIRO, M.; GOTARDO, M. A. Ftalato de di-(2-etilexila) (DEHP) em bolsas de PVC para soluções parenterais de grandes volumes. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**. Araraquara, v. 26, n^o 1, p. 9 – 18, 2005.

MORSCH, C. M. F. **Avaliação da qualidade de vida e de indicadores assistenciais de pacientes renais crônicos em tratamento hemodialítico**. 2002, 91 f. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas: Nefrologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

NABAE,K. DOI, Y. TAKAHASHI, S. ICHIHARA, T. TODA, C. UEDA, K. OKAMOTO, Y. KOJIMA, N. TAMANO, S. SHIRAI, T. Toxicity of di(2- ethylhexyl) phthalate (DEHP) and di(2- ethylhexyl)adipate (DEHA) under conditions of renal dysfunction induced with folic acid in rats: Enhancement of male reproductive toxicity of DEHP is associated with an increase of the mono-derivative. **Reproductive Toxicology**, v. 22, p. 411 – 417, 2006.

NÄSSBERGER, L.; ARBIN, A.; ÖSTELIUS, J. Exposure of Patients to Phthalates from Polyvinyl Chloride Tubes and Bag during Dialysis. **Nephron**, v. 45, p. 286 – 290, 1987.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. **Treating kidney failure with hemodialysis.** Disponível em: www.kidney.org. Acesso em 05 jul. 2009.

NETZ, P.A; ORTEGA, G.G. **Fundamentos de físico- química: uma abordagem conceitual para as ciências farmacêuticas.** Porto Alegre: Artmed. 2002.

NUNES, L. R. Tecnologia do PVC. São Paulo: Pró-Editora/ Braskem. 2002, 400p.

Office for Technology Commercialization. Bio-based phthalate-free polyvinyl chloride plasticizer, 2010. Disponível em: http://www.license.umn.edu/Products/Bio-Based--Phthalate-Free-Polyvinyl-Chloride-Plasticizer__20100213.aspx. Acesso em 27 de abril de 2011.

OLIVEIRA, A.; ALBUQUERQUE, C.; CARVALHO, G.; SENDIN, P.; SILVA, M. Determinantes da Obesidade nos Adolescentes. **Actas do Vº Seminário Internacional.** 2009.

PARMAR, D.; SRIVASTAVA, S. P.; SINGH, G.; SETH, P. K. Testicular toxicoty of di(2- ethylhexyl) phthalate in developing rats. **Veterinary Human Toxicology**, v. 34, nº 04, p. 310 -313, ago1995.

PERITONEAL DIALYSIS / Home Therapies Service. Disponível em: <http://www.wirralchesterkidney.nhs.uk/therapy/peri1.aspx>. Acesso em 22 de abril de 2011.

POLLACK, G. M.; BUCHANAN, J. F.; SLAUGHTER, R. L.; KOHL, R. K.; POLLACK, D. D. S. M. Circulating concentrations of di(2-ethylhexyl) phthalate and its de-esterified phthalic acid products following plasticizer exposure in patients receiving hemodialysis. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 79, nº 2, p. 257-267, 1985.

RASTOGI, S. K.; KESAVACHANDRAN, C.; PANDEY, A.; Phtalate exposure and health outcomes. **Indian Journal of Occupational and Environment Medicine**, v. 10, n. 3, 2006.

RIBANI, M.;BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Validação em Métodos Cromatográfico e Eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004

RIELLA, M. C. Princípios de Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrólíticos.IN: PECOITS, R. F. **Diálise Peritoneal.** Quarta Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, p. 919 - 927.

RIELLA, M. C. Princípios de Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrólíticos. IN: RIELLA, L. V.; MOURA, L. A. R.; RIELLA, M. C. **Anatomia Renal**. Quarta Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, p. 01 – 19.

RODOLFO, A. J.; MEI, L. H. I.; Mecanismo de Degradação e Estabilização Térmica do PVC. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. São Paulo, v. 17, n^o 3, p. 263 – 275, 2007.

RODOLFO, A. J.; NUNES, R. L.; ORMANII, W. **Tecnologia do PVC**. São Paulo: Pro editores, 2006.

ROMÃO Jr, J.E. Doença Renal Crônica: definição, epidemiologia e classificação. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 26, n. 03, p. 1 – 3, abr. 2004.

SESSO, R. Epidemiologia da doença renal crônica no Brasil. In: Barros E et al. Nefrologia: rotinas, diagnósticos e tratamento. 3^a ed. Porto Alegre (RS): Artmed; 2006. p. 39-46.

SESSO, R.; LOPES, A. A.; THOMÉ, F. S.; BEVILACQUA, J. L.; JUNIOR, J. E. R.; LUGON, J. Relatório do censo brasileiro de diálise, 2008. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 30, n^o 4, nov. 2008.

SESSO, R.; LOPES, A. A.; THOMÉ, F. S.; LUGON, J. R.; BURDMANN, E. A. Censo brasileiro de diálise, 2009. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 32, n^o 4, nov. 2010.

SHACKELFORD JF. Introduction to Materials Science for Engineers. 5th edition. Upper Saddle River (NJ): Prentice-Hall, 2000. Cap.5., 877p.

SILVA, A. C. **Estudo da atividade das enzimas NTPDase e 5' – nucleotidase e do perfil oxidatvo em pacientes com insuficiência renal crônica**. 2008, 124 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Bioquímica) – Universidades Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SILVA, L. A. M.; MEZZOMO, N. F.; PANSARD, H. M.; ARANTES, L. C.; REMPEL, W.; ARGENTA, L. C.; RODRIGUES, A. T.; CAUDURO, R. L.; SILVA, D. M.; KONOPKA, C. L.; WEBER, E. L.; BURG, G.; TREVISAN, C. M.; PAULETTO, M. R.; PORTELA, O. T.; CORDENUZZI, O. C.; RIST, J. P.; TIMM, A. M.; MEZOMO, C. V.; MOREIRA, P. K.; SANTOS, A. L. Sobrevida em hemodiálise crônica: estudo de uma coorte de 1.009 pacientes em 25 anos. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 31, n. 3, p. 190 – 197, 2009.

SILVA, M. J.; SAMANDAR, E.; PREAU, J. L. JR.; NEEDHAM, L. L.; CALAFAT, A. M. Urinary oxidative metabolites of di(2-ethylhexyl) phthalate in humans. **Toxicology**. Amsterdam, v. 219, p. 22 - 32, fev. 2006.

SILVA, W.P.; MATA, M.E.R.M; SILVA C.D.P.S; GUEDES, M.A.; LIMA, A.G.B.V. Determinação da difusividade e da energia de ativação para feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), variedade sempre-verde, com base no comportamento da secagem. **Eng. Agríc.**, vol.28, n.2, pp. 325-333, 2008.

SIRCAR, D., ALBAZI, S. J.; ATALLAH, Y.; PIZZI, W. Validation and Application of an HPLC Method for Determination of Di (2-ethylhexyl) Phthalate and Mono (2-ethylhexyl) Phtalate in Liver Samples. **Journal of Chromatographic Science**, v. 46, p. 627 – 631, 2008.

SOUZA MHL, ELIAS DO. Fundamentos da Circulação Extracorpórea. 2ed., Rio de Janeiro (RJ): Centro Editorial Alfa Rio, 2006. 828p.

SOUZA, M. L.; CORIO, P.; TEMPERINI, M. L. A; TEMPERINI, J. A. Aplicação de Espectroscopias Raman e Infravermelho na Identificação e Quantificação de Plastificantes em Filmes Comerciais de PVC Esticável. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1452-1456, 2009.

STEVES, L. A.; VISWANATHAN, G.; WEINER, D. Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the Elderly Population: Current Prevalence, Future Projection, and Clinical Significance. **Advances in Chronic Kidney Disease**, v. 17, n. 4, p.293 – 301, 2010.

STROHEKER T.; REGINER J. F.; LASSURGUERE J.; CHAGNON M.C. Effect in utero exposure to di-(2-ethylhexyl)phthalate to distribution in the rat fetus and testosterone production by rat fetal testis in culture. **Food Chemical Toxicology**, v. 44, n. 12, p.2064 – 2206, 2006.

SUMMERS, J. W. A review of vinyl technology. **Journal of Vinyl and Additive Technology**, Hoboken, V. 3, n^o 2, apr. 2004.

SURGERY ARTICLES. Arteriovenous Fistulas. Disponível em: <http://odlarmed.com/?p=1376>. Acesso em: 28 de abril de 2011.

TAKATORI, S.; OKAMOTO, Y.; KITAGAWA, Y.; HORI, S.; IZUMI, S.; MAKINO T.; NAKAZAWA, H. Simulated neonatal exposure to DEHP and MEHP from PVC enteral nutrition products. **International Journal Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 352, n^o 1-2, p. 139 – 145, mar. 2008.

The Scientific Committee on Medicinal Products and Medical Devices. Opinion on medical devices containing DEHP plasticised PVC; neonates and other groups possibly at risk from DEHP, Toxicity, 2002.

The The Human Urinary Tract. 2010. Disponível em: System. <http://www.healthtree.com/articles/anatomy/urinary-tract/>. Acesso em: 22 de abril de 2011.

THOMÉ, F. S. Doença Crônica. In: BARROS, E. *et al.* **Nefrologia: Rotinas, diagnóstico e tratamento**. 3^a edição. Porto Alegre: Artmed, 2006, p. 381 – 404.

TICKNER, J. A; SHETTLER, T; GUIDOTTI, T; McCALLY, M; ROSSI, M. Health risks posed by use of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in PVC medical devices: a critical review. **American Journal o Industrial Medicine**, local, v. 39, p. 100 -111, 2001.

TWARDOWSKI, Z. J. Dializer reuse – part II: vantagens and disadvantages. **Semin Dialysis**, v. 19, p. 217 – 226, 2006.

Université de Versailles. Le PVC et les plastifiants. Disponível em: <http://www.ssents.uvsq.fr/article585.html>. Acesso em 27 de abril de 2011.

UPADHYAY, A.; SOSA, M. A.; JABER, B. J.; Single – Use *versus* Reusable Dialyzers: The Known Unknowns. **Clinical Journal of the American Society of Nefrology**, v. 02, p. 1079 – 1086, 2007.

VARELA, L. L.; RUANO, R.; A. **Efetividad y Seguridad de lãs diferentes varintes de hemodiálisis y hemodiafiltración**. Santiago de Compostela. Serviço Galego de Saúde, Axencia de Avaliación de Tecnoloxías Sanitárias de Galicia, Serie Avaliación de Tecnoloxías. Informe de Avaliación:INF:2005/03, 2005.

VIERA, S. S.; DUPAS. G.; FERREIRA, N. M. L. A. Doença Renal Crônica: conhecendo a experiência da criança. **Escola Anna Nery Revista de Enfermagem**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 01, jan – mar 2009.

VINHAS, G. M.; SOUTO-MAIOR, R. M.; LAPA, C. M.; ALMEIDA, Y. M. B. Degradation studies on plasticized PVC films submitted to gama radiation. **Materiars Research**. 6 (4): 497 – 500,2003

WEUVE, J.; SÁNCHEZ, B. N.; CALAFAT, A. M.; SCHESSLER, T.; GREEN, R. A.; HU, H.; HAUSER, R. Exposure to phthalates in neonatal intensive care unit infants: urinary concentrations of monoesters and oxidative metabolites. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, p. 1424-1431, 2006.

ZAICONCZ, S. Estudo do efeito de plastificação interna do PVC quimicamente modificado, 2004, 88 f. Dissertação de mestrado (Mestrado em Química) Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

ZEI D, PASCARELLA A, BARRESE C, PANTALONE S, STEFANINI S. DEHP effects on retinal vessels in newborn rats: a qualitative and quantitative analysis. **J Histochem Cell Biol.** 2009; 132:567-575.

ZERALK, A. E.; SOUZA, F. S.; FILHO-FATIBELLO, O. Desenvolvimento de um spot teste para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**, v. 31, n. 4, p.731-734, 2008.

SPIJKER, H.T.; GRAAF, R.; BOONSTRA, P.W.; BUSSCHER, H.J.; VAN OEVEREN, W. On the influence of flow conditions and wettability on blood material interactions. **Biomaterials**, v. 24, p. 4717-4727, 2003.

SCHMID P, SCHLATTER C. Excretion and metabolism of di(2-ethylhexyl)phthalate in man. *Xenobiotica*, v. 15, n. 3, p. 251-256, 1985.

FDA, 2011. Safety Assessment of Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) released from PVC Medical Devices. Disponível em: <http://www.fda.gov/MedicalDevices/ResourcesforYou/Consumers/ChoosingaMedicalDevice/ucm142643.htm>. Acesso em 10 de julho de 2011.

ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEP-PUCPR



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
Núcleo de Bioética
Comitê de Ética em Pesquisa
Ciência com Consciência

PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROTOCOLO DE PESQUISA

Parecer Nº: **0004373/10**

Título do projeto: **Quantificação do DEHP liberado em linhas de hemodiálise fabricadas em PVC**

Protocolo: CEP/PP 5802

Grupo

Versão 1

Protocolo CONEP: **0321.0.084.000-10**

Pesquisador responsável: **FERNANDA MARIA**

Instituição: **Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR-CCBS ; Clínica Cajuru Ltda, Universidade Federal**

Objetivos

OBJETIVO(S) GERAL(ES)

Determinar a quantidade de DEHP liberada em linhas durante as sessões de hemodiálise, em equipos reprocessados.

OBJETIVO(S) ESPECÍFICO(S)

- Quantificar o DEHP, durante uma sessão de hemodiálise, com o primeiro uso e em reprocessados;
- Quantificar o DEHP, em circuitos extracorpóreos *in vitro*;
- Quantificar lipoproteína de baixa densidade;
- Verificar se há uma relação entre lipoproteína de baixa densidade e a extração de DEHP.

Comentários e considerações

Projeto de pesquisa metodologicamente adequado, relevante.

TIPO DE ESTUDO

1. METODOLOGIA

A metodologia é dividida basicamente em análise *in vitro* e *in vivo*.

1.1 Tipo de Estudo

O estudo será experimental, será uma análise quantitativa do DEHP liberado durante a sessão de hemodiálise.

PARTICIPANTES

1. Tipo de Estudo

O estudo será experimental, será uma análise quantitativa do DEHP liberado durante a sessão de hemodiálise.

2. Local da Pesquisa

A pesquisa *in vitro* se dará na Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

A Pesquisa *in vivo* será realizada na Clínica Cajuru Ltda, no setor de hemodiálise em Curitiba, PR.

O local da análise será o laboratório de Patologia da Universidade Federal do Paraná.

1. População e amostra

A população do estudo será constituída de 20 pacientes, que realizam procedimento de hemodiálise, respeitando os critérios de inclusão e exclusão.

Em cada sessão de hemodiálise será coletado uma alíquota de 10 ml de sangue após 15 minutos do início da sessão e 15 minutos antes do término, e 5 ml de sangue para análise de lipoproteína de baixa densidade (LDL).

O grupo controle será constituído de 20 sujeitos que não realizam hemodiálise.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

1. Critérios de Inclusão e Exclusão

Critérios de inclusão:

1. Sexo masculino;
2. Faixa etária: entre 30 e 65 anos;
3. Portadores de insuficiência renal crônica;
4. Duração do tratamento de 12 meses e 12 anos;
5. Procedimento de hemodiálise 3 vezes por semana;
6. Duração do procedimento de hemodiálise de 4 horas.

Critérios de exclusão:

1. Pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA);
2. Pacientes com hepatite.

Para os controles serão excluído pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), hepatite, hipertensão ou diabetes mellitus.

RISCOS E BENEFÍCIOS

Benefícios:

Prefere-se sugerir alternativas economicamente viáveis para as linhas arteriais e venosas fim de contribuir para o bem estar dos pacientes que necessitam de hemodiálise.



Termo de consentimento livre e esclarecido e/ou Termo de compromisso para uso de dados.

Claro, objetivo, preserva o sujeito de pesquisa.

Conclusões

Projeto aprovado.

Devido ao exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCPR, de acordo com as exigências das Resoluções Nacionais 196/96 e demais relacionadas a pesquisas envolvendo seres humanos, em reunião realizada no dia: **27/10/2010**, manifesta-se por considerar o projeto **Aprovado**.

Situação Aprovado

Lembramos aos senhores pesquisadores que, no cumprimento da Resolução 196/96, o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) deverá receber relatórios anuais sobre o andamento do estudo, bem como a qualquer tempo e a critério do pesquisador nos casos de relevância, além do envio dos relatos de eventos adversos, para conhecimento deste Comitê. Salientamos ainda, a necessidade de relatório completo ao final do estudo.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP PUCPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciá-la antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por este CEP em qualquer tempo.

Curitiba, 27 de Outubro de 2010.

Prof. MSc. **Naím Akel Filho**
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
PUCPR



ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

QUANTIFICAÇÃO DO DEHP LIBERADO EM LINHAS DE HEMODIÁLISE FABRICADAS EM PVC

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1 - Eu, _____, RG, _____, entendo que sou portador de Insuficiência Renal Crônica, uma doença que acomete os rins causando perda da capacidade excretória renal, acarretando elevação das concentrações séricas ou plasmáticas provenientes do metabolismo protéico, acarretando aumento de uréia, tendo como alternativa a terapia dialítica Hemodiálise. A Hemodiálise é realizada com auxílio de um circuito de circulação extracorpórea constituída de tubos de plástico PVC (poli cloreto de vinila) e estou sendo convidado a participar do projeto chamado: " Quantificação do DEHP liberado em linhas de Hemodiálise fabricadas em PVC". Para colaborar com o projeto, 15 ml do meu sangue serão coletados na linha de hemodiálise, dos quais 10 ml serão destinados à quantificação de DEHP e 5 ml serão destinados à quantificação de lipoproteína de baixa densidade. Tenho ciência de que minha participação neste projeto é voluntária.

2 - O DEHP, composto químico acrescentado ao PVC para torná-lo flexível, Pacientes submetidos a procedimentos médicos que incluem uso de tubos de PVC como: terapia intravenosa, nutrição enteral, transfusão sanguínea, hemodiálise, circulação extracorpórea, são potencialmente expostos ao DEHP. Eu entendo que este projeto está sendo desenvolvido em conjunto com o Instituto de Grade de Ciências Básicas (IGCB), Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) e Universidade Federal do Paraná (UFPR) através do Laboratório de Patologia e que os pesquisadores estão empenhados na pesquisa básica de quantificar o DEHP em linhas de hemodiálise.

3 - Eu entendo que o sangue coletado será usado apenas para o estudo " Quantificação do DEHP liberado em linhas de Hemodiálise fabricadas em PVC e sua dependência do nível de colesterol" e **não será utilizado para qualquer fim terapêutico ou comercial.**

4 - Eu entendo que no momento da publicação dos resultados obtidos nesta pesquisa, não aparecerá meu nome e sim um código, justamente para preservar a minha identidade.

5 - Eu li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual fui convidado a participar e concordo voluntariamente em participar.

.

Curitiba, ___ / ___ / ___

Assinatura do participante = _____

Assinatura do pesquisador = _____
Prof. Dra. Beatriz L. Fernandes

Assinatura do pesquisador responsável = _____
Fernanda Maria

- Em caso de reclamação ou qualquer tipo de denúncia sobre este estudo devo ligar para o CEP PUCPR (41) 3271-2292 ou mandar um email para nep@pucpr.br.