

II Simpósio de Pesquisa do Ecossistema Ânima:
Juntos pelo Conhecimento: um novo saber cria um novo amanhã

**DIFERENÇAS NO SANGUE TOTAL ANTES E DEPOIS DA SESSÃO DE
HEMODIÁLISE MEDIDAS POR ESPECTROSCOPIA RAMAN**

Msc. Catarina Rodrigues da Silva¹; Prof. Dr Landulfo Silveira Jr.¹ (orientador)

RESUMO:

Analisou-se espectros Raman de sangue total de 40 pacientes com insuficiência renal crônica, antes e depois de uma sessão de hemodiálise, para identificar os componentes sanguíneos através dos picos dos espectros Raman e relacionar as possíveis diferenças entre as etapas pré e pós diálise. Foi utilizado espectrômetro Raman dispersivo (laser de diodo 830 nm, potência na saída de 350 mW e espectros com resolução de 4 cm^{-1} , na faixa entre 400 e 1800 cm^{-1}). O espectro Raman médio de cada indivíduo e o espectro médio da diferença entre pré e pós diálise tiveram seus picos mais intensos identificados. Realizou-se a análise de componente principal, seguida de testes paramétricos e não-paramétricos. Houve maior concentração dos picos antes da sessão de hemodiálise. A hemoglobina dominou a interação com o laser, permitindo identificar glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e soro, e dificultou identificar os demais componentes sanguíneos.

INTRODUÇÃO:

Para o rastreamento de doenças renais, pode-se realizar as análises de fluidos, as quais destacam-se as análises sanguíneas e análise da matriz urinária, que permite a identificação de determinados compostos que se encontram associados às patologias a que o indivíduo examinado esteja sujeito. Os biomarcadores encontrados nestes fluidos contêm informações sobre o estado do organismo ou sobre influências do meio ambiente circundante (Alves, 2012).

Dentre as tecnologias de análises de fluidos, a técnica da espectroscopia Raman vem se destacando como uma ferramenta importante em análise de processos biológicos, pois se trata de um método não destrutivo de análise bioquímica da amostra (Saatkamp et al, 2016; Silveira et al, 2017).

A análise das amostras de sangue total por espectroscopia Raman tem sido explorada no campo de diagnóstico. Berger et al (1997) descreveu um dos primeiros estudos



que analisou sangue total por espectroscopia Raman, buscando quantificar glicose em níveis acima dos fisiológicos, descrevendo a técnica como potencial pra realizar medidas de glicose sanguínea com acurácia clínica. Silva et al (2018) utilizou espectroscopia Raman dispersiva para discriminar amostras de sangue total e plasma de indivíduos saudáveis e pacientes com leucemias, correlacionando as diferenças bioquímicas entre os grupos pelas características espectrais Raman obtidas via análise de componente principal (PCA) e regressão por mínimos quadrados parciais (PLS). Silva et al (2019) propôs o diagnóstico de anemia ferropriva e anemia falciforme em sangue total por espectroscopia Raman, onde as diferenças entre os tipos de anemia referiram-se à diminuição dos picos da hemoglobina em anemia e características espectrais de deoxi-hemoglobina aumentadas e de oxi-hemoglobina diminuídas na anemia falciforme.

Este estudo se propôs a analisar os espectros Raman de amostras de sangue total de portadores de insuficiência renal crônica coletadas antes e após uma sessão de hemodiálise, a fim de identificar os componentes sanguíneos observados através dos picos dos espectros Raman e relacionar as possíveis diferenças nestes componentes decorrentes da sessão de hemodiálise (comparativo entre pré e pós a sessão de hemodiálise).

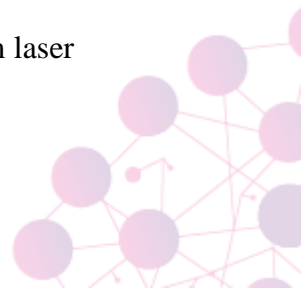
PALAVRAS-CHAVE:

Espectroscopia Raman; sangue total; insuficiência renal crônica, hemodiálise.

MÉTODO:

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Anhembi Morumbi (UAM) sob Parecer No. 2.719.868 (CAEE 91318618.0.0000.5492). Este estudo foi conduzido de acordo com a Resolução No. 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde e a Declaração de Helsinque. Todas as recomendações da Organização Mundial de Saúde para a pandemia de COVID-19 foram adotadas durante a coleta de dados junto aos participantes.

Foram coletadas amostras de sangue total de 40 pacientes (20 homens e 20 mulheres), antes e após a sessão de hemodiálise. As 80 amostras de sangue tiveram seus espectros obtidos por espectrômetro Raman dispersivo (espectrômetro com laser



de diodo em 830 nm, potência de 350 mW e espectros com resolução de 4 cm^{-1} , na faixa entre 400 e 1800 cm^{-1}). Foram adquiridos 3 espectros por amostra, sendo calculado o espectro médio de cada indivíduo e espectro Raman médio da diferença entre as quatro variáveis: Mulheres, Homens, Antes e Após a sessão, os quais tiveram seus picos mais intensos identificados. A PCA, seguida de testes paramétricos e não-paramétricos auxiliaram a identificar com mais detalhes as diferenças espectrais dos componentes sanguíneos do sangue total entre os grupos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A Figura 1 apresenta os espectros Raman médios do sangue total de todos os sujeitos antes e após a sessão de hemodiálise. Os picos em 643, 677, 755, 1003, 1128, 1212, 1225, 1371, 1548, 1564 e 1622 cm^{-1} podem ser atribuídos aos glóbulos vermelhos (Wood e Mcnaughton, 2002; Bankapour et al, 2010). Os picos em 499, 643, 755, 1003, 1128, 1342, 1454 e 1656 cm^{-1} podem ser atribuídos aos glóbulos brancos (linfócitos e granulócitos) (Wood e Mcnaughton, 2002; Bankapour et al, 2010). Os picos em 499, 622, 643, 828, 856, 941, 1003, 1032, 1128, 1212, 1342, 1454 e 1656 cm^{-1} podem ser atribuídos ao soro (albumina) (Silveira et al, 2017).

No espectro da diferença entre todos antes e todos depois hemodiálise (Figura 1), os picos positivos em 672, 756, 1004, 1215 e 1378 cm^{-1} são sugestivos de glóbulos vermelhos (Wood e Mcnaughton, 2002; Bankapour et al, 2010) e estão mais intensos no grupo antes da hemodiálise. Não se observou picos negativos na diferença do espectro médio, o que indica que as maiores diferenças ocorreram nas amostras de sangue total da etapa antes da sessão de hemodiálise.



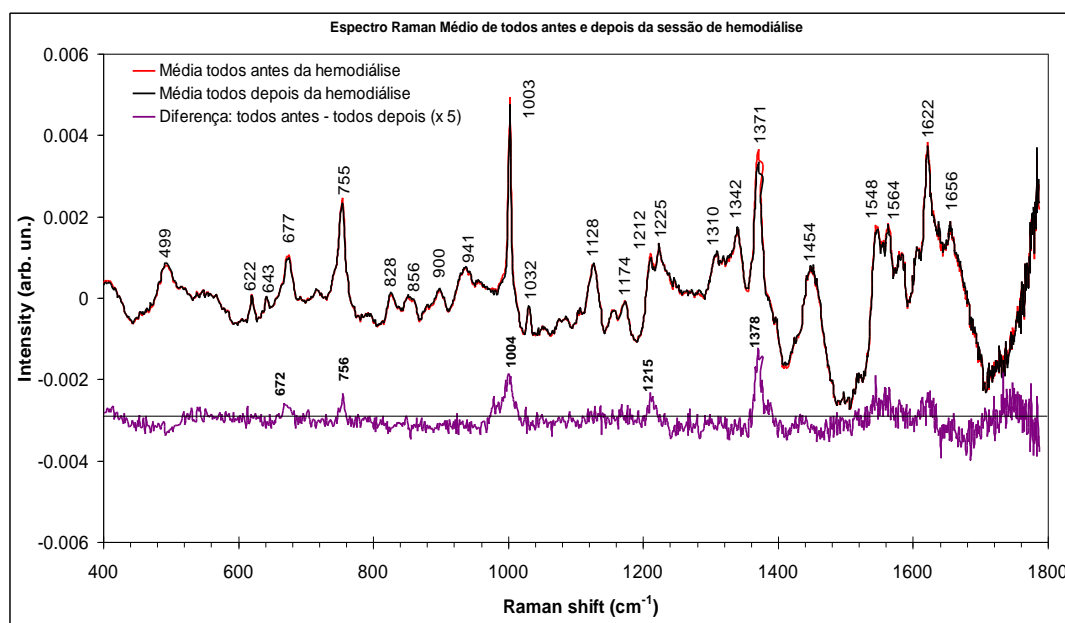


Figura 1. Espectros Raman médios de sangue total de todos antes e após a sessão de hemodiálise. O espectro da diferença entre os grupos antes e depois foi ampliado 5 vezes para melhor visualização.

Ao realizar a PCA, foram identificadas 8 variáveis que apresentam significância ou picos que se relacionam com diferenças na composição das amostras (Tabela 1).

Tabela 1. Comparação estatística entre as médias dos componentes principais, considerando as etapas antes e depois da sessão de hemodiálise.

Componente principal – PC	Comparação entre as médias dos PCs de 1 a 8, a considerar valor de $p \leq 0.05$ como diferença estatística significativa entre as etapas antes e depois da sessão de hemodiálise (em negrito)
1	0,0431 [§]
2	0,1847 [§]
3	0,2708 [§]
4	0,9802 [§]
5	0,2434 [§]
6	0,9093 [§]



7	0,1183 [§]
8	0,8284 [‡]

[‡]Teste *t* pareado (pareado, paramétrico); [§]Teste Wilcoxon (pareado, não paramétrico).

Identificou-se que há diferença estatística significativa entre as etapas antes e depois da sessão de hemodiálise somente no PC1 (Teste Wilcoxon, $p = 0,0431$), especificamente entre o grupo de mulheres antes e depois da sessão de hemodiálise (Teste Wilcoxon, $p = 0,035$). Não houve diferença estatística significativa entre as etapas antes e depois da sessão de hemodiálise no grupo de homens (Teste Wilcoxon, $p = 0,5634$).

A menor intensidade do PC1 nos grupos de mulheres e homens depois da sessão de hemodiálise comparativamente ao grupo antes pode ser um efeito da sessão de hemodiálise que faz a remo o do excesso de líquido e substâncias tóxicas contidas no sangue do paciente, agindo como um rim artificial. Durante o processo é realizada a filtra em e depura o de substâncias indesejáveis e perigosas presentes no sangue, como a creatinina e a ureia, através de uma membrana semipermeável filtradora de impurezas através do dialisado, por diferença de concentra es (osmolaridade) dos compostos (moléculas solúveis) e da água, portanto, se processa entre dois meios líquidos em que, quanto maior o gradiente de concentra o, mais instantânea será a remo o dos dejetos do sangue (Silva, 2012). Ou seja, a amostra pré-hemodiálise estava com a viscosidade do sangue mais diluída, e após a sessão a viscosidade ficou mais concentrada. Considerando que a quantidade de glóbulos vermelhos seja a mesma para ambos os g neros (mulheres: média de hemoglobina 10,97 g/dL e homens média de hemoglobina 10,95 g/dL), o que poderia ter influenciado na diferença seria o soro e seus componentes transportados.

CONCLUSÃO:

No que se refere a identificar os componentes sanguíneos, por se tratar de sangue total, a hemoglobina dominou a intera o com o laser, desta forma, foi permitido apenas identificar glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e soro, dificultando assim a



identificação dos demais componentes do sangue. Quanto às diferenças dos componentes decorrentes da sessão de hemodiálise, houve maior concentração dos picos antes da sessão, houve diferença estatística significativa entre as etapas do grupo de mulheres e não houve diferença estatística significativa entre as etapas do grupo de homens.

REFERÊNCIAS:

- ALVES, R.E.P. Estudo dos Biomarcadores associados a doenças renais. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa (2012).
- BANKAPOUR, A.; ZACHARIAH, E.; CHIDANGIL, S.; VALIATHAN, M.; MATHUR, D. Raman Tweezers Spectroscopy of Live, Single Red and White Blood Cells. PLoS ONE v. 5, n.4, 1-11 (2010).
- BERGER, A.J.; ITZKAN, I.; FELD, M.S. Feasibility of measuring blood glucose concentration by near-infrared Raman spectroscopy. Spectrochimica Acta Part A. v. 53, 287-292 (1997).
- SILVA, A.C. Circuito de Sangue e agentes influenciadores da hemodiálise. VII CONEPI. Palmas. Tocantins (2012).
- SILVA, A.M.; OLIVEIRA, F.S.A.S.; BRITO, P.L.; SILVEIRA, L. Spectral model for diagnosis of acute leukemias in whole blood and plasma through Raman spectroscopy. Journal of Biomedical Optics, v. 23, n.10, 107002-11 (2018).
- SILVA, W.R.; SILVEIRA, L.; FERNANDES, A.B. Diagnosing sickle cell disease and iron deficiency anemia in human blood by Raman spectroscopy. Lasers in Medical Science. v. 35, 1065-1074. (2020).
- SILVEIRA JR, L.; BORGES, R.C.F.; NAVARRO, R.S.; GIANA, H.E.; ZANGARO, R.A.; PACHECO, M.T.T.; FERNANDES, A.B. Quantifying glucose and lipid components in human serum by Raman spectroscopy and multivariate statistics. Lasers Med Sci v. 32,787-795. (2017).
- WOOD, B.R.; MCNAUGHTON, D. Raman excitation wavelength investigation of single red blood cells *in vivo*. J. Raman Spectrosc v. 33, 517-523 (2002).

FOMENTO





Silveira Jr. agradece ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa de produtividade (Processo n  314167/2021-8), e ao Instituto Ânima (IA) pela bolsa de pesquisa.

C.R. Silva agradece o apoio da CAPES (Coordena o de Aperfei amento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de doutorado (Código Financeiro 001).

