

Atualidades proteômicas na sepse

RODRIGO SIQUEIRA-BATISTA¹, EDUARDO GOMES DE MENDONÇA², ANDRÉIA PATRÍCIA GOMES³, RODRIGO ROGER VITORINO⁴, RENATO MIYADAHIRA⁵, MARIO CASTRO ALVAREZ-PEREZ⁶, MARIA GORETI DE ALMEIDA OLIVEIRA⁷

¹Doutor em Ciências, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ); Professor Adjunto do Departamento de Medicina e Enfermagem, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, Brasil

²Doutor em Bioquímica Agrícola, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFRV, Viçosa, MG, Brasil

³Doutora em Ciências (Saúde Pública), Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP), FIOCRUZ; Professora Adjunta do Departamento de Medicina e Enfermagem, UFRV, Viçosa, MG, Brasil

⁴Aluno de Graduação em Medicina, Centro Universitário Serra dos Órgãos (UNIFESO), Teresópolis, RJ, Brasil

⁵Aluno de Graduação em Medicina, Departamento Medicina e Enfermagem, UFRV, Viçosa, MG, Brasil

⁶Doutor em Medicina, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ); Professor Adjunto da UERJ; Professor Titular da UNIFESO, Teresópolis, RJ, Brasil

⁷Doutora em Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG); Professora-associada do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFRV, Viçosa, MG, Brasil

RESUMO

A ampliação do conhecimento das técnicas de análise proteômica tem permitido maior compreensão das bases moleculares relacionadas à identificação de vias de sinalização celular, de proteínas modificadoras, de modificações pós-traducionais, além de caracterizar marcadores biológicos específicos. Desta feita, a documentação de determinadas proteínas expressas na sepse constitui uma promissora abordagem para elucidação dos aspectos fisiopatológicos, diagnósticos, terapêuticos e prognósticos dessa condição, com a finalidade de aplicação na prática clínica. Embora os resultados sejam ainda preliminares, a proteômica poderá oferecer bons subsídios para o melhor manejo dos pacientes sépticos. Dessa feita, o objetivo do presente artigo é apresentar uma breve revisão das aplicações dos estudos proteômicos na sepse.

Unitermos: Proteômica; sepse; diagnóstico; terapêutica; prognóstico.

©2012 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

SUMMARY

Proteomic updates on sepsis

The increased knowledge regarding proteomic analysis techniques has allowed for better understanding of the molecular bases related to the identification of cell signaling, modifying protein, and post-translational modification pathways, in addition to the characterization of specific biological markers. Thus, documenting certain proteins expressed in sepsis is a promising approach to elucidate pathophysiological, diagnostic, therapeutic, and prognostic aspects in this condition with a purpose of applying them to clinical practice. Although the studies are still preliminary, proteomics may offer good benefits for the better management of septic patients. Thus, this article aims to introduce a short review of the applications of proteomic studies to sepsis.

Keywords: Proteomics; sepsis; diagnosis; therapeutics; prognosis.

©2012 Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Trabalho realizado no Departamento de Medicina e Enfermagem e no Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa (UFV) e no Curso de Graduação em Medicina do Centro Universitário Serra dos Órgãos (UNIFESO), Viçosa, MG, Brasil

Artigo recebido: 30/10/2011

Aceito para publicação: 30/12/2011

Correspondência para:
Rodrigo Siqueira-Batista
Universidade Federal de Viçosa
Departamento de Medicina e
Enfermagem (DEM)
Avenida P. H. Rolfs s/n
Campus Universitário
CEP: 36571-000
Viçosa, MG, Brasil
rsbatista@ufv.br

Conflito de interesse: Não há.

INTRODUÇÃO

A sepse – síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SIRS, do inglês *systemic inflammatory response syndrome*) desencadeada por infecção (suposta ou ratificada) – é uma condição extremamente importante do ponto de vista dos cuidados clínicos e da saúde pública¹. Trata-se de uma das mais importantes complicações infecciosas da medicina contemporânea, tanto por sua incidência, quanto por sua gravidade e por seu grande potencial de evolução para o óbito (alta letalidade, na dependência do estágio na qual for estabelecido o diagnóstico)²⁻⁵.

As díspares possibilidades de interação entre o *Homo sapiens sapiens* e os mais diferentes agentes etiológicos⁶ tornam possível diferentes contextos de apresentação clínica, cabendo, assim, a distinção de situações como infecção, SIRS, sepse, sepse grave, choque séptico e disfunção de múltiplos órgãos e sistemas (DMOS)^{7,8}.

Além da questão científica – comparabilidade entre casuísticas –, a definição terminológica tem objetivado a detecção precoce dos enfermos vitimados pela condição à beira do leito. Nesse domínio, a instituição de adequadas estratégias para a abordagem do doente pode levar a um desenlace mais favorável, com conseqüente redução da letalidade. As inovações no diagnóstico e na terapêutica são focos de investigação científica – o que leva à ampliação dos conhecimentos no campo –, enfatizando-se o recente papel que as técnicas proteômicas – identificação de todas as proteínas codificadas no genoma⁹ – têm adquirido no estudo da sepse, em termos da fisiopatologia, do diagnóstico, da terapêutica e do prognóstico. Com efeito, este artigo apresenta uma breve revisão das aplicações dos estudos proteômicos na sepse, tendo em vista sua futura incorporação à prática clínica.

MÉTODOS

O texto foi elaborado a partir de revisão da literatura com estratégia de busca definida. Os artigos foram procurados na U. S. National Library of Medicine (PubMed) e na Scientific Electronic Library Online (SciELO), no período de 01/01/2000 a 01/09/2011, elegendo-se apenas estudos realizados em seres humanos. Os termos utilizados foram:

Estratégia 1 – sepse (*sepsis*) + proteômica (*proteomic*);

Estratégia 2 – sepse (*sepsis*) + proteoma (*proteome*);

Estratégia 3 – sepse (*sepsis*) + proteômica (*proteomic*) + diagnóstico (*diagnosis*);

Estratégia 4 – sepse (*sepsis*) + proteômica (*proteomic*) + tratamento (*treatment*);

Estratégia 5 – sepse (*sepsis*) + proteômica (*proteomic*) + desfecho (*outcome*).

Estratégia 6 – sepse (*sepsis*) + proteômica (*proteomic*) + prognóstico (*prognostic*).

Além da utilização de artigos, também foram consultados livros-texto de clínica médica, infectologia e terapia intensiva, como complemento ao processo de levantamento

bibliográfico. A busca empreendida permitiu a obtenção de citações distribuídas de acordo com o exposto na Tabela 1. Do total de artigos encontrados, foram selecionados 25 textos – resultantes de pesquisas empíricas e de revisões da literatura –, com foco principal no estudo proteômico da sepse e nos aspectos fisiopatológicos e clínico-terapêuticos, os quais subsidiaram a presente investigação.

Os artigos foram lidos e as informações organizadas em diferentes seções: (1) o conceito de proteoma, (2) proteoma na fisiopatologia da sepse, (3) proteoma e o diagnóstico da sepse, (4) proteoma e o tratamento da sepse, (5) proteoma e o prognóstico da sepse e (6) considerações finais.

O CONCEITO DE PROTEOMA

O proteoma reflete a expressão funcional do genoma, ou seja, o estado atual de funcionamento de um determinado sistema biológico em condições fisiológicas específicas. Essa característica faz com que a investigação do proteoma se torne um importante desafio, pois a expressão gênica de uma célula é bastante dinâmica, dependendo do estado de desenvolvimento, da presença de ativadores ou inibidores e também das condições do meio ambiente. Apesar desses elementos, a proteômica tem sido considerada, atualmente, a ferramenta mais apropriada para se entender o funcionamento dos genes, pois analisa o produto final do genoma⁹. Embora a identificação de todas as proteínas codificadas no genoma de um organismo pareça uma tarefa bastante difícil de se realizar, mesmo em seres vivos mais simples, são cada vez mais completas as informações dos estudos proteômicos¹⁰. Esses novos conhecimentos estão relacionados às vias de sinalização celular, aos conjuntos de proteínas reguladoras, às modificações pós-traducionais, bem como aos estados de células e organismos¹¹ em contextos de saúde e de doença.

Desde que Wasinger *et al.*¹² propuseram o conceito de proteoma, em 1995, as investigações através da análise proteômica – envolvendo o rastreamento sistemático de um grande número de peptídeos contidos nas células, tecidos e fluidos biológicos (por exemplo, líquido cefalorraquidiano, sangue, urina, líquido pancreático e fluido amniótico) – têm avançado velozmente, caracterizando o campo de pesquisa denominado proteômica. Esses estudos podem levar a três vertentes básicas de elucidação de eventos, com implicações diretas em vários campos da biologia, da biotecnologia e da ciência médica: (1) a descoberta de vias metabólicas nas diversas etapas celulares, gerando conhecimento sem precedentes na biologia celular e na bioquímica; (2) a identificação de novas moléculas bioativas em extratos biológicos naturais, levando ao desenvolvimento de novos medicamentos; e (3) a caracterização de marcadores biológicos, ou seja, moléculas endógenas ou exógenas específicas de determinada entidade nosológica. A capacidade de identificar essas moléculas pode se tornar extremamente útil no diagnóstico precoce de doenças e

Tabela 1 – Número de artigos obtidos na pesquisa bibliográfica

Estratégia de busca	Base consultada	
	PubMed*	SciELO
Estratégia 1 (sepse + proteômica)	69	1
Estratégia 2 (sepse + proteoma)	40	0
Estratégia 3 (sepse + proteômica + diagnóstico)	34	0
Estratégia 4 (sepse + proteômica + tratamento)	26	0
Estratégia 5 (sepse + proteômica + desfecho)	5	0
Estratégia 6 (sepse + proteômica + prognóstico)	0	0

*Para pesquisa na base de dados PubMed, empregando termos em língua inglesa, foram utilizados os seguintes limites: artigos em humanos, adultos (maiores de 19 anos), publicados entre 01/01/2000 e 01/09/2011.

no acompanhamento da evolução do tratamento¹¹. Atualmente, as principais técnicas usadas na proteômica são a eletroforese bidimensional (2D) e a espectrometria de massa.

A apreciação proteômica pode ser vista como uma triagem de peptídeos cujo escopo é documentar a distribuição global de peptídeos nas células, nos tecidos, nos órgãos ou em outras amostras, identificando e caracterizando proteínas individuais de interesse para, finalmente, elucidar suas interações e papéis na biologia da célula, em âmbitos fisiológicos e patológicos. Comparado com a técnica de *microarray* genômico, a abordagem proteômica tem a vantagem de ser capaz de detectar, previamente, peptídeos, enquanto *microarrays* permitem somente a medição dos genes que já estão definidos. Em paralelo com o avanço da proteômica, esforços para aplicar análises proteômicas na descoberta de novos biomarcadores para descrição fisiopatológica têm sido relatados para uma ampla variedade de doenças, incluindo a sepse.

PROTEOMA NA FISIOPATOLOGIA DA SEPSE

A fisiopatologia da sepse depende das relações estabelecidas entre o agente etiológico e o hospedeiro^{8,13,14}. Muitos dos aspectos atinentes ao desencadeamento dessa condição mórbida permanecem em aberto, provavelmente pela falta de uma compreensão mais adequada dos aspectos bioquímicos da resposta imune e do processo inflamatório⁶. Algumas hipóteses têm sido propostas para explicar a gênese da sepse, sendo *pensadas* em termos (1) da interação patógeno/sistema imune inato, (2) da inflamação/ mediação imunológica adaptativa e (3) do sistema de coagulação, conforme já discutido em publicação anterior⁸.

A interação entre agente microbiano e hospedeiro se inicia pelo reconhecimento das substâncias *not-self* (não próprias do hospedeiro) do micro-organismo, os chamados *padrões moleculares relacionados aos patógenos* (PMRP) – moléculas não variáveis expressas por grupos de agentes etiológicos, as quais são, usualmente, cruciais para a virulência e/ou sobrevivência do organismo – identificados pelos *receptores de reconhecimento de padrão*

(RRP), estruturas celulares codificadas pela linhagem germinativa e expressas pelas células do sistema imune inato¹⁵. Os mais potentes e melhor estudados PMRP são as endotoxinas de bactérias Gram-negativas, derivadas da parede celular de tais células e formadas principalmente por lipopolissacarídeos (LPS). Em relação aos RRP, deve ser destacada a significativa família *Toll-like*, cujas moléculas são identificadas na superfície de monócitos, macrófagos, células dendríticas e neutrófilos¹⁶. Polimorfismos nesses receptores parecem ter implicação decisiva na possibilidade – ou não – de evolução para sepse grave e choque séptico¹⁷. Continuamente a essa fase de reconhecimento, advêm díspares eventos de ativação celular e produção de citocinas, cujo resultado é a SIRS.

Após a ligação envolvendo PMRP e os receptores *Toll-like*, há ativação do domínio intracelular desses últimos, o que culmina na ativação da proteína MyD88 (proteína de diferenciação mieloide)¹⁸. A interação de MyD88 com a enzima IRAK (quinase associada ao receptor de interleucina-1, uma serina-treonina-quinase) leva a ativação das quinases IκKa e IκKB, as quais formam o dímero IκK, que, por sua vez, «desconecta» a proteína IκB (inibidor de NF-κB) ligada ao fator de transcrição nuclear NF-κB (fator nuclear κB), responsável pela ativação de genes para transcrição de inúmeras citocinas partícipes da síndrome de resposta inflamatória sistêmica^{19,20}.

Os eventos intracelulares descritos, especialmente a liberação de NF-κB, determinam a produção e secreção de inúmeras citocinas proinflamatórias, tais como interleucinas 1 (IL-1), 2 (IL-2), 6 (IL-6), 8 (IL-8), 12 (IL-12), TNF-α (fator de necrose tumoral alfa) e TNF-β (fator de necrose tumoral beta), evento considerado crucial no desenvolvimento de sepse. Vale ressaltar que alguns enfermos evoluem para o óbito precocemente, em decorrência de intensa reação inflamatória sistêmica. Todavia, citocinas anti-inflamatórias, como as interleucinas 4 (IL-4), 5 (IL-5), 10 (IL-10), 11 (IL-11) e 13 (IL-13), são igualmente produzidas – sobretudo em situações nas quais o enfermo sobrevive aos distúrbios relacionados à inflamação sistêmica –, possibilitando o desenvolvimento de anergia

e alentecimento da resposta aos agentes etiológicos, em um contexto típico de imunossupressão⁵, o qual, na sepse, recebe diferentes denominações: *imunoparalisia*, *janela de imunodeficiência* ou CARS (síndrome da resposta anti-inflamatória compensatória)²¹. A regulação de tal equilíbrio pró/anti-inflamatório é complexa, cabendo destaque à atuação dos monócitos/macrófagos como ativadores da resposta imune adaptativa; ao fagocitarem células necróticas ou bactérias, os macrófagos induzem os linfócitos a assumir um fenótipo Th1, o que leva à liberação de substâncias proinflamatórias, como interferon alfa (INF- α), interferon delta (INF- δ) e IL-2; fagocitam-se células apoptóticas, ativam o fenótipo linfocitário Th2, que leva à produção de IL-4 e IL-10, as quais “freiam” a resposta pró-inflamatória²². De fato, a apoptose é um dos significativos eventos deflagradores dos processos imunossupressores²³. Admite-se, de forma cada vez mais consistente, que o balanço entre mediados proinflamatórios e anti-inflamatórios – podendo-se chegar a uma situação de intensa “dissonância imunológica”, denominada MARS (resposta inflamatória mista antagônica), na qual há presença simultânea de SIRS e CARS no mesmo paciente²⁴ – é a chave que explica a evolução da entidade mórbida, quer para a resolução, quer para o óbito⁸.

Os estudos proteômicos têm trazido importantes elementos para a compreensão desta complexa *teia fisiopatogênica*. Em um estudo piloto realizado por Paiva *et al.*²⁵, em busca da maior compreensão das bases moleculares da sepse, realizou-se a identificação e a análise da expressão diferencial de proteínas no soro de enfermos sépticos, em diferentes estágios de gravidade (sepse, sepse grave e choque séptico), através de técnicas proteômicas. Foram identificadas 14 proteínas expressas diferencialmente entre os estágios da sepse, assim como uma proteína não expressa em todos os estágios, sugerindo a existência de um possível biomarcador. Foram elas: amiloide sérico A, apolipoproteína A-1 (duas isoformas), proteína dedo de zinco 222, albumina humana, PRO 2619, imunoglobulina de cadeia leve kappa região VLJ, imunoglobulina M monoclonal de aglutinação a frio e sete inibidores de proteases – alfa-1 antitripsina²⁵. Os resultados obtidos neste estudo piloto demonstram a participação das vias do complemento e da coagulação, do metabolismo lipídico e da informação genética na sepse. A maioria dos protídeos identificados está envolvida no sistema imune com predomínio das proteínas inibidoras de proteases²⁵.

PROTEOMA E DIAGNÓSTICO DE SEPSE

Apesar da expressiva produção de conhecimento acerca da fisiopatologia e do tratamento, a sepse ainda permanece uma entidade de difícil manejo clínico^{2,26}. Vários estudos têm sugerido a presença de polimorfismos genéticos específicos durante a sepse²⁷. Outras investigações têm empregado a tecnologia de *microarray* para comparar

os níveis de expressão de genes após a administração de endotoxina²⁸. Sem embargo, estudos de expressão gênica não podem prever, com precisão, a estrutura ou a dinâmica das respectivas proteínas características do quadro de sepse. Os padrões de RNA não refletem bem o padrão proteômico – ou seja, de proteínas expressas –, tal como ocorre em análises de díspares padrões proteômicos de processos regulatórios, como por exemplo, aqueles próprios das modificações pós-traducionais²⁹.

Um bom número de compostos de origem biológica tem sido investigado como mediadores bioquímicos e/ou biomarcadores candidatos para investigação laboratorial da sepse. A proteína C reativa (CRP)³⁰, a procalcitonina^{30,31} e a IL-6 são consideradas úteis no diagnóstico, bem como para o estabelecimento da gravidade da sepse, embora com algumas limitações. Mais recentemente, as tentativas de demonstrar a utilidade clínica como biomarcadores de sepse foram documentadas para uma ampla variedade de moléculas, incluindo a proteína do grupo de alta mobilidade (HMGB-1) e os receptores de gatilho expressos em células mieloides (TREM-1)⁸. Alguns biomarcadores de sepse, como as citocinas, também são considerados significativos mediadores do quadro, de modo que a modulação dessas substâncias pode ter importância terapêutica³². Além disso, o uso articulado de múltiplos marcadores moleculares ou escores de prognósticos mais precisos da gravidade permite a classificação e a previsão do desfecho da sepse⁸. A descoberta de novos mediadores envolvidos na fisiopatologia da sepse, bem como de novos biomarcadores que permitam um diagnóstico mais preciso e a predição do prognóstico da sepse, é, então, urgentemente necessária.

Métodos de apreciação proteômica podem ser empregados para elucidar perfis proteicos em doentes com sepse e choque séptico, desvendando assim disparidades no mapeamento proteico eletroforético entre os enfermos que sobrevivem e aqueles que evoluem para o êxito letal. Tais estudos apontam dois resultados importantes. Em primeiro lugar, a análise proteômica pode se tornar um instrumento viável para excluir alterações precoces na expressão de protídeos em pacientes com choque séptico. Em segundo lugar, há alterações de proteínas específicas entre sobreviventes e não sobreviventes no 28º dia, em um estágio inicial de choque séptico. Isso pode ser verificado em amostras coletadas nas primeiras 12 horas após o diagnóstico de choque séptico.

Destaque-se que o diagnóstico precoce da sepse, baseado somente em elementos clínicos pode ser muito difícil, ainda que seja fator essencial para a abordagem dos pacientes, permitindo o início imediato da terapia apropriada – mormente a instituição de antimicrobianos – que passa a ter grande impacto na sobrevida dos enfermos³³. Paugam-Burtz *et al.*³⁴, utilizando uma abordagem proteômica denominada SELDI-TOF MS (do

inglês *Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization - Time-Of-Flight Mass Spectrometry*, ou seja, espectrometria de massas com ionização por desorção a laser, realizada por superfície) para a avaliação do soro de pacientes cinco dias após o transplante de fígado, obtiveram um perfil contendo cinco peptídeos que identificaram a sepse. A comparação dos perfis proteicos obtidos no grupo com sepse (n = 31) mostrou um total de 29 picos de proteína diferencialmente expressos em comparação com as do grupo não séptico (n = 30). Quatorze perfis peptídicos tiveram sua expressão aumentada no grupo séptico, enquanto 15 foram reprimidas. Como se trata de um estudo preliminar, essas proteínas ainda estão sendo identificadas conforme Paugam-Burtz *et al.*³⁴ destacam no próprio artigo.

PROTEOMA E TRATAMENTO DA SEPSE

A maioria dos estudos proteômicos envolvendo sepse enfoca a fisiopatologia da doença e a detecção de proteínas que possam servir de biomarcadores ao diagnóstico, propondo comparações entre soros de enfermos sépticos e não sépticos, cotejo entre dados proteômicos de doentes com sepse, sepse grave e choque séptico, tentando identificar peptídeos que sejam especificamente expressos nessa condição mórbida ou em uma de suas fases. Ainda são raros os estudos de tratamento da sepse que utilizem técnicas proteômicas.

As técnicas de terapia contínua de substituição renal (CRRT) têm ocupado uma posição importante nas unidades de tratamento intensivo (UTIs), sendo empregadas no tratamento da sepse grave quando já sobreveio insuficiência renal aguda^{7,35}. Muitas proteínas solúveis em água com ação pró- e anti-inflamatórias desempenham significativos papéis no processo fisiopatológico da sepse grave e são mediadoras da resposta inflamatória. A remoção dessas proteínas solúveis pode ser um dos elementos responsáveis por alguns dos efeitos benéficos da CRRT³⁶. As alterações que ocorrem no proteoma sérico dos pacientes submetidos a CRRT não estão ainda esclarecidas. Como não há uma perfeita compreensão da CRRT – e não existe biomarcador específico para descrever o progresso do tratamento – Gong *et al.*³⁷ investigaram as alterações do proteoma de doentes com sepse grave em tratamento com CRRT. Dez proteínas foram identificadas como sendo diferencialmente expressas durante o tratamento de CRRT, destacando-se sintaxina-1B1 – uma variante da antitrombina III –, precursora do antígeno CD5-like, precursor da apolipoproteína A-IV, precursor da apolipoproteína B-100, uma isoforma gamma-A do precursor da cadeia gama do fibrinogênio, isoforma 2 da enzima de ativação da ubiquitina E1-like, proteína de 36 kDa, proteína MYH2, proteína SPTAN1 (fragmento). Dentre as mesmas, sete proteínas estavam diminuídas no soro e três foram aumentadas durante o tratamento com

CRRT³⁷. Para validar o estudo, foi realizado *Western blot* a fim de comprovar a expressão do precursor do antígeno CD5-like e da isoforma gamma-A do precursor da cadeia gama do fibrinogênio nas amostras séricas dos doentes em tratamento com CRRT e em pacientes-controle (enfermos sépticos sem disfunção dos órgãos e não tratados com CRRT). Essas duas proteínas foram detectadas nos soros dos pacientes em tratamento com CRRT, mas não nos enfermos controle³⁷.

O precursor do antígeno CD5-like diminuiu no soro durante CRRT. Essa proteína (1) exerce um papel importante na regulação dos sistemas imunes inato e adaptativo³⁸, (2) induz agregação de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e (3) inibe a secreção de TNF- α , mediador que desempenha um papel estratégico na sepse grave. Muitos dos componentes da resposta imune inata, que normalmente estão envolvidos com a resposta do *Homo sapiens sapiens* à infecção, podem, em algumas circunstâncias, causar danos às células e aos tecidos e, portanto, levar a falência de múltiplos órgãos e sistemas³⁹. O precursor do antígeno CD5-like apresentou-se significativamente elevado no soro de pacientes antes da CRRT, tendo minorado após o tratamento de CRRT³⁷.

Observou-se incremento da isoforma gamma-A do precursor da cadeia gama do fibrinogênio no soro, durante a CRRT. O fibrinogênio participa de eventos de homeostasia e é um reagente de fase aguda estando majorado nos casos de estresse⁴⁰. Distintas células são capazes de produzir citocinas que induzem reação de fase aguda e, portanto, são capazes de elevar os níveis plasmáticos de fibrinogênio⁴¹. O aumento da detecção no soro da isoforma gamma-A do precursor da cadeia gama do fibrinogênio, durante CRRT, sugere que as funções do sistema imunológico dos enfermos foram parcialmente restauradas³⁷.

Usando eletroforese em gel diferencial (DIGE) – uma técnica proteômica em gel 2D que utiliza até três diferentes amostras de peptídeos marcados com corantes fluorescentes –, Holly *et al.*³⁵ identificaram mudanças no número de proteínas urinárias de ratos, incluindo albumina, enzimas das bordas-em-escova dos rins (por exemplo meprina 1- α) e inibidores de serino proteases. A meprina é uma enzima da borda-em-escova que desempenha um papel na lesão relacionada à isquemia e à reperfusão renal. A inibição da meprina previne lesões por hipoxia *in vitro* e injúria por isquemia e reperfusão *in vivo*⁴². O incremento dessa enzima reflete a perda da borda-em-escova dos rins após insuficiência renal aguda induzida por sepse (mormente no choque séptico). O tratamento com actinonina, um inibidor da meprina, preveniu a insuficiência renal aguda em animais de experimentação³⁵. Isso demonstra o uso potencial da meprina como biomarcador da sepse e alvo para fármacos no tratamento da sepse.

PROTEOMA E PROGNÓSTICO DA SEPSE

A pesquisa bibliográfica realizada com os termos sepsse + proteômica + prognóstico não redundou na obtenção de citações nas duas bases consultadas. No entanto, informações foram coligidas dos artigos selecionados para a revisão.

Na apreciação do prognóstico do enfermo com sepsse, pode-se utilizar o escore *Acute Physiologic Chronic Health Evaluation* (APACHE II), ainda que a melhor estratégia para essa finalidade seja o escore *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA), o qual inclui variáveis respiratórias, hematológicas, hepáticas, cardiovasculares, neurológicas e renais⁴³. Tem-se, ainda, o *Multiple Organ Dysfunction Score* (MODS), que seleciona seis sistemas orgânicos (respiratório, renal, hepático, cardiovascular, hematológico e neurológico) e pontua cada uma das disfunções observadas de forma fácil, permitindo que se meça a gravidade da disfunção orgânica na admissão e no acompanhamento, de modo objetivo, avaliando a deterioração das disfunções no decorrer da internação⁴⁴. Recentemente, tem-se ponderado que a associação de biomarcadores de inflamação a esses escores possa ampliar a avaliação prognóstica nos enfermos com sepsse⁴⁵.

Um dos elementos que pode ser considerado significativo para a avaliação dos enfermos com sepsse é o conceito PIRO, fundamentado em elementos multivariados, incluindo condições predisponentes (P = predisposição), qualidade e abrangência da injúria (I = insulto), tipo e intensidade da resposta do hospedeiro (R = resposta deletéria) e grau da disfunção orgânica resultante ou preexistente (O = falência orgânica)⁴⁶. O referencial PIRO é interessante para a classificação dos pacientes sépticos, visando o desenvolvimento de investigações que se destinem à compreensão da fisiopatologia e ao aprimoramento da terapêutica⁴⁷.

Desde esta perspectiva, os pesquisadores buscam marcadores para se determinar o prognóstico da doença, tentando identificar a evolução da mesma e o que pode ser feito em termos terapêuticos, baseando-se nas informações imunológicas e no *status* inflamatório do paciente. Tais elementos podem ser estudados por meio de técnicas proteômicas, as quais, em conjunto com APACHE II, SOFA e PIRO, permitindo avanços muito maiores no tratamento, no prognóstico e no desfecho da sepsse.

Poucos são os estudos de prognóstico da sepsse que utilizem tais conceitos e estudos moleculares, como, por exemplo, a proteômica^{31,32,48}. Nesse domínio, recentes investigações têm demonstrado que na fase inicial da sepsse há diferenças significativas na expressão da proteína em pacientes que sobrevivem, ou não, à condição mórbida. Enfermos que sobrevivem à sepsse exibiram uma forte ativação de proteínas envolvidas com citotoxicidade mediada por monócito independente de anticorpos, propagação de macrófagos, ativação do plasminogênio e proliferação de

linfócitos B. É factível, com efeito, especular que há uma reação imunológica mais propícia em sobreviventes. Foi realizado por Oberholzer *et al.*³² uma pesquisa com 124 pacientes com sepsse – com e sem choque séptico –, a qual avaliou, além dos escores APACHE II e MODS, as concentrações de citocinas proinflamatórias e anti-inflamatórias, assim como níveis de procalcitonina e proteína C reativa. Foram estabelecidas correlações desses parâmetros com os níveis das proteínas e as concentrações plasmáticas de todas as citocinas e mediadores humorais avaliadas estavam elevadas. As concentrações de IL-6 e sTNFR I – mas não de TNF- α , IL-8, IL-10, procalcitonina e proteína C – foram significativamente maiores em pacientes que morreram do que em pacientes que sobreviveram após 28 dias. A concentração de IL-6 é uma significativa candidata para prever o desfecho clínico em pacientes com sepsse grave por si, ou caso esteja combinada com os escores APACHE II ou MODS³².

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A sepsse, apesar de se tratar de uma condição clínica extremamente frequente na prática clínica, ainda se mantém enigmática sob diferentes pontos de vista. De fato, há pontos bastante obscuros em relação à fisiopatologia, à acurácia diagnóstica, à terapêutica e ao prognóstico – os quais se relacionam ao desconhecimento de muitos aspectos do sistema imunológico –, para os quais novas investigações poderão, nos próximos anos, trazer alguma luz.

Nesse domínio, destacam-se os estudos proteômicos – empregáveis para a compreensão de diferentes condições infecciosas –, os quais, apesar dos resultados ainda muito incipientes na investigação da sepsse, já demonstram grande potencialidade para se tornarem ferramentas úteis ao manejo dos enfermos, contribuindo para a necessária *atenção plena* ao paciente.

REFERÊNCIAS

- Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med*. 2003;348:1546-54.
- Siqueira-Batista R, Gomes AP, Pessoa-Júnior VP. Sepsse, em: Rocha MOC, Pedrosa ERP. Fundamentos em infectologia. Rio de Janeiro: Rubio, 2009; p.567-90.
- Martin G. Epidemiology studies in critical care. *Crit Care*. 2006;10:136.
- Silva E, Fernandes Júnior CJ, Akamine M, Sogayar AMCB. Sepsse e choque séptico. In: Knobel E. *Condutas no paciente grave*. 3ª ed. São Paulo, Atheneu; 2006; p.61-78.
- Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med*. 2003;348:138-50.
- Siqueira-Batista R, Gomes AP, Albuquerque VS, Madalon-Fraga R, Aleksandrowicz AMC, Geller M. Ensino de imunologia na educação médica: lições de Akira Kurosawa. *Rev Bras Educ Med*. 2009;33:186-90.
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D *et al*. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003;31:1250-6.
- Siqueira-Batista R, Gomes AP, Calixto-Lima L, Vitorino RR, Perez MCA, Mendonça EG *et al*. Sepsse: atualidades e perspectivas. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2011;23:207-16.
- Pandey A, Mann M. Proteomics to study genes and genomes. *Nature*. 2000;405:837-46.
- Suresh S, Sujatha Mohan S, Mishra G, Hanumanthu GR, Suresh M, Reddy R *et al*. Proteomic resources: integrating biomedical information in humans. *Gene*. 2005;364:13-8.

11. Rocha TL, Costa PHA, Magalhães JCC, Evaristo RGS, Vasconcelos EAR, Coutinho MV *et al.* Eletroforese bidimensional e análise de proteomas. Comunicado Técnico Embrapa; 2005. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/187102/1/cot136.pdf>.
12. Wasiinger CV, Cordwell SJ, Cerpa-Polijak A. Progress with gene-product mapping of the molecules: mycop. matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry: applications in peptide and protein characterization. *Protein Expr Purif.* 1995;6:109-23.
13. Bochud PY, Calandra T. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment. *BMJ.* 2003;325:262-6.
14. Siqueira-Batista R, Gomes AP, Santos SS, Almeida LC, Figueiredo CES, Pacheco SJB. Manual de infectologia. Rio de Janeiro: Revinter; 2002.
15. Flohé SB, Agrawal H, Schmitz D, Gertz M, Flohé S, Schade FU. Dendritic cells during polymicrobial sepsis rapidly mature but fail to initiate a protective Th1-type immune response. *J Leukoc Biol.* 2006;79:473-81.
16. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2001;1:135-45.
17. Hubacek JA, Stüber F, Fröhlich D, Book M, Wetegrove S, Ritter M *et al.* Gene variants of the bactericidal/permeability increasing protein and lipopolysaccharide binding protein in sepsis patients: gender-specific genetic predisposition to sepsis. *Crit Care Med.* 2001;29:557-61.
18. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet.* 2005;365:63-78.
19. Carneiro MC, Siqueira-Batista R. O mosaico patogênico da pancreatite aguda grave. *Rev Col Bras Cir.* 2004;31:391-7.
20. Bhatia M, Mochhala S. Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute distress syndrome. *J Pathol.* 2004;202:145-56.
21. Perez MCA. Epidemiologia, diagnóstico, marcadores de imunocompetência e prognóstico da sepse [tese]. Rio de Janeiro: Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 2009.
22. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Sepsis syndromes: understanding the role of innate and acquired immunity. *Shock* 2001;16:83-96.
23. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Schmiegel RE Jr, Hui JJ, Chang KC *et al.* Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4+ T lymphocytes in humans. *J Immunol.* 2001;166:6952-63.
24. Lopes-Aguirre Y, Páramo JA. Endothelial cell and hemostatic activation in relation to cytokines in patients with sepsis. *Thromb Res.* 1999;94:95-101.
25. Paiva RA, David CM, Domont GB. Proteômica na sepse: estudo piloto. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2010;22:403-12.
26. Soares AJC, Santos MF, Chung J, David CMN, Domont GB. Proteômica e sepse: novas perspectivas para o diagnóstico. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2007;19:14-22.
27. Holmes CL, Russell JA, Walley KR. Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock: role in prognosis and potential for therapy. *Chest.* 2003;124:1103-15.
28. Calvano SE, Xiao W, Richards DR, Feliciano RM, Baker HV, Cho RJ *et al.* A network-based analysis of systemic inflammation in humans. *Nature.* 2005;437:1032-7.
29. Anderson NL, Anderson NG. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects. *Mol Cell Proteomics.* 2002;1:845-67.
30. Guven H, Altintop L, Baydin A, Esen S, Aygun D, Hokelek M *et al.* Diagnostic value of procalcitonin levels as an early indicator of sepsis. *Am J Emerg Med.* 2002;20:202-6.
31. Rey C, Arcos ML, Concha A. Procalcitonin as a diagnostic and prognostic marker in critically ill children. *Eur Pediatr.* 2010;4:62-5.
32. Oberholzer A, Souza SM, Tschöke SK, Oberholzer C, Abouhamze A, Pribble JP *et al.* Plasma cytokine measurements augment prognostic scores as indicators of outcome in patients with severe sepsis. *Shock.* 2005;23:488-93.
33. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R *et al.* Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit Care Med.* 2008;36:296-327.
34. Paugam-Burtz C, Albuquerque M, Baron G, Bert F, Voittot H, Delefosse D *et al.* Plasma proteome to look for diagnostic biomarkers of early bacterial sepsis after liver transplantation: a preliminary study. *Anesthesiology.* 2010;112:926-35.
35. Holly MK, Dear JW, Hu X, Schechter AN, Gladwin MT, Hewitt SM *et al.* Biomarker and drug-target discovery using proteomics in a new rat model of sepsis-induced acute renal failure. *Kidney Int.* 2006;70:496-506.
36. Ronco C, Tetta C, Mariano F, Wratten ML, Bonello M, Bordon V *et al.* Interpreting the mechanisms of continuous renal replacement therapy in sepsis: the peak concentration hypothesis. *Artif Organs.* 2003;27:792-801.
37. Gong Y, Chen N, Wang FQ, Wang ZH, Xu HX. Serum proteome alteration of severe sepsis in the treatment of continuous renal replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24:3108-14.
38. Sarrias MR, Roselló S, Sánchez-Barbero F, Sierra JM, Vila J, Yélamos J *et al.* A role for human Sp alpha as a pattern recognition receptor. *J Biol Chem.* 2005;280:35391-8.
39. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature.* 2002;420:885-91.
40. Benson MD. Acute-phase reactants. *Curr Opin Rheumatol.* 1989;1:209-14.
41. Koenig W. Fibrin(ogen) in cardiovascular disease: an update. *Thromb Haemost.* 2003;89:601-9.
42. Camargo S, Shan SV, Walker PD. Meprin, a brush-border enzyme, plays an important role in hypoxic/ischemic acute renal tubular injury in rats. *Kidney Int.* 2002;61:959-66.
43. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H *et al.* The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 1996;22:707-10.
44. Bueno LO, Guimarães HP, Lopes RD, Schneider AP, Leal PHR, Senna APR *et al.* Avaliação dos índices prognósticos SOFA e MODS em pacientes após parada cardiopulmonar em unidade de terapia intensiva geral. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2005;17:162-4.
45. Bozza FA, Salluh JJ, Japiassu AM, Soares M, Assis EF, Gomes RN *et al.* Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis: a multiplex analysis. *Crit Care.* 2007;11:R49.
46. Rabello LSCF, Rosolem MM, Leal JV, Soares M, Lisboa T, Salluh JIF. Entendendo o conceito PIRO: da teoria à prática clínica: parte 1. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2009;21:425-31.
47. Rosolem MM, Rabello LSCF, Leal JV, Soares M, Lisboa T, Salluh JIF. Entendendo o conceito PIRO: da teoria à prática clínica: parte 2. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2010;22:64-8.
48. Buhimschi CS, Bhandari V, Han YW, Dulay AT, Baumbusch MA, Madri JA, *et al.* Using proteomics in perinatal and neonatal sepsis: hopes and challenges for the future. *Curr Opin Infect Dis.* 2009;22:235-43.