

Artigo Original

Associação entre escore de gravidade, níveis inflamatórios e dano no DNA em pacientes na terapia intensiva

Association between severity score, inflammatory levels and DNA damage in intensive care patients

Asociación entre puntaje de gravedad, niveles inflamatorios y daño en el ADN en pacientes de cuidados intensivos

Andriela Vieceli Mattje¹ ORCID 0000-0003-2290-816X
Patrícia Molz^{1,2} ORCID 0000-0001-8940-7023
Caio Fernando de Oliveira¹ ORCID 0000-0002-5038-399X
Diene da Silva Schlickmann¹ ORCID 0000-0002-9639-9815
Jane Dagmar Pollo Renner¹ ORCID 0000-0003-0649-7081
Leo Kraether Neto¹ ORCID 0000-0002-0391-1833
Daniel Prá¹ ORCID 0000-0003-2818-0173
Silvia Isabel Rech Franke¹ ORCID 0000-0002-1935-3231

¹Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

²Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Submetido: 31/08/2019

Aceito: 18/06/2020

E-mail: silviafr@unisc.br

Endereço: Av. Independência, 2293, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil.

RESUMO

Justificativa e Objetivos: A Unidade de Terapia Intensiva (UTI) é responsável pelo tratamento de pacientes críticos e sua monitorização contínua pode melhorar a qualidade dos cuidados prestados. O objetivo deste estudo é associar a Escala Psicológica Aguda Simplificada (SAPS 3) com os níveis inflamatórios e o dano ao DNA em pacientes internados na UTI de um hospital do Vale do Taquari, Rio Grande do Sul, Brasil. **Métodos:** Trata-se de uma pesquisa transversal realizada com 22 pacientes internados em uma UTI adulta, no período de janeiro a junho de 2016. O escore SAPS 3 foi pontuado pela equipe médica na admissão dos pacientes e amostras sanguíneas foram obtidas após 24 e 72 horas de internação para dosagem de Proteína C Reativa (PCR) e dano no DNA. **Resultados:** O escore SAPS 3 não se associou ao PCR de 24 e 72h. Entretanto, o escore SAPS 3 associou-se significativamente ao índice e a frequência de dano DNA, somente após 72 horas de internação. **Conclusão:** O escore de gravidade não se associou aos níveis de PCR, mas a danos no DNA, somente após 72 horas da admissão.

Descritores: Cuidados Críticos. Escala Psicológica Aguda Simplificada. PCR. Dano ao DNA.

ABSTRACT

Background and Objectives: The Intensive Care Unit (ICU) is responsible for the treatment of critical patients and monitoring it continuously can improve the quality of care provided. This study aims to associate the Simplified Acute Physiology Score (SAPS 3) with inflammatory levels and genomic damage in patients admitted to the ICU of a hospital in Vale do Taquari, Rio Grande do Sul, Brazil. **Methods:** This is a cross-sectional study conducted with 22 patients from an adult ICU, between January and June 2016. The SAPS 3 was scored by the medical staff at the admission of patients and blood samples were obtained after 24 and 72 hours of hospitalization for C-Reactive Protein (CRP) dosing and DNA damage. **Results:** The SAPS 3 score was not associated with 24- and 72-hours CRP. However, the SAPS 3 score was significantly associated with the index and frequency of DNA damage, only after 72 hours of hospitalization. **Conclusion:** The severity score was not associated with CRP levels, but with DNA damage only after 72 hours of admission.

Keywords: Critical Care. Simplified Acute Physiology Score. Polymerase Chain Reaction. DNA damage.

RESUMEN

Justificación y objetivos: La Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) es responsable del tratamiento de pacientes críticos, y su monitoreo continuo puede mejorar la calidad de la atención ofrecida. El presente estudio tuvo como objetivo asociar la Puntuación Fisiológica Simplificada Aguda (SAPS 3) con los niveles inflamatorios y el daño al ADN en pacientes de la UCI de un hospital del Valle de Taquari, Rio Grande do Sul, Brasil. **Métodos:** Este es un estudio transversal realizado con 22 pacientes ingresados en una UCI de adultos, entre enero y junio de 2016. El equipo médico calificó la puntuación SAPS 3 al ingreso de los pacientes, y se obtuvieron muestras de sangre después de 24 y 72 h de hospitalización para la medición del PCR y el daño al ADN. **Resultados:** La puntuación SAPS 3 no se asoció con la Proteína C Reactiva (PCR) a 24 y 72 horas. Sin embargo, lo asoció significativamente con el índice y la frecuencia de daño al ADN solo después de 72 horas de hospitalización. **Conclusiones:** El puntaje de gravedad no se asoció con los niveles de PCR, sino con el daño al ADN solamente 72 horas después del ingreso de los pacientes.

Palabras clave: Cuidados Críticos. Puntuación Fisiológica Simplificada Aguda. Reacción en Cadena de la Polimerasa. Daño del ADN.

INTRODUÇÃO

A Unidade de Terapia Intensiva (UTI) é o espaço hospitalar destinado ao tratamento dos pacientes críticos, que necessitam de monitorização contínua para estabilização e melhora das suas condições clínicas.¹ A avaliação do desempenho dessa unidade hospitalar é necessária para desenvolver e aprimorar as estratégias de rotina, visando melhorias na qualidade dos cuidados prestados aos pacientes.²

O escore fisiológico agudo simplificado (SAPS 3) é considerado um protocolo de prognóstico importante a ser seguido em UTI, para identificar os pacientes mais graves, que devem receber cuidados sistematizados.^{3,4} Além disso, para auxiliar na determinação de prognóstico, a proteína C reativa (PCR) representa um biomarcador importante, expressada especialmente na fase aguda inflamatória. A PCR também tem sido usada como biomarcador de prognóstico e resposta para o tratamento em pacientes com pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV), infecção muito comum na UTI.^{5,6}

Concomitantemente aos processos inflamatórios, podem ocorrer também danos no DNA, responsável pela preservação e reposição de informação genética nas células. Para determinar a gravidade desses danos nas células, pode-se utilizar o ensaio cometa, método versátil e adaptável aplicado há vários anos.⁷ Entretanto, até o momento, não há relatos na literatura referentes à aplicação desse ensaio em pacientes críticos na UTI.

Dessa forma, este estudo objetivou associar o escore SAPS 3 com os níveis inflamatórios e dano no DNA em pacientes internados na UTI de um hospital de médio porte do Vale do Taquari, Rio Grande do Sul, Brasil.

MÉTODO

O presente estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC) (CAAE: 50606815.1.0000.5343) e pelo Centro de Estudos e Pesquisas (Cenepe) do Hospital Bruno Born (HBB), Lajeado, Rio Grande do Sul, conforme a Resolução n.º 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

Trata-se de um estudo transversal observacional prospectivo, com pacientes internados na UTI adulta do HBB, entre janeiro e junho de 2016. Foram incluídos no estudo todos os pacientes internados há menos de 24 horas na UTI do hospital e que permaneceram por no mínimo 72

horas na unidade, que aceitaram participar da pesquisa, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido no momento da internação na UTI. No caso de pacientes impossibilitados, a permissão foi dada pelo responsável. Amostras sanguíneas dos participantes foram obtidas durante as primeiras 24 horas de internação e após 72 horas de internação, para ensaio cometa e dosagem de PCR. Excluíram-se da amostra pacientes que foram transferidos de outras instituições de saúde; ficaram internados na própria instituição por mais de 48 horas no último mês; apresentaram diagnóstico de pneumonia ou bloqueio maxilo-mandibular (pela dificuldade de higienização); bem como aqueles de quem não foi possível recolher pelo menos duas amostras sanguíneas para a realização de exames laboratoriais.

As variáveis de interesse, referentes aos participantes, foram coletadas e registradas em ficha de controle que incluíam: idade, sexo, desenvolvimento de PAV (sim ou não), motivo da internação, tempo de permanência na unidade, utilização de ventilação mecânica e antibióticos, pontuação do escore SAPS 3, evolução do paciente e valores de PCR e ensaio cometa na primeira e segunda coletas (durante as primeiras 24 horas e após 72 horas de internação na UTI, respectivamente). A verificação nas primeiras 24 horas avaliou o paciente durante a internação na UTI e após 72 horas, momento em que ele pode desenvolver PAV (pneumonia ocorrida após 48 horas, resultante da intubação endotraqueal ou da traqueotomia para receber ventilação mecânica, bem como da remoção da ventilação mecânica e extubação).⁶

A determinação do escore SAPS 3 foi realizada no momento da admissão do paciente na UTI, para prever o prognóstico de mortalidade hospitalar.⁶ Tal medida é uma prática de rotina da unidade realizada pela equipe médica de plantonistas nas primeiras 24 horas após a admissão dos pacientes. A pontuação de SAPS 3 varia de 0 a 217 pontos, e quanto maior a pontuação identificada, maior a probabilidade de óbito do paciente crítico.⁸

As amostras sanguíneas (sangue total e soro), obtidas a partir do laboratório de análises clínicas responsável pelos exames de rotina dos pacientes internados, foram encaminhadas ao Laboratório de Nutrição Experimental da UNISC para avaliação do dano no DNA pelo ensaio cometa e ao Laboratório de Bioquímica do Exercício da UNISC, para a dosagem de PCR.

O ensaio cometa alcalino foi realizado conforme protocolo padrão do Laboratório de Nutrição Experimental da UNISC.⁹ Cem células por indivíduo (50 por lâmina, duas lâminas por indivíduo), selecionadas aleatoriamente, foram analisadas em microscópio convencional com magnificação de 200 vezes. O dano foi visualmente determinado pela classificação das células

(morfologia em forma de “cometa”) em cinco classes de migração de DNA, de dano 0 (sem dano, morfologia circular apenas “cabeça” e nenhuma “cauda”) até dano 4 (dano máximo, “cauda” pronunciadamente maior do que a “cabeça”) (Figura 1). O índice de dano (ID) foi obtido pela soma de células individuais classificadas, variando de 0 (nenhum dano: 100 células vezes 0) para 400 (dano de máximo: 100 células vezes 4). A frequência de dano (FD), em porcentagem (%), foi calculada pela relação entre o número de células com dano (classificadas de 1-4) e o total de células da amostra. Células com núcleos não detectáveis (NDCN) (cabeça e cauda separadas) não foram consideradas.

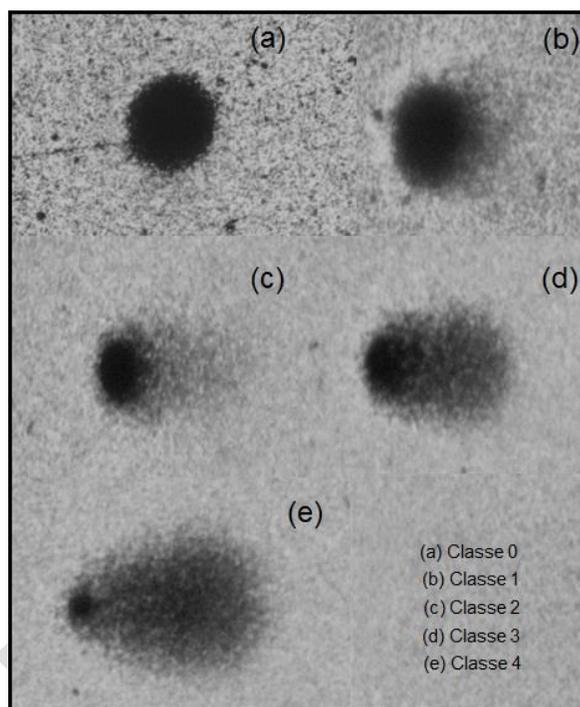


Figura 1. Imagens típicas obtidas através de ensaio cometa. Santa Cruz do Sul, RS, Brasil, 2016

A PCR foi dosada por imunoturbidimetria no sistema automatizado Miura 200 (I.S.E., Roma, Itália), por meio de kits comerciais DiaSys (DiaSys Diagnostic Systems, Alemanha), no Laboratório de Bioquímica e Exercício da UNISC. Valores de PCR acima de 0,6 mg/dL foram considerados indicativos de inflamação e, quanto maior o valor, maior a intensidade da inflamação.¹⁰

Os dados obtidos foram analisados no programa Statistical Package for Social Sciences (SPSS, IBM Corp, Somers, Estado Unidos) versão 20.0 e para a plotagem dos gráficos foi utilizado o programa GraphPad Prisma versão 6.01 (Graphpad Inc., San Diego, Estados Unidos).

A correlação de Spearman foi usada para verificar a relação entre os valores de PCR, danos no DNA e o escore SAPS 3. O nível de significância considerado foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS

De janeiro a junho de 2016, foram considerados elegíveis para o estudo 179 pacientes que se internaram na UTI adulta do HBB, entretanto obtiveram-se amostras sanguíneas de 64. Destes, 22 precisaram realizar duas coletas para avaliação do nível de dano genômico e PCR, no dia da admissão na UTI e 72 horas após a internação (Figura 2).

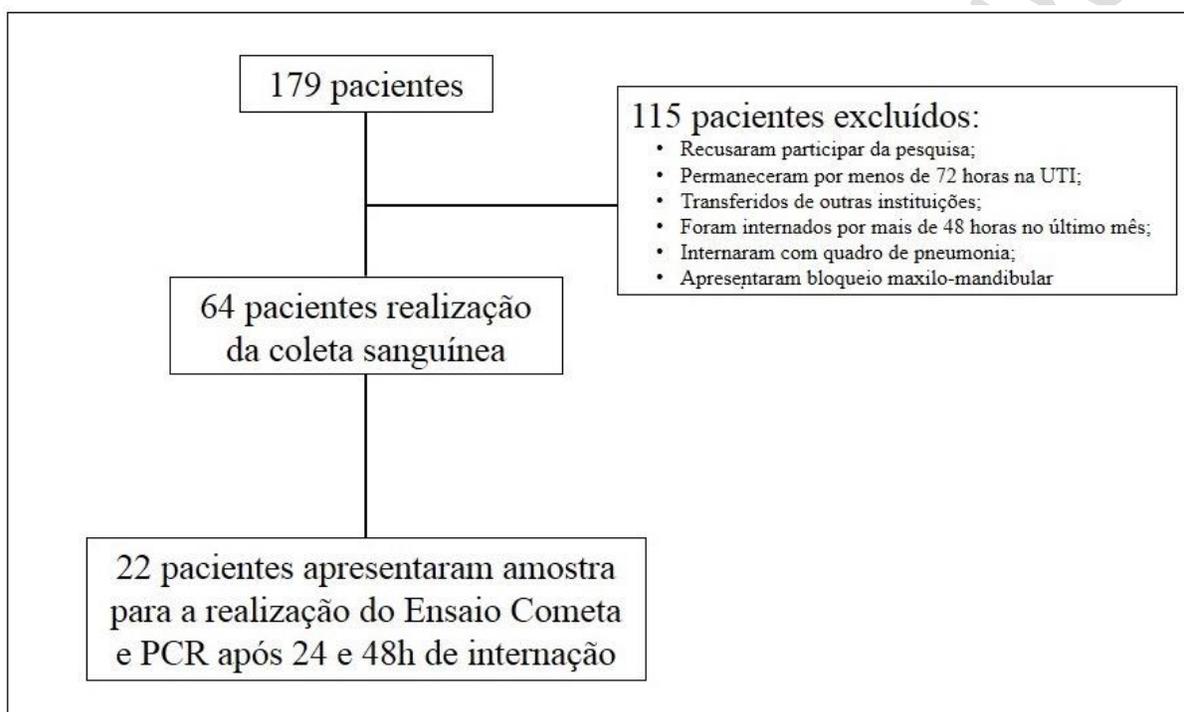


Figura 2. Fluxograma de participantes elegíveis, que internaram na UTI do Hospital Bruno Born, de Lajeado, RS, no período do estudo e número da amostra final. Santa Cruz do Sul, RS, Brasil, 2016

A Tabela 1 apresenta as características dos 22 pacientes incluídos no estudo. A média de idade foi de $56,82 \pm 18,88$ anos, a maioria era do sexo masculino (81,8%) e se internou por causas cirúrgicas (72,7%). O tempo médio de internação foi cerca de seis dias e o índice de mortalidade foi de 13,6%. Já a média do escore SAPS 3 apresentado ficou próxima dos 42 pontos.

Tabela 1. Características dos pacientes admitidos na UTI, participantes da amostra (n=22). Santa Cruz do Sul, RS, Brasil, 2016

Variável	Média	±DP	N	%
Idade (anos)	56,82	18,88		
Sexo				
Feminino			4	18,2
Masculino			18	81,8
Desenvolvimento de PAV/PAH				
Sim			3	13,6
Não			19	86,4
Motivo de Internação				
Clínica			6	27,3
Cirúrgica			16	72,7
Permanência na UTI (dias)	5,64	3,57		
Ventilação Mecânica				
Sim			20	90,9
Não			2	9,1
Uso de antibióticos				
Sim			19	86,4
Não			3	13,6
Escore SAPS 3	41,64	14,00		
Evolução do paciente				
Alta			19	86,4
Óbito			3	13,6
Avaliação nas primeiras 24 horas de internação				
PCR (mg/dL)	6,65	5,45		
Índice de dano (u.a)	13,66	6,06		
Frequência de dano (%)	8,87	6,06		
Avaliação após 72 horas de internação				
PCR (mg/dL)	4,14	3,06		
Índice de dano (u.a)	9,44	3,75		
Frequência de dano (%)	6,45	2,47		

DP: desvio-padrão; F: feminino; M: masculino; PAV: pneumonia associada à ventilação mecânica; PAH: pneumonia adquirida em hospital; SAPS 3: escore fisiológico agudo simplificado; PCR: proteína C reativa; UTI: unidade de terapia intensiva.

Os níveis de PCR nas primeiras 24 horas e após 72 horas de internação não se associaram com a pontuação do escore SAPS 3 apresentada pelos pacientes ($p > 0,05$) (Figura 3).

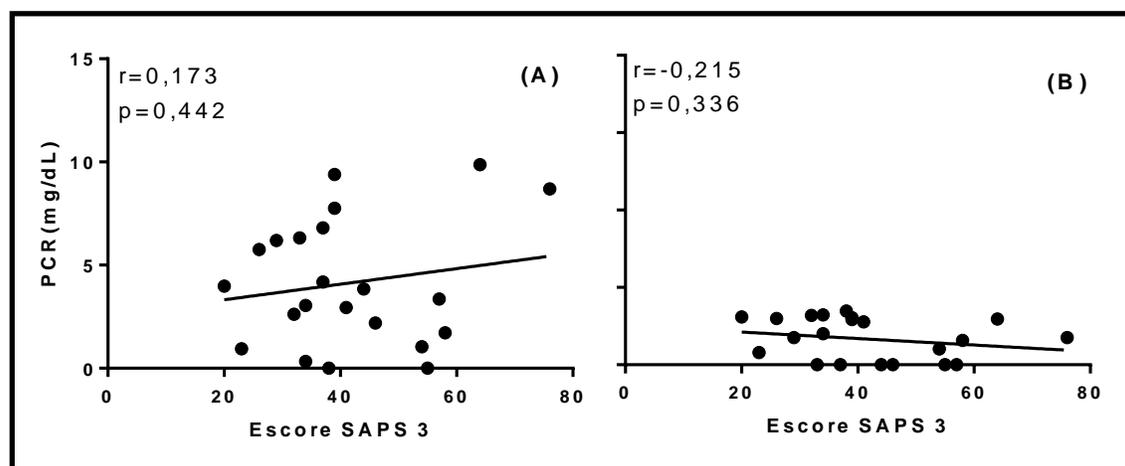


Figura 3. Relação entre os níveis de PCR com o escore SAPS 3 nas primeiras 24 horas (A) e 72 horas (B) após a admissão na UTI. r e p : coeficiente de correlação e nível de significância, respectivamente, de acordo com o teste de correlação de Spearman. Santa Cruz do Sul, RS, Brasil, 2016

Não foi observada associação entre índice de dano no DNA e escore SAPS 3 nas primeiras 24 horas de internação na UTI ($p > 0,05$) (Figura 4: A e B). Entretanto, foi observado que quanto maior o escore de gravidade, maior foi o índice ($r = 0,512$; $p = 0,015$) (Figura 4: C) e a frequência de dano ($r = 0,471$; $p = 0,027$) (Figura 4: D) após 72 horas de internação.

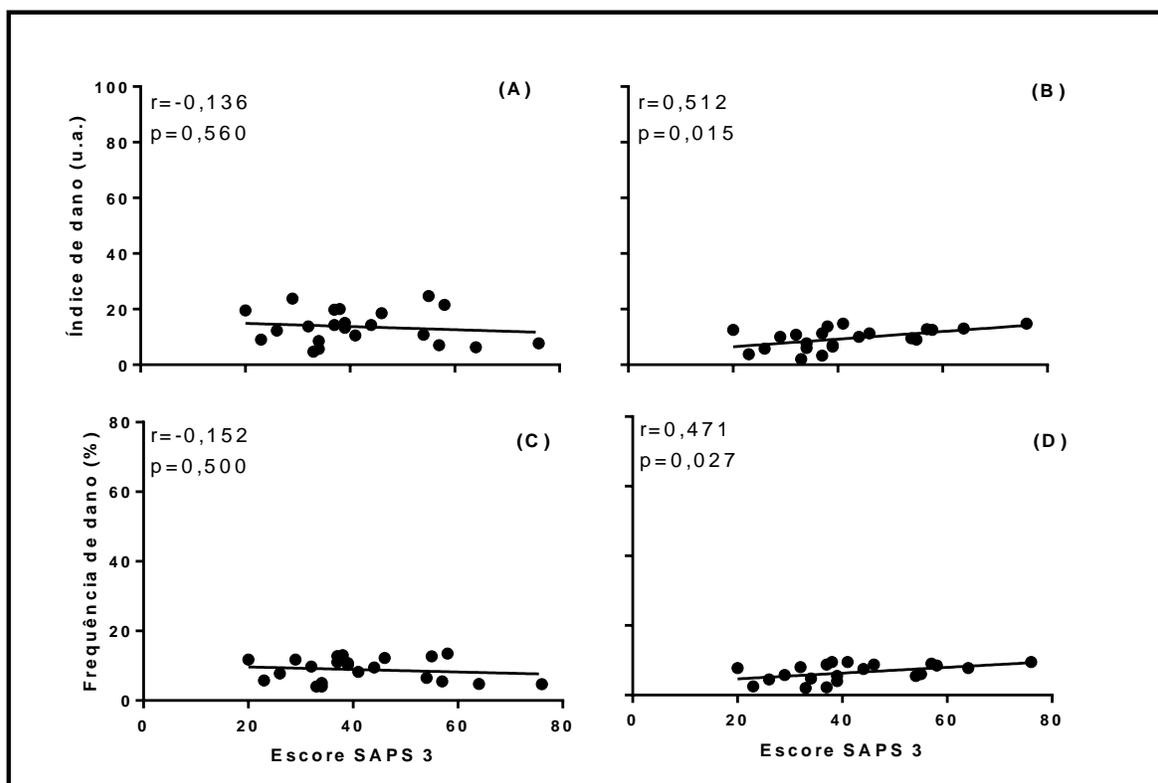


Figura 4. Relação entre índice de dano no DNA (A, B) e frequência de dano no DNA (C, D) com escore SAPS 3 nas primeiras 24 e 72 horas após a admissão na UTI. r e p : coeficiente de correlação e nível de significância, respectivamente de acordo com o teste de correlação de Spearman. Santa Cruz do Sul, RS, Brasil, 2016.

DISCUSSÃO

O escore SAPS 3 foi desenvolvido como prognóstico de mortalidade hospitalar no momento da admissão do paciente na UTI, possibilitando a avaliação da gravidade da doença apresentada e o estado vital na alta hospitalar. Além de avaliar o resultado individual de cada paciente, o índice propõe avaliar a eficácia das práticas utilizadas em UTI.³

Diante dos resultados encontrados, cabe ressaltar que os níveis de PCR não se associaram com o escore de gravidade apresentado pelos pacientes participantes. Uma hipótese para tal achado seria o fato de que muitos pacientes já são admitidos na UTI com algum nível de inflamação ou infecção. Além disso, sabe-se que a PCR é uma proteína de fase aguda, que também poderia prever o prognóstico ou a gravidade das infecções bacterianas, sendo altamente sensível aos processos inflamatórios. Portanto, níveis séricos de PCR aumentam devido às causas infecciosas, bem como às não infecciosas da inflamação.¹¹

Além disso, tem sido evidenciado que pacientes hospitalizados possuem níveis de PCR maiores que 5 mg/dL e a continuidade de níveis elevados ou redução inferior à metade do valor inicial indica evolução desfavorável ou complicações.¹² Estudo realizado em UTI chinesas relatou que pacientes que desenvolveram PAV apresentavam níveis significativamente mais altos de PCR em relação àqueles que não a desenvolveram.¹³ No presente estudo, apenas três dos 22 indivíduos avaliados desenvolveram PAV, impossibilitando uma análise estatística.

Além disso, sabe-se que a doença crítica está associada ao estresse oxidativo, que pode agravar as lesões de órgãos e a evolução clínica no geral.^{14,15} Na presente pesquisa, a pontuação do escore de gravidade associou-se significativamente apenas com o índice e a frequência de dano de DNA após 72 horas de internação na UTI. É importante avaliar o paciente após 72 horas, pois é o período em que se pode desenvolver PAV, pneumonia ocorrida após 48 horas, resultante da intubação endotraqueal ou traqueotomia para receber ventilação mecânica, bem como da remoção da ventilação mecânica e extubação⁶.

No entanto, um estudo que avaliou 45 pacientes mais gravemente doentes internados em uma UTI adulta pelo SAPS II confirmou a presença de estresse oxidativo dentre os participantes.¹⁶ Outro estudo, ao avaliar o estresse oxidativo em 139 pacientes críticos com síndrome da resposta inflamatória sistêmica, observou aumento nos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos pacientes que desenvolveram falência de múltiplos órgãos, ou seja, os mais graves.¹⁷ Esses resultados podem ser comparados aos do presente estudo, uma vez que os pacientes mais graves possuíam maiores índices e frequências de danos no DNA.

Este estudo mostrou que nos pacientes críticos internados na UTI, o escore de gravidade SAPS 3 não se associou a valores de PCR, mas aos danos no DNA, somente após 72 horas da admissão na UTI. É importante conhecer a gravidade e as características clínicas dos pacientes

internados em UTI para elaborar um planejamento assistencial baseado nas peculiaridades da população atendida.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à UNISC, aos professores responsáveis e aos alunos bolsistas que atuam nos laboratórios de Nutrição Experimental e de Bioquímica do Exercício da universidade. Ao HBB, Lajeado, RS, por autorizar a execução da pesquisa. Ao laboratório de análises clínicas, que atua nas dependências do hospital, por disponibilizar as amostras sanguíneas.

REFERÊNCIAS

1. Cairns T, Faulds M. Care of the critically ill patient. *Surgery*. 2018;36(4):180-6. <https://dx.doi.org/10.1016/j.mpsur.2018.01.002>
2. Salluh JI, Soares M. ICU severity of illness scores: apache, SAPS and MPM. *Curr Opin Crit Care*. 2014;20(5):557-65. <https://dx.doi.org/10.1097/MCC.0000000000000135>
3. Moreno RP, Metnitz PG, Almeida E, et al. SAPS 3 – from evaluation of the patient to evaluation of the intensive care unit. Part 2: development of a prognostic model for hospital mortality at ICU admission. *Intensive Care Med*. 2005;31(10):1345-1355. <https://dx.doi.org/10.1007/s00134-005-2763-5>
4. Silva JM Jr, Rocha HMC, Katayama HT, et al. SAPS 3 score as a predictive factor for postoperative referral to intensive care unit. *Ann Intensive Care*. 2016;6(1):42. <https://dx.doi.org/10.1186/s13613-016-0129-5>
5. Eom JS, Lee MS, Chun HK, et al. The impact of a ventilator bundle on preventing ventilator-associated pneumonia: a multicenter study. *Am J Infect Control*. 2014;42(1):34-7. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2013.06.023>
6. Shi Y, Huang Y, Zhang TT, et al. Chinese guidelines for the diagnosis and treatment of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia in adults (2018 edition). *J Thorac Dis* 2019;11(6):2581-616. <https://dx.doi.org/10.21037/jtd.2019.06.09>
7. Augustyniak M, Gladysz M, Dziewięcka M. The comet assay in insects-status, prospects and benefits for science. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2016;767:67-76. <https://dx.doi.org/10.1016/j.mrrev.2015.09.001>
8. Silva JM Jr, Malbouisson LMS, Nuevo HL, et al. Applicability of the Simplified Acute Physiology Score (SAPS 3) in Brazilian hospitals. *Rev Bras Anesthesiol*. 2010;60(1):26-32. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-70942010000100003>
9. Molz P, Molz WA, Dallemole DR, et al. Invert sugar induces glucose intolerance but does not cause injury to the pancreas nor permanent DNA damage in rats. *An Acad Bras Cienc*. 2020;92(2):e20191423. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020191423>

10. Denardi CAS, Casella Filho A, Chagas ACP. A proteína C-reativa na atualidade. *Rev Socerj*. 2008;21(5):329-34.
11. Tanrıverdi H, Tor MM, Kart L, et al. Prognostic value of serum procalcitonin and c-reactive protein levels in critically ill patients who developed ventilator-associated pneumonia. *Ann Thorac Med*. 2015;10(2):137-42. <http://dx.doi.org/10.4103/1817-1737.151442>
12. Garcia SB, Svartman FM, Gazzana MB. Pneumonia comunitária e hospitalar. In: Xavier RM, Dora JM, Barros E, editors. *Laboratório na prática clínica: consulta rápida*. 2nd ed. Porto Alegre: Artmed; 2010. p. 663-673.
13. Shirani K, Hajzargarbashi ST. Comparison of serum CRP, PCT and STREM-1 in ventilator-associated pneumonia (VAP) positive and VAP negative in ICU patients. *J Biochem Tech*. 2019;10(2):133-8.
14. Kumar S, Gupta E, Kaushik S, et al. Evaluation of oxidative stress and antioxidant status: correlation with the severity of sepsis. *Scand J Immunol*. 2018;87(4):e12653. <https://dx.doi.org/10.1111/sji.12653>
15. Bar-Or D, Bar-Or R, Rael LT, et al. Oxidative stress in severe acute illness. *Redox Biol*. 2015;4(2015):340-5. <https://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.006>
16. Cighetti G, Paroni R, Marzorati S, et al. Evaluation of oxidative stress in serum of critically ill patients by a commercial assay and gas chromatography-mass spectrometry. *Clin Chem*. 2005;51(8):1515-7. <https://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2005.051250>
17. Motoyama T, Okamoto K, Kukita I, et al. Possible role of increased oxidant stress in multiple organ failure after systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med*. 2003;31(3):1048-52. <https://dx.doi.org/10.1097/01.CCM.0000055371.27268.36>

Contribuições dos autores:

Andriela Vieceli Mattje e Patrícia Molz contribuíram para a concepção, delineamento, análise e redação do artigo;

Caio Fernando de Oliveira, Diene da Silva Schlickmann, Jane Dagmar Pollo Renner, Léo Kreater Neto, Daniel Prá e Silvia Isabel Rech Franke contribuíram para o planejamento, delineamento, revisão e aprovação final do artigo;

Todos os autores aprovaram a versão final a ser publicada e são responsáveis por todos os aspectos do trabalho, incluindo a garantia de sua precisão e integridade.