

DETERMINAÇÃO DE Cl, K E Na EM SORO SANGUÍNEO DE IDOSOS SAUDÁVEIS DA CIDADE DE SÃO PAULO

Nathalia Souza de Araujo^{1,2} e Mitiko Saiki¹

¹ Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN – CNEN/ SP
Av. Professor Lineu Prestes, 2242
05508-000 São Paulo, SP, Brasil
natsouzaraujo@yahoo.com.br
mitiko@ipen.br

² Faculdades Oswaldo Cruz
Rua Brigadeiro Galvão, 540
01151-00, São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

Na área médica, as pesquisas sobre o papel dos elementos químicos no organismo têm se intensificado mundialmente de modo que, as análises de tecidos e fluidos humano apresentam grande interesse. Estas análises podem fornecer valiosas informações sobre a saúde humana e à exposição aos elementos poluentes e sobre a ingestão de alimentos contaminados. Por essa razão, as análises químicas e bioquímicas do sangue são de grande relevância, uma vez que ele é um dos líquidos mais importantes do organismo. O objetivo deste estudo foi determinar as concentrações séricas de Cl, K e Na de uma população de idosos saudáveis da cidade de São Paulo visando a comparação com valores de referência usado nos laboratórios clínicos. As amostras de soro sanguíneo de idosos saudáveis foram adquiridas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina, USP (FMUSP). Para coleta destas amostras o presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da FMUSP e do IPEN-CNEN/SP. A qualidade dos resultados analíticos foi avaliada pela análise do material de referência certificado NIST 1577b Bovine Liver. Os resultados apresentaram boa exatidão e precisão, uma vez que tiveram erros relativos inferiores a 5,2% e desvios padrão relativos inferiores a 8,6%. A média das concentrações (mmol L⁻¹) de Cl no soro analisado foi de 99,1; as de K foram de 3,9 e as de Na foram de 136,9. Os dados obtidos permitiram concluir que a maioria dos idosos apresentou concentrações de Cl, K e Na dentro da faixa dos valores de referência utilizados nos laboratórios clínicos.

1. INTRODUÇÃO

O sangue é um dos fluidos mais importantes do organismo, responsável pela nutrição dos tecidos, controle da temperatura corporal, transporte de nutrientes e oxigênio e de excreção metabólica (uréia, ácido úrico, dentre outros) [1,2].

Este fluido é considerado um material bastante adequado para análise uma vez que pode fornecer valiosas informações sobre a condição de saúde do indivíduo, sobre a exposição da população aos elementos tóxicos, dos efeitos da poluição ambiental e usado na diagnose e tratamento de determinadas doenças. Também é de fundamental importância estabelecer níveis de concentrações de elementos adequadas e seguras no sangue para a saúde humana, tendo em vista que diversos elementos são essenciais para a sobrevivência, porém, dentro de uma faixa estreita de concentrações [2].

O interesse sobre os efeitos dos elementos no organismo humano tem aumentado à procura pelas medições cada vez mais confiáveis e precisas para análise do sangue total ou soro

sanguíneo. Atualmente, várias técnicas tais como a análise por ativação com nêutrons (NAA), espectrometria de massa com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) e espectrometria de absorção atômica (AAS) são comumente utilizadas.

Diversos elementos presentes no soro sanguíneo e no sangue total vêm sendo determinados a fim de avaliar a correlação entre elementos e determinados tipos de doenças. O Na presente no organismo é essencial para o manter o equilíbrio do pH dos fluidos extracelulares, da transmissão nervosa e contração muscular. Porém em altas concentrações deste elemento pode causar hipertensão, problemas renais e cardíacos. Sendo o Na um íon de carga positiva, está em equilíbrio com o Cl, um íon negativo. O potássio também associado à hipertensão, têm efeitos diuréticos, atua no sistema nervoso central e periférico e em crises hipertensivas, pode evitar o derrame. [3-5].

No Brasil alguns trabalhos foram realizados visando à determinação das concentrações de elementos como Na, Cl, Br, Ca, Fe e Zn no soro sanguíneo de idosos. Os resultados mostraram que a maior parte das amostras analisadas apresentava valores concordantes com a literatura, indicando que as concentrações desses elementos não estavam em deficiência nem em excesso [6-8].

O objetivo deste trabalho foi determinar as concentrações de elementos no soro sanguíneo, para comparação dos resultados com os valores utilizados nos laboratórios clínicos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Coleta das Amostras de Soro Sanguíneo

As coletas das amostras de sangue, bem como a obtenção do soro sanguíneo, foram realizadas no Hospital das Clínicas, pelos pesquisadores da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). O sangue foi coletado em tubos de coleta apropriado para análise de elementos traço. Na figura 1 é mostrada a fotografia da coleta. O soro obtido foi enviado ao Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica, IPEN, na forma de soro congelado. Para otimização das condições experimentais, maiores cuidados como armazenagem foram tomadas não somente quanto à contaminação das amostras, como também, nos processos de secagem por liofilização e homogeneização para que fosse garantida a reprodutibilidade dos resultados. Os doadores de sangue foram os idosos de ambos os sexos, residentes na área metropolitana de São Paulo com faixa etária de 60 a 90 anos. Os seguintes critérios de exclusão foram adotados para seleção dos indivíduos: tabagismo, hipertensão, uso de suplementos nutricionais, transfusão de sangue nos últimos seis meses, alcoolismo, demência e doenças como HIV, hepatite e anemia. Foram analisadas 37 amostras de soro sanguíneo.

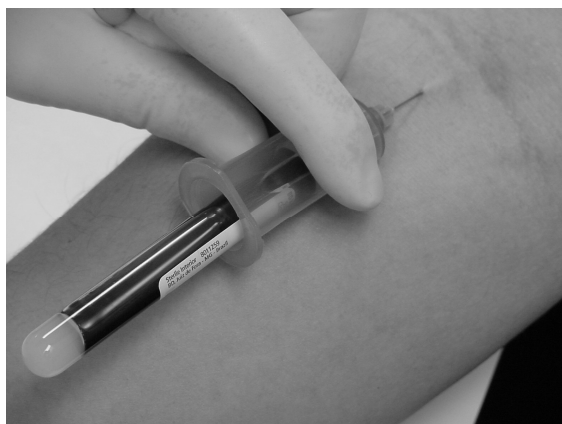


Figura 1. Fotografia da coleta de sangue humano.

2.2 Análise do Material de Referência Certificado

Para o controle da qualidade dos resultados analíticos com relação à precisão e exatidão foi utilizado o material de referência certificado NIST 1577b Bovine Liver do *National Institute of Standards & Technology*, EUA.

2.3 Preparação dos Padrões Sintéticos dos Elementos

As soluções padrão dos elementos Cl, K e Na utilizadas foram do *Spex CertiPrep*, EUA. A partir das soluções estoques padrão foram preparadas soluções padrão diluídas simples e multielementares. Pipetou-se alíquotas de 50 μ L destas soluções padrão sobre tiras de papel filtro Whatman n^o 40, as quais foram colocadas no dessecador para a secagem por um período de 24 horas. As quantidades dos elementos nestes padrões sintéticos foram de 500 μ g para Cl, 500,5 μ g para K e de 500,5 μ g para Na. Após completa secagem das alíquotas pipetadas, essas tiras foram dobradas e armazenadas em invólucros de polietileno. Esses invólucros foram confeccionados com polietileno incolor, previamente lavados em solução de ácido nítrico p.a. diluído e água purificada.

2.4 Procedimento para Análise por Ativação com Nêutrons (NAA)

Cerca de 150 mg das amostras de soro sanguíneo ou do material de referência certificado foram pesados em invólucros de polietileno. Para a irradiação as amostras, o material de referência e os padrões sintéticos colocados em um novo invólucro de polietileno e foi inserido em um dispositivo de polietileno, chamado de coelho. A irradiação foi realizada na Estação Pneumática n^o 4 do reator nuclear de pesquisa IEA-R1 do IPEN-CNEN-SP sob um fluxo de nêutrons térmicos da ordem de $6,6 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ por um período de 10 segundos. Para a medição das atividades gama, as amostras, o material de referência e os padrões foram

fixados individualmente em suportes de aço inoxidável. As medições das atividades gama foram feitas em um detector semiconductor de Ge hiperpuro da marca Canberra ligado a um espectrômetro de raios gama e sistema eletrônico associado. As energias dos raios gama e tempos de meia vida foram utilizados para identificação dos radioisótopos nos espectros de raios gama. [10]. Os radioisótopos encontrados foram: ^{38}Cl , ^{42}K , e ^{24}Na . Para o cálculo das concentrações dos elementos utilizou-se o método comparativo aplicando-se a seguinte relação [11]:

$$C_a = \left[m_p \cdot A_a \cdot e^{0,693(tda-tdp)/t_{1/2}} \right] / \left[M_a \cdot A_p \right] \quad (1)$$

Onde A é a taxa de contagem do radioisótopo considerado. Os índices a e p indicam amostra e padrão respectivamente; M_a é a massa total da amostra; $t_{1/2}$ é a meia-vida do radioisótopo; m_p é a massa do elemento no padrão; C_a é a concentração do elemento na amostra; tda e tdp são os tempos de decaimento da amostra e padrão, respectivamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise do material de referência certificado cujos resultados são apresentados na Tabela 1, os valores obtidos foram concordantes com os valores certificados, isto é, os erros relativos foram inferiores a 4,1% indicando boa exatidão. Os resultados obtidos indicaram boa precisão, com desvios padrão relativos percentuais inferiores a 8,6%.

Tabela 1. Concentrações dos elementos no material de referência certificado NIST 1577b Bovine Liver.

Elementos	Este Trabalho			Valor do Certificado
	Média ± DP ^a	DPR ^b %	ER ^c %	
Cl, $\mu\text{g g}^{-1}$	2926 ± 199	6,7	5,2	2780 ± 60
K, $\mu\text{g g}^{-1}$	10347 ± 896	8,6	4,1	9940 ± 20
Na, $\mu\text{g g}^{-1}$	2495 ± 80	3,1	3,1	2420 ± 60

a. Desvio Padrão, b. Desvio Padrão Relativo, c. Erro Relativo

Na Tabela 2 são apresentadas as concentrações obtidas de Cl, K e Na nas análises em replicatas das amostras de soro sanguíneo juntamente com os valores de referência. Os dados obtidos foram concordantes com os utilizados nos laboratórios clínicos.

Tabela 2. Médias, desvios padrão e faixas de concentrações dos elementos Cl, K, e Na nas amostras de soro sanguíneo.

Elementos	Este Trabalho		Valores de referência [12]
	Média ± DP ^a	Faixa	
Cl, mmol L ⁻¹	99,1 ± 6,3	(80,5 – 133,1)	98 – 111
K, mmol L ⁻¹	3,9 ± 1,2	(2,49 – 5,94)	3,5 – 5,0
Na, mmol L ⁻¹	136,9 ± 8,4	(122,5 – 147,5)	136 – 145

a. Desvio Padrão

4. CONCLUSÃO

Os resultados indicaram a viabilidade da aplicação da análise por ativação com nêutrons na determinação de elementos como Cl, K e Na no soro sanguíneo por meio de irradiações curtas. Os dados obtidos apresentaram uma boa exatidão e uma boa precisão. Com base nos resultados obtidos empiricamente, conclui-se que a maioria dos idosos apresentou concentrações de Cl, K e Na dentro da faixa dos valores de referência utilizados nos laboratórios clínicos

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro do CNPq e pela bolsa PIBIC.

REFERÊNCIAS

1. I. Rodushlin, F. Odman, S. Branth, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **364**, pp.338-346 (1999).
2. S. B. Santos, “Elementos traço em soro sanguíneos medidos pelos métodos PIXE e ICP-MS,” *Dissertação (Mestrado) – Instituto de Física da Universidade de São Paulo*, São Paulo, Brasil (2007).
3. J. He, G. S. Tell, Y. C. Tang, P. S. Mo, G. Q. He, “Relation of electrolytes to blood pressure in Men,” *American Heart Association*, **17**, pp.378-385, Dallas, Texas (1991).
4. D. M. Junior, A. M. G. Pierin, A. P. Bambirra, J. H. Assunção, J. M. Monteiro, R. Y. Chinen, R. B. Coser, V. N. Aikawa, F. M. Cação, M. Hausen, A. F. Vilibor, N. E. Aikawa, A. N. Konno, R. B. Coser, “Hypertension in employees of an University General Hospital,” *Revista do Hospital das Clínicas*, **59**, (2004).
5. H. F. Loyke, “Effects of elements in human blood pressure control,” *St. Vincent Charity Hospital*, Department of Medicine, **85**, Cleveland, Ohio (2002).
6. M. Saiki, O. Jaluul, W. Jacob-Filho, N. M. Sumita, “Characterization of zinc of an elderly population in the São Paulo Metropolitan region, So, Brazil by neutron activation analysis of head hair and blood serum,” *Clinical Chemistry*, **52**, Supplement, (2006).
7. N. M. Sumita, M. E. Mendes, O. Jaluul, W. Jacob-Filho, M. Saiki, “Evaluation of trace elements concentrations in blood serum os a healthy elderly populations by neutron activation analysis,” *Clinical Chemistry*, **52**, Supplement, (2006).
8. N. M. Sumita, M. E. Mendes, O. Jaluul, W. Jacob-Filho, M. Saiki, “Trace element determination in blood serum samples from elderly population in the city of São Paulo, Brazil,” *Clinical Chemistry*, **51**, Supplement, (2005).

9. NIST, National Institute of Standards and Technology. *Certificate of Analysis*. Standards Material 1577b Bovine Liver. Maryland: NIST (1991).
10. IAEA, INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Practical aspects of operating a neutron activation analysis laboratory*. Viena: IAEA, (IAEA – TECDOC – 564) (1990).
11. D. De Soete, R. Gijels, J. Hoste, *Neutron activation analysis*, London: Wiley – Interscience (1972).
12. A. H. B Wu, “Tietz clinical guide to laboratory tests”, *Saunders Elsevier*, St. Louis, Missouri (2006).