

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: XXVI Seminário de Iniciação Científica

PROTEÍNA DE CHOQUE TÉRMICO DE 70 KDA COMO UM BIOMARCADOR NA SEPSE ¹

HEAT SHOCK PROTEIN 70 KDA AS A SEPSIS BIOMARKER

Maicon Machado Sulzbacher², Lucas Machado Sulzbacher³, Renan Daniel Bueno Basso⁴, Gabriela Garcez Breuning⁵, Mirna Stela Ludwig⁶, Thiago Gomes Heck⁷

¹ Trabalho de revisão integrativa

² Enfermeiro, mestrando Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS) UNIJUI/UNICRUZ, integrante do Grupo de Pesquisa em Fisiologia da UNIJUI (GPeF).

³ Acadêmico de enfermagem da UNIJUI, bolsista de iniciação científica PROBIC ? FAPERGS, integrante do Grupo de Pesquisa em Fisiologia da UNIJUI (GPeF).

⁴ Educador físico residente do programa de residência multiprofissional em saúde da família da UNIJUI/FUMSSAR, integrante do Grupo de Pesquisa em Fisiologia da UNIJUI (GPeF)

⁵ Acadêmica de fisioterapia da UNIJUI, bolsista de iniciação científica PROBIC ? FAPERGS, integrante do Grupo de Pesquisa em Fisiologia da UNIJUI (GPeF).

⁶ Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS), Departamento de Ciências da Vida (DCVida), UNIJUI, integrante do Grupo de Pesquisa em Fisiologia da UNIJUI (GPeF).

⁷ Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS), Departamento de Ciências da Vida (DCVida), UNIJUI, integrante do Grupo de Pesquisa em Fisiologia da UNIJUI (GPeF).

Introdução

A sepse é considerada uma doença caracterizada por uma infecção a nível sistêmico ocasionando falhas múltiplas dos órgãos. Esta doença ocasiona grande impacto no cenário da saúde, acometendo anualmente cerca de 31,5 milhões de casos no mundo (FLEISCHMANN et al., 2016), atingindo uma mortalidade de 59% (BARRETO et al., 2016). Visando isto, o *The Journal of the American Medical (JAMA)* modificou os critérios antigos do diagnóstico de sepse, para uma infecção suspeita ou documentada, acompanhada de um aumento agudo de 2 ou mais pontos no escore de SOFA (Avaliação Sequencial de Falha de Órgãos), confirmando a disfunção dos órgãos através de exames clínicos e laboratoriais (SINGER et al., 2016).

Porém os novos critérios tendem a selecionar uma população com doença mais grave, de forma mais tardia (MACHADO et al., 2016). Contudo, sabe-se que o diagnóstico precoce, já nas primeiras horas, são consideradas as “horas de ouro” para a implementação de um tratamento eficaz (VIANA, 2013). Neste sentido, a análise da Proteína de Choque Térmico de 70 kDa (do inglês, *Heat Shock Protein 70 KDa - HSP70*), é uma proteína que possui um papel de citoproteção celular quando encontrada no ambiente intracelular (iHSP70) na sepse. Além disso, esta proteína tem um aumento da expressão em leucócitos expostos a antígeno bacteriano de bactérias gram-negativas (lipopolissacarídeo - LPS) (TULAPURKAR et al., 2015).

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: XXVI Seminário de Iniciação Científica

Por outro lado, o aumento de HSP70 em exossomos (vesículas para exportação) de macrófagos expostos a LPS (GUPTA et al., 2013), assim como aumento dos níveis desta proteína no sangue de pacientes (eHSP70) (GELAIN et al., 2011) e de animais com sepse, esta correlacionada com a mortalidade (GASPAROTTO et al., 2017). Portanto o objetivo do nosso estudo foi verificar na literatura os estudos que abordam a eHSP70 na como potencial biomarcador na sepse.

Metodologia

O estudo trata-se de uma revisão integrativa da literatura realizada na base de dados PubMed foram utilizados os termos de pesquisa “sepsis” e “HSP70”, da *Medical Subject Heading* (MeSH) (U.S. NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE, 2018), no período de janeiro de 2013 a janeiro de 2018. Os critérios de inclusão foram: abordar a sepse; possuir a mensuração de eHSP70. Já os critérios de exclusão foram: estudo de revisão; estudo utilizando exclusivamente o modelo experimental em cultura de células.

Resultados e discussão

Foram incluídos sete estudos que se encaixaram nos critérios de inclusão (Figura 1). Destes estudos encontrados, 57,1% (4) abordavam estudos com experimentação animal, assim como 57,1% (4) estudos clínicos randomizados com pacientes internados em UTI (Tabela1).

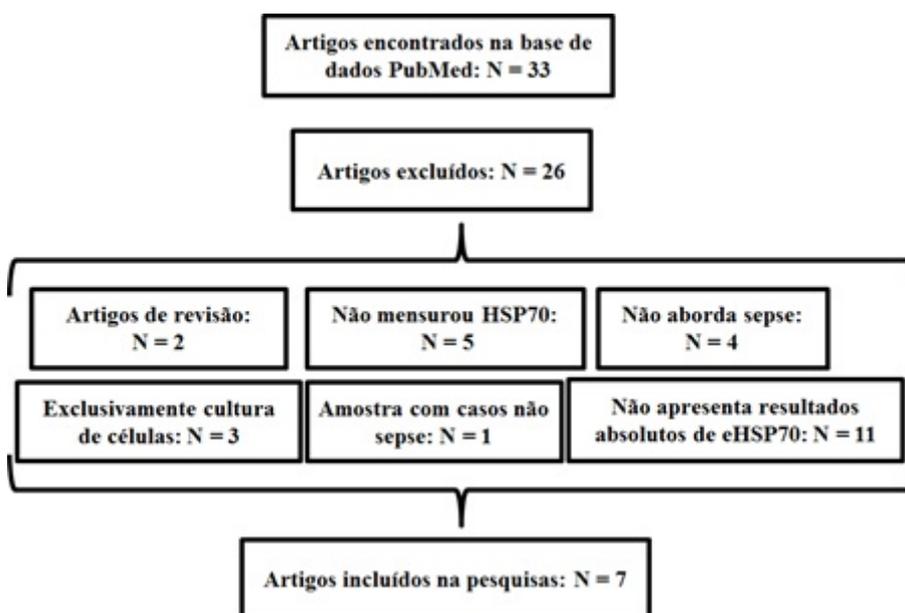


Figura 1. Fluxograma do processo de pesquisa bibliográfica e seleção dos artigos.

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: XXVI Seminário de Iniciação Científica

A utilização de modelos animais murinos (rato e camundongo), é uma importante ferramenta para o crescimento da pesquisa científica, em relação ao diagnóstico e tratamento da sepse (REMICK et al., 2018). Dentre os modelos experimentais de indução a sepse em murinos existem as técnicas de peritonite através de injeção intraperitoneal com solução fecal (SHRUM et al., 2014) ou lipopolissacarídeo (LPS), injeção intravenosa de LPS (WANG et al., 2016) e com técnica cirúrgica de ligadura e perfuração cecal (CLP) (ZHANG et al., 2015). A técnica de CLP foi o único método encontrado em nosso estudo. Este método é realizado através de anestesia e cirurgia, com seguinte punção na porção cecal do intestino com intuito de extravasar as fezes dos animais, ocasionando peritonite através da sua flora intestinal, mimetizando os quadros de sepse através de foco infeccioso abdominal, considerado um dos principais focos infecciosos da sepse (ILAS, 2015). O modelo de sepse por CLP em camundongos (C57BL/6) ainda foi capaz de mimetizar os valores de eHSP70 dos casos de pacientes com sepse, possibilitando a observação de níveis elevados deste biomarcador em 24 horas após a indução no modelo animal, assim como no mesmo período após o diagnóstico de sepse em pacientes (Tabela 1) (ZHANG et al., 2014).

Tabela 1. Artigos selecionados e características dos estudos.

Artigo	Modelo animal/caso de sepse
Vardas et al, <i>BioMed Research International</i> , 2014	Pacientes com sepse
Firolaki et al, <i>Medicine</i> , 2016	Pacientes com sepse
Gasparotto et al, <i>Journal of Biological Chemistry</i> , 2017	Ratos Wistar
Tsen-Ni Tsai et al, <i>Journal of surgical research</i> , 2015	Ratos Sprague Dawley
Silvano da Silva et al, <i>Pharmaceutical Biology</i> , 2016	Ratos Wistar
Zhang et al, <i>PLoS ONE</i> , 2014	Camundongos C57BL/6 e plasma de pacientes
Li Chen et al. <i>Cell Biochem Biophys</i> , 2015	Pacientes com queimaduras que desenvolvem sepse

Além disso, 87% (6) dos estudos mostrou elevação da eHSP70 no quadro de sepse, no qual o período de 6 horas após o diagnóstico de pacientes, ou indução da doença por CLP, foi o mais frequente, verificado em cerca de 43% (3) dos estudos (Tabela 2), o que sugere valores preditores de piora do quadro de sepse neste período.

Tabela 2. Resumo dos resultados sobre os níveis de eHSP70 na sepse

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: XXVI Seminário de Iniciação Científica

Artigo	eHSP70
K. Vardas et al, BioMed Research International, 2014	Aumento de eHSP70 em pacientes com sepse em relação a SIRS (diagnosticados às 48h) e sujeitos saudáveis
Pitrolaki et al, Medicine, 2016	Elevação em pacientes pediátricos com sepse após 6 horas do diagnóstico
Gasparotto et al, Journal of Biological Chemistry, 2017	Elevação eHSP70 sérica após 30 dias de sepse
Tsai-Ni Tsai et al, Journal of surgical research, 2015	Elevação eHSP70 desde 3 até 18 horas de sepse
Letycia Silvano da Silva et al, Pharmaceutical Biology, 2016	Elevação de eHSP70 6 horas após a indução da sepse
Ran Zhang et al, PLoS ONE, 2014	Aumento de eHSP70 após 6h, 12h, 24h e 48h no modelo animal e 24 horas de sepse nos pacientes
Li Chen et al. Cell Biochem Biophys, 2015	Diminuição de eHSP70 após 24 horas de tratamento sedativo

Destes estudos, três investigaram alguma intervenção terapêutica, ou ação preventiva ao caso de sepse. Um destes trabalhos investigou o tratamento com sedativo midazolam em pacientes com sepse, atenuando os níveis de eHSP72, relacionado com melhora na resposta imune, aumento dos níveis plasmáticos de antioxidantes e mediadores de proteção/reparo tecidual em pacientes queimadura que desenvolveram sepse por, o que refletiu na melhora do quadro clínico (CHEN et al., 2015). Quando estudada a intervenção com curcumina spray, conhecida por ação anti-inflamatória e antígenotóxica, administrada durante sete dias antes e duas horas após a CLP em ratos Wistar, foi capaz de atenuar os níveis de eHSP70, sendo observado melhora na resposta inflamatória, hematócrito e aumento de 20% na taxa de sobrevivência dos animais, 48 horas após a CLP (SILVA et al., 2017).

Em controvérsia a diminuição da eHSP70, quando investigado a ação preventiva da terapia térmica em modelo animal com injeção intraperitoneal com LPS (10 mg/kg) e através de CLP, verificou-se aumento de eHSP70, juntamente com aumento de 40% na taxa de sobrevivência, em animais 18 horas após a indução da sepse. Porém este estudo também verificou um aumento da iHSP70 3 horas após a indução da sepse (TSAI et al., 2015). Portanto, a avaliação da eHSP70 pode ser um biomarcador de gravidade do quadro clínico na sepse. Porém, esta avaliação deve ser realizada com a estimativa proporcional da iHSP70, para que seja mensurado um real status do quadro imunoinflamatório do sujeito acometido pela doença.

Conclusão

A avaliação da eHSP70 em conjunto com a iHSP70 pode ser um preditor de piora clínica e mortalidade na sepse.

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: XXVI Seminário de Iniciação Científica

Palavras-Chave: Sepsis; Proteínas de Choque térmico; Biomarcador.

Keywords: Sepsis; Heat shock proteins; Biomarker

Referências:

- BARRETO, M. F. C. et al. Sepsis em um hospital universitário : estudo prospectivo para análise de custo da hospitalização de pacientes. **Revista de Enfermagem da USP**, v. 50, n. 2, p. 302-308, 2016.
- CHEN, L. et al. The Effect of Continuous Sedation Therapy on Immunomodulation, Plasma Levels of Antioxidants, and Indicators of Tissue Repair in Post-Burn Sepsis Patients. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 73, n. 2, p. 473-478, 2015.
- FLEISCHMANN, C. et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 193, n. 3, p. 259-272, 1 fev. 2016.
- GASPAROTTO, J. et al. Receptor for advanced glycation end products mediates sepsis-triggered amyloid- β accumulation, Tau phosphorylation, and cognitive impairment. **Journal of Biological Chemistry**, v. 293, n. 1, p. 226-244, 2017.
- GELAIN, D. P. et al. Serum heat shock protein 70 levels, oxidant status, and mortality in sepsis. **Shock (Augusta, Ga.)**, v. 35, n. 5, p. 466-470, 2011.
- GUPTA, A. et al. Toll-like receptor agonists and febrile range hyperthermia synergize to induce heat shock protein 70 expression and extracellular release. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 4, p. 2756-2766, 2013.
- ILAS, I. L.-A. P. E. D. S. **Sepse: um problema de saúde pública**. 2015.
- MACHADO, F. R. et al. Getting a consensus: Advantages and disadvantages of Sepsis 3 in the context of middle-income settings. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 28, n. 4, p. 361-365, 2016.
- REMICK, D. G. et al. Premise for Standardized Sepsis Models. **SHOCK**, p. 1, 5 jun. 2018.
- SHRUM, B. et al. A robust scoring system to evaluate sepsis severity in an animal model. **BMC Research Notes**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2014.
- SILVA, L. et al. Curcumin suppresses inflammatory cytokines and heat shock protein 70 release and improves metabolic parameters during experimental sepsis. **Pharm Biol.**, v. 55, n. 1, p. 269-276, 2017.
- SINGER, M. et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). v. 315, n. 8, p. 801-810, 2016.
- TSAI, T.-N. et al. Release of endogenous heat shock protein 72 on the survival of sepsis in rats. **Journal of Surgical Research**, v. 198, n. 1, p. 165-174, 2015.
- TULAPURKAR, M. E. et al. Bacterial Lipopolysaccharide augments febrile-range hyperthermia-induced heat shock protein 70 expression and extracellular release in human THP1 cells. **PLoS**

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: XXVI Seminário de Iniciação Científica

ONE, v. 10, n. 2, p. 1-15, 2015.

U.S. NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **Medical Subject Heading (MeSH) browser**. Disponível em: . Acesso em: 6 jul. 2018.

VIANA, R. A. P. P. **Sepse para enfermeiros**. 2. ed. São Paulo.2013.

WANG, Y. L. et al. 17-DMAG, an HSP90 inhibitor, ameliorates multiple organ dysfunction syndrome via induction of HSP70 in endotoxemic rats. **PLoS ONE**, v. 11, n. 5, p. 1-18, 2016.

ZHANG, R. et al. Plasma HSPA2B Is a Potential Predictor for Poor Outcome in Severe Sepsis. **Plos One**, v. 9, n. 6, p. 1-9, 2014.

ZHANG, X. et al. HSPA12B attenuates acute lung injury during endotoxemia in mice. **International Immunopharmacology**, v. 29, n. 2, p. 599-606, 2015.