

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE  
UNIDADE ACADÊMICA CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**ANDRÉ COELHO**

**PREDIÇÃO DA RESPOSTA AO USO DA ASSOCIAÇÃO DE  
N-ACETILCISTEÍNA E DEFEROXAMINA NA SEPSE –  
NÍVEIS SÉRICOS DE INTERLEUCINA-6:  
UM ESTUDO TRANSLACIONAL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciências da Saúde da Universidade do  
Extremo Sul Catarinense para Obtenção  
do título de Mestre em Ciências da  
Saúde

Orientador: Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol

**CRICIÚMA  
2017**

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

C672p Coelho, André.

Predição da resposta ao uso da associação de N-acetilcisteína e deferoxamina na sepse – níveis séricos de interleucina-6: um estudo translacional / André Coelho - 2017.

66 p.: il.; 21 cm.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2017.

Orientação: Felipe Dal Pizzol.

1. Septicemia - Tratamento. 2. Deferoxamina – Efeitos colaterais. 3. N-acetilcisteína – Efeitos colaterais. 4. Interleucina-6. 5. Estresse oxidativo. 7. Inflamação. I. Título.

CDD 23. ed. 616.944



**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC**

Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão.

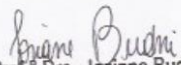
Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde

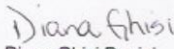
**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)**

Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 1.919 de 03.06.2005

**ATA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – Nº 307**

Com início às 13h30 (treze e trinta horas) do dia trinta do mês de janeiro de 2018 (dois mil e dezoito), realizou-se, no Mini Auditório do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), o seminário formal de apresentação dos resultados da dissertação de Mestrado de **André Coelho**, sob a orientação do Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol, intitulada **"PREDIÇÃO DA RESPOSTA AO USO DA ASSOCIAÇÃO DE N-ACETILCISTEÍNA E DEFEROXAMINA NÍVEIS SÉRICOS DE INTERLEUCINA-6: UM ESTUDO TRANSLACIONAL"**. A dissertação foi examinada por uma banca examinadora constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. Eduardo Pacheco Rico (Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC) – Conceito final: Aprovado; Prof.ª Dra. Alexandra Ioppi Zugno (Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC) – Conceito final: Aprovado e Prof. Dr. Daniel Pens Gelain (Universidade Federal de Minas Gerais - UFRGS) – Conceito final: Aprovado. Com o resultado final: **APROVADO**, o aluno finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**. Os trabalhos foram concluídos às 14h30 (quatorze e trinta horas), dos quais eu, Diana Ghisi Daniel, Secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, lavrei a presente ata, que assino juntamente com a Prof.ª Dra. Josiane Budni, Coordenadora Adjunta do Programa. Criciúma, 30 (trinta) de janeiro de 2018 (dois mil e dezoito).

  
Prof.ª Dra. Josiane Budni  
Coordenadora Adjunta PPGCS  
Prof.ª Dra. Josiane Budni  
Coordenadora Adjunta do PPGCS

  
Diana Ghisi Daniel  
Secretária



## **FOLHA INFORMATIVA**

Esta dissertação foi elaborada seguindo o estilo Vancouver e será apresentada no formato tradicional, conforme normas constantes na Resolução n. 08/2015, propostas pelo Colegiado de Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Fisiopatologia do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense e da Unidade de Terapia Intensiva do Hospital São José, Criciúma, Santa Catarina.



Dedico este trabalho à minha esposa Enfa. Dagmar Geraldi Coelho e  
filha Lauana Coelho.





## **AGRADECIMENTOS**

Em especial à Deus.

Ao orientador Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol; à Prof. Dra. Cristiane Ritter; à Prof. Dra. Cassiana Mazon Fraga; ao Prof. Dr. Daniel Pens Gelain; à Prof. Dra. Alexandra Loppi Zugno; ao Prof. Dr. Eduardo Pacheco Rico; a todos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde; às secretárias da Faculdade de Medicina Giovana Fátima da Silva Soares e Elisandra Aparecida da Silva Zerwes; à secretária do PPGCS Diana Ghisi; aos Intensivistas: MSc Carmen Aguiar Grandi, MSc Elisa Baldassar Barbosa, Vanessa de Luca Francisco, Marcelo Vinhas; ao colega de UTI cirurgião vascular Marco Ortiz.

Por fim, meus agradecimentos vão a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que este trabalho fosse realizado.



## RESUMO

A sepse é definida como uma ou mais disfunção de órgãos ameaçadora a vida por resposta inadequada do hospedeiro a uma infecção. A inflamação e o estresse oxidativo apresentam importante papel relacionados na homeostase do organismo, associados tanto a danos teciduais, quanto a processos infecciosos, incitando uma cascata de resposta que quando desregulada pioram o prognóstico. Os biomarcadores gerados na resposta inflamatória e no estresse oxidativo são responsáveis pela modulação destes processos, influenciando diretamente na evolução da morbidade e mortalidade. Este estudo avalia o uso dos níveis plasmáticos de interleucina (IL)-6 na predição da resposta a antioxidantes (deferóxamina + n-acetilcisteína) na sepse, em modelo animal e em pacientes criticamente enfermos com hipotensão persistente. A indução de sepse em ratos Wistar adultos machos foi realizada pela técnica de ligação cecal e punção (CLP). Os pacientes foram selecionados de análise de subgrupos de um ensaio clínico randomizado, prospectivo, duplo cego e placebo controlado, previamente publicado. No modelo animal de sepse, o uso de antioxidantes reduziu os níveis plasmáticos de IL-6 24 horas após a indução de sepse, somente em um subgrupo que apresentava IL-6 elevada no início do tratamento. Esta redução foi associada com um aumento significativo da sobrevida, mesmo quando os antioxidantes foram administrados tardiamente (24 horas) após a CLP. Entretanto, o mesmo não foi observado em pacientes tratados com antioxidantes. Os níveis de IL-6 plasmáticas medidas no momento da inclusão dos pacientes no estudo não foi capaz de prever uma melhor resposta ao uso de antioxidantes nestes indivíduos, quando avaliado a incidência e gravidade da lesão renal, mortalidade durante a internação na unidade de terapia intensiva e hospitalar. Em conclusão, apesar de os níveis plasmáticos de IL-6 serem um biomarcador para prever a resposta ao uso de antioxidantes em modelo animal de sepse, parece que isto não se traduz em benefícios para pacientes criticamente enfermos com hipotensão persistente.

**Palavras Chave:** Antioxidantes; Deferóxamina; Estresse oxidativo; Inflamação; Interleucina-6; N-acetilcisteína,



## ABSTRACT

Sepsis is defined as one or more life-threatening organ dysfunction due to an inadequate host response to an infection. Inflammation and oxidative stress play an important role in the homeostasis of the organism, associated with both tissue damage and infectious processes, inciting a response cascade that, when deregulated, worsens the prognosis. The biomarkers generated in the inflammatory response and oxidative stress are responsible for the modulation of these processes, directly influencing the evolution of morbidity and mortality. This study evaluates the use of plasma levels of interleukin(IL)-6 in predicting the response to antioxidants (deferoxamine + n-acetylcysteine) in sepsis, in animal models and in critically ill patients with persistent hypotension. Sepsis induction in male adult Wistar rats was performed by the cecal ligation and puncture technique (CLP). Patients were selected from subgroup analyzes of a previously published randomized, prospective, double-blind, placebo-controlled trial. In the animal model of sepsis, the use of antioxidants reduced plasma IL-6 levels 24 hours after induction of sepsis, only in a subgroup that had elevated IL-6 at the start of treatment. This reduction was associated with a significant increase in survival, even when antioxidants were administered late (24 hours) after CLP. However, the same was not observed in patients treated with antioxidants. The levels of plasma IL-6 measured at the time of inclusion of the patients in the study were not able to predict a better response to the use of antioxidants in these individuals when we evaluated the incidence and severity of renal injury, mortality during intensive care unit admission and hospital. In conclusion, although plasma IL-6 levels are a biomarker for predicting the response to antioxidant use in an animal model of sepsis, this does not appear to translate into benefits for critically ill patients with persistent hypotension.

**Keywords:** Antioxidants; Deferoxamine; Inflammation; Interleukin-6; N-acetylcysteine; Oxidative stress.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Taxa de mortalidade em animais tratados ou não com antioxidantes precocemente após a indução de sepse. ....	35
Figura 2 - Taxa de mortalidade em animais tratados com antioxidantes precocemente após a indução de sepse conforme níveis plasmáticos de interleucina-6.....	36
Figura 3 - Efeito do uso de antioxidantes administrados precocemente após a indução de sepse sobre os níveis plasmáticos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. ....	37
Figura 4 - Efeito do uso de antioxidantes administrados precocemente sobre os níveis plasmáticos de proteínas carboniladas.....	37
Figura 5 - Efeito do uso de antioxidantes administrados precocemente sobre os níveis plasmáticos de interleucina-6. ....	38
Figura 6 - Taxa de mortalidade em animais tratados ou não com antioxidantes tardiamente após a indução de sepse.....	39
Figura 7 - Taxa de mortalidade em animais tratados com antioxidantes tardiamente após a indução de sepse conforme níveis plasmáticos de interleucina-6.....	40
Figura 8 - Efeito do uso de antioxidantes administrados tardiamente após a indução de sepse sobre os níveis plasmáticos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. ....	41
Figura 9 - Efeito do uso de antioxidantes administrados tardiamente após a indução de sepse sobre os níveis plasmáticos de proteínas carboniladas. ....	41
Figura 10 - Efeito do uso de antioxidantes administrados tardiamente sobre os níveis plasmáticos de interleucina-6. ....	42





## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Características clínicas dos diferentes grupos.....	43
Tabela 2 - Desfechos nos diferentes pacientes estratificados conforme níveis de interleucina-6. ....	44



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATB - Antibiótico  
ATX - Antibiótico + antioxidantes  
APACHE II - (do inglês: *Acute Physiologic and Chronic Health Evaluation II*)  
CLP -Punção de Ligação Cecal  
CTI -Centros de Terapia Intensiva  
EAO - Espécies Ativas de Oxigênio  
DFX - Deferoxamina  
DNA - Ácido Desoxirribonucleico  
HIV - (do inglês: *Human Immunodeficiency Virus*)  
IL - Interleucina  
IRA - Injúria Renal Aguda  
LPS - Lipopolissacarídeo  
NAC - N-acetilcisteína  
NO - Óxido Nítrico  
NOS - Óxido Nítrico Sintase  
iNOS - Óxido Nítrico Sintase Induzida  
NTA - Necrose tubular aguda  
SIRS - (do inglês: *Systemic Inflammatory Reaction Syndrome*)  
SOFA - (do inglês: *Sequential Organ Failure Assessment*)  
SOD - Superóxido dismutase  
TBA - Ácido Tiobarbitúrico  
TBARS - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico  
TGF - Fator de Crescimento Transformador  
TNF - Fator de Necrose Tumoral  
TRS - Terapia Renal de Substituição  
UTI(s) - Unidade(s) de Terapia Intensiva



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>23</b>
1.1 ASPECTOS GERAIS .....	23
1.2 ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA .....	24
<b>1.2.1 Espécies Ativas de Oxigênio (EAO) e de Nitrogênio (EAN) ...</b>	<b>25</b>
<b>1.2.2 Inflamação .....</b>	<b>25</b>
<b>1.2.3 Antioxidantes .....</b>	<b>26</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>29</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	29
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	29
<b>3 METODOLOGIA .....</b>	<b>31</b>
3.1 MODELO ANIMAL DE SEPSE .....	31
<b>3.1.1 Protocolo Experimental .....</b>	<b>31</b>
3.2 ESTUDO EM PACIENTES CRITICAMENTE ENFERMOS .....	32
<b>3.2.1 Desfechos do estudo em pacientes criticamente enfermos .....</b>	<b>33</b>
3.3 MEDIDAS DE PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS E DE DANOS OXIDATIVOS .....	33
<b>3.3.1 Medida de parâmetros inflamatórios .....</b>	<b>33</b>
<b>3.3.2 Medida de parâmetros de dano oxidativo .....</b>	<b>34</b>
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	34
<b>3.4.1 Estudo animal .....</b>	<b>34</b>
<b>3.4.2 Estudo em humanos .....</b>	<b>34</b>
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>35</b>
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>51</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>55</b>
<b>APÊNDICE A – ESCORE KDIGO .....</b>	<b>56</b>
<b>APÊNDICE B – FICHA DE COLETA DE DADOS .....</b>	<b>57</b>
<b>APÊNDICE C – TERMOS DE CONSENTIMENTOS .....</b>	<b>61</b>
<b>APÊNDICE D - COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA .....</b>	<b>64</b>
<b>APÊNDICE E – REGISTRO NO CLINICAL TRIALS .....</b>	<b>65</b>
<b>APÊNDICE F – PLANEJAMENTO .....</b>	<b>66</b>



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 ASPECTOS GERAIS

Sepse é uma das causas mais comuns de óbito entre pacientes hospitalizados na unidade de terapia intensiva (UTI) (Mantzaris et al, 2017; Rello et al, 2017). É definida como disfunção orgânica ameaçadora da vida causada por resposta desregulada do hospedeiro relacionada à uma infecção (Singer et al, 2016; Bateman et al, 2017). Esta definição ocorreu no terceiro consenso internacional de sepsis e choque séptico (sepsis-3). É causa primária de morte por infecção, e é uma síndrome formada por fatores relacionados ao patógeno e ao hospedeiro. (Singer et al, 2016). Tornando difícil o seu diagnóstico quando associada com comorbidades múltiplas (Mantzaris et al, 2017; Rello et al, 2017).

Na definição da sepsis-3 uma nova ferramenta clínica substituiu os critérios de síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SIRS) para identificação de pacientes (Singer et al. 2016; Rello et al, 2017). A recomendação atual é o uso do escore SOFA (Avaliação das Disfunções Orgânicas Sequenciais (Sepsis-Relacionadas)) (Apêndice B) um sistema que usa parâmetros clínicos diários para identificar disfunção orgânica. E independentemente de seu escore inicial, o aumento dos valores durante as primeiras 48 h em UTI ou CTI (Unidade, ou Centro de Terapia Intensiva) prevê uma taxa de mortalidade em torno de 50% (Singer et al. 2016; Rello et al, 2017). Também foi apresentado em 2016 o qSOFA (quick SOFA) um novo escore que inclui somente critérios clínicos de fácil e rápida mensuração à beira do leito: rebaixamento de nível de consciência (escala de coma de Glasgow  $\leq 13$ ); pressão arterial sistólica  $\leq 100$  mmHg; frequência respiratória  $\geq 22$  rpm. A presença de dois ou três destes critérios apresenta validade preditiva como o SOFA original para pacientes externos (Gomes et al, 2015; Singer et al. 2016; Rello et al, 2017). É considerado, por alguns pesquisadores, que estes critérios podem ser insuficientes no diagnóstico de choque séptico, pois boa parte dos pacientes podem apresentar-se em choque sem presença de hipotensão. Basta apresentarem hipoperfusão tecidual, e esta é somente detectada por exame laboratorial sanguíneo. A hipotensão arterial geralmente aparece atrasada, enquanto a perfusão tecidual pode estar reduzida de forma grave comprometendo os tecidos de forma global, ou localizada. (Lee et al, 2016). Nos países mais desenvolvidos, apesar do avanço da medicina, 30% dos pacientes morrem por sepsis, sendo que os mais vulneráveis são os bebês, os idosos e as pessoas imunodeficientes (diabetes, aids, câncer, nefropatias e hepatopatias). É uma patologia

dispendiosa para os sistemas de saúde, pois o tempo de hospitalização é de semanas, e frequentemente se associa com o comprometimento de órgãos que deve ser tratado (Léger et al, 2017). Sepses leva à inflamação sistêmica, ao distúrbio de coagulação e ao comprometimento macro e microdinâmicos. Inadequada ressuscitação volêmica e terapêutica, ou falha de resposta clínica, temos o choque séptico, condição sistêmica de alta mortalidade ou seqüela orgânica (Léger et al, 2017). A injúria renal aguda (IRA) é uma das disfunções comuns contribuindo para elevação da mortalidade, 40 a 50% dos pacientes hospitalizados críticos com sepsis evoluem com IRA (Gomes and Kellum, 2016), podendo alcançar até 70% (Zarbock et al, 2014).

## 1.2 ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA

A patogênese da sepsis não está totalmente esclarecida. No passado, a teoria aceita de uma resposta inflamatória incontrolada a um patógeno, não apresentou sustentação, pois numerosos estudos falharam com o uso de anti-inflamatórios, levantando questionamentos sobre a hipótese de hiperinflamação (Mantzaris et al, 2017). Envolvida não somente na ativação de respostas pró- e anti-inflamatórias, a sepsis se relaciona também com sistemas não-imunológicos, tais como, cardiovascular, autônomo, neurológico, hormonal, metabólico e de coagulação, o que motivou especialistas a revisarem as definições (Rello et al, 2017). A sepsis pode ser dividida em duas fases: primeiro, uma inicial, fase hiperinflamatória, caracterizada por SIRS; segundo, fase imunossupressora, caracterizada por comprometimento multiorgânico e referida como CARS (síndrome de resposta anti-inflamatória compensatória) (Rello et al, 2017). Na fase aguda a proteína C reativa (PCR) é produzida no fígado e em escalas menores nos macrófagos alveolares. A interleucina-6 (IL-6) é a principal molécula que incita a produção da PCR, embora a IL-1 e o fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) também o fazem (Rello et al, 2017). Nesse contexto, o óxido nítrico (NO), apresenta papel importante (Zarbock et al, 2014). Sua ação na IRA associada à sepsis está na possível capacidade de preservação da função renal, pela inibição não-seletiva que pode restaurar o fluxo microvascular. Conforme descrito previamente, ocorre aumento geral da expressão do óxido nítrico sintase-induzida (iNOS) de forma heterogênea. Regiões ficarão desprovidas de NO e da capacidade vasodilatadora, com risco de hipóxia e isquemia do tecido. (Zarbock et al, 2014; Hernando et al, 2016). A diminuição da dependência do iNOS na indução de NO derivado do



endotélio, interfere no equilíbrio da sepse. Esse desacoplamento junto com a inflamação e o estresse oxidativo, induz a perda de mecanismos reguladores e de defesa, como vasodilatação direta, inibição da agregação de plaquetas e de leucócitos, e da preservação do glicocálix (Hernando et al, 2016).

### **1.2.1 Espécies Ativas de Oxigênio (EAO) e de Nitrogênio (EAN)**

As EAO incluem os radicais livres (RL): ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) e radical hidroxil ( $OH^{\bullet}$ ); e os radicais não oxidantes: peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), ácido hipocloroso ( $HOCl$ ), e o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) (Andrades et al, 2012; Ratliff, et al 2016).

Citocinas pró-inflamatórias ativam a formação de NADPH oxidase, aumentando a formação do ânion superóxido, precursor importante das EAO, que pela ação superóxido dismutase (SOD) é convertido em peróxido de hidrogênio (Tym et al, 2008; BATERMAN et al, 2017). O superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidroxil e o ácido hipocloroso podem reagir com o NO, formando as EAN, assim como o peroxinitrito (Dennis et al, 2017). A deficiência de substratos e cofatores, sob condições de hipóxia, isquemia, toxicidade, disfunções mitocondriais, pode desacoplar o NOS, levando ao aumento da geração de superóxido (BATERMAN et al, 2017; Dennis et al, 2017).

As EAO, incluindo os derivados do ânion superóxido, em condições de desequilíbrio, podem se distribuir pelos tecidos adjacentes, como no espaço vascular; incitam a oxidação de proteínas e lipídeos, os quais podem ser responsáveis por lesões teciduais que culminam na disfunção orgânica. (BATERMAN et al, 2017; Dennis et al, 2017).

### **1.2.2 Inflamação**

Na última década, muitos esforços foram direcionados na tentativa de identificar biomarcadores inflamatórios úteis no diagnóstico diferencial de sepse e na predição de prognóstico.

Um estudo integrou as citocinas mais relacionadas à sepse, após revisão, e demonstrou que dentre todas as citocinas, a IL-6 apresentou maior correlação de seus níveis séricos com a gravidade da falência orgânica. Goldie et al, 1995, uma das referências deste estudo, já tinham relatado essa associação (Greally et al, 2013).

Em estudos mais recentes a IL-6 é utilizada como biomarcador nos pacientes sépticos (Barre et al, 2017; Dieplinger et al 2017; Khan et al, 2017; Mao et al 2017; Takahashi et al, 2017).

Foi sugerido que a IL-6 pode apresentar capacidade preditora na inflamação, pois conforme suas características, é prontamente gerada na fase aguda, sua síntese se dá principalmente por monócitos e macrófagos, apresenta capacidade de estimular: a síntese de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), a diferenciação das células B e a ativação das células T citotóxicas. É uma das principais mediadoras responsáveis pela síntese hepática de proteínas inflamatórias de fase aguda como a PCR, como já mencionado, e a pró-calcitonina, as quais aumentam sua concentração sérica de forma significativa nos processos inflamatórios em resposta à IL-6 (Rios-Toro et al, 2017).

Estudo em modelo humano demonstrou que pacientes sépticos com genótipo CC promotor de polimorfismo IL-6 (-174G/C) tinham menores níveis séricos de IL-6 e menor risco de mortalidade num período de 30 dias, em relação aos genótipos GC ou GG (Lorente et al, 2016).

### 1.2.3 Antioxidantes

Os antioxidantes são protetores do equilíbrio celular. As principais enzimas antioxidantes são: glutatona peroxidase (GPx) que catalisa a conversão de peróxido de hidrogênio em água; a superóxido dismutase (SOD) que converte superóxido em oxigênio ou peróxido de hidrogênio, que é menos reativo; e a catalase (CAT) que catalisa também a quebra de peróxido de hidrogênio. A glutatona (GSH), que pode atuar como mediadora das vias inflamatória e imune, é uma substância que atua como um cofator para várias enzimas, auxiliando no reparo do DNA e como *scavengers* dos radicais: hidroxil, peróxido de hidrogênio e peróxidos lipídicos. A função da GSH pode ser potencialmente reforçada pela administração de NAC (N-acetilcisteína), que é seu precursor sintético (Mantzaris et al, 2017).

A nefropatia induzida por contraste (CIN) foi evidenciada em 14,5% de pacientes não selecionados após angioplastia coronariana (Li et al, 2017). Uma metanálise realizada sobre CIN demonstrou evidências de que a suplementação de NAC esteve associada a maior risco com uso do contraste (Xu et al, 2016; Mantzarlis et al, 2017).

Em modelo animal, estudo mostrou que a deferroxamina (DFX) inibe a ativação induzida pelo LPS, reduzindo a produção de EAO e de mediadores inflamatórios (Wang et al, 2015). Os estudos em modelos de sepse animal, apresentaram redução do estresse oxidativo após uso associado de DFX e NAC (Ritter et al, 2004). A DFX, usada com segurança em doenças hematológicas, citada em alguns estudos de sepse droga experimental, reduziu o dano oxidativo em modelo de sepse

abdominal animal. O agente quelante de ferro, quando administrado antes da indução da sepse, apresentou redução da mortalidade (Vulcano et al, 2000; Ritter et al, 2006).

A alta morbimortalidade da sepse associada à IRA, independentemente severidade, impõe a necessidade de estratégias para preservação da função renal, complicações da IRA, e predição de respostas aos tratamentos. As evidências em modelos animais com associação de DFX e NAC demonstram diminuição do estresse oxidativo, que está relacionado diretamente com as lesões de isquemia e reperusão renais (Ritter et al, 2004; 2006). O uso de NAC + DFX em modelo de sepse humana e IRA não apresentou redução dos níveis do biomarcador inflamatório IL-6, embora se tenha demonstrado redução do dano oxidativo, mas sem melhora da mortalidade (Fraga et al, 2012; Fraga et al, 2016). Em contraste, modelo de sepse em roedores demonstrou que uso de antioxidantes reduziu a taxa de mortalidade, provavelmente pela redução do estresse oxidativo, limitando a infiltração inflamatória e a indução de necrose hepatocitária por tetracloreto de carbono (Ritter et al, 2006). A associação de DFX e NAC reduziu o estresse oxidativo em modelo com ratos, limitando a infiltração de neutrófilos e a disfunção mitocondrial, diminuindo as consequências da peritonite, provavelmente por decorrência da diminuição da produção de radical hidroxil a partir do peróxido de hidrogênio e do ferro via reação de Fenton (Ritter et al, 2004; 2006).

Considera-se com isto a existência de subgrupos que podem se beneficiar com o uso de diferentes tratamentos, incluindo antioxidantes, e neste contexto os biomarcadores são uma das estratégias utilizadas para a estratificação dos subgrupos (Singer 2018). Sugerimos que a IL-6 apresenta potencial de predição de resposta ao tratamento, e que seus níveis plasmáticos possam selecionar respondedores e não respondedores ao tratamento antioxidante.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os níveis plasmáticos de IL-6 como biomarcador para a predição da resposta a antioxidantes em modelo animal de sepse e em pacientes criticamente enfermos com hipotensão persistente.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar se os níveis plasmáticos de IL-6 podem prever a resposta ao tratamento com NAC + DFX em um modelo animal de sepse
- Determinar se o tratamento com NAC + DFX é efetivo quando administrados tardiamente em um modelo animal de sepse, em subgrupos de animais conforme os níveis plasmáticos de IL-6
- Determinar se os níveis plasmáticos de IL-6 podem prever a resposta ao tratamento com NAC + DFX em pacientes criticamente enfermos com hipotensão persistente



### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 MODELO ANIMAL DE SEPSE

Para o presente trabalho não foi utilizado animais experimentais exclusivamente manipulados para tal fim. Todos os dados de animais são de estudo antigo, 2006, (<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/8991>). Não tinha CEUA naquela época, não sendo obrigatório o aceite, não havendo registro. Foram analisados todos estes dados secundários, nunca antes publicados, deste banco de dados.

Foram obtidos ratos Wistar adultos machos (250-300g) do Biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense. Os animais foram alojados em grupos de cinco com acesso livre a alimentos e água, mantidos em ciclos de luz-escuro de 12h, a uma temperatura de 22 ( $\pm 1$ )<sup>0</sup> Célsius. Sepse foi induzida por ligação e punção cecal (CLP) como já descrito anteriormente (Ritter et al, 2003; Wichterman et al, 1980). Resumindo, em condições assépticas, foi realizada uma laparotomia de 3 cm na linha mediana, expondo o ceco. Este foi ligado na sua base por sutura de fio seda 3.0, abaixo da valva ileocecal, e perfurado uma vez com agulha calibre 14. O ceco foi espremido para ocorrer a extrusão de fezes através do local perfurado. Um procedimento simulado (laparotomia e exposição cecal sem ligação ou perfuração) foi realizado como controle. Os animais foram ressuscitados com solução salina normal (30mL / kg subcutâneo) imediatamente e 12 h após o procedimento. Todos os animais foram devolvidos às suas gaiolas com livre acesso para alimentos e água.

##### 3.1.1 Protocolo Experimental

Os animais foram estudados em dois protocolos diferentes. No primeiro, a sepse foi induzida (n=90) e três horas depois foi coletado sangue da veia caudal para a determinação dos níveis de IL-6. No segundo, os mesmos procedimentos foram adotados, mas o sangue foi coletado 12h após o CLP. Nos dois protocolos imediatamente após a coleta de sangue os animais foram randomizados para receber antibióticos (ceftriaxona 30mg/kg cada 12h, e clindamicina 25mg/kg cada 8h) (grupo ATB) ou antibióticos mais NAC (20mg/kg) cada 6h mais DFX (20 mg/kg, uma vez ao dia) (grupo ATX) por 3 dias consecutivos. Para predizer a resposta ao uso de antioxidantes os animais foram divididos em (1) grupo IL-6 elevado (IL-6 > 2000 pg/ml) e (2) grupo IL-6 baixo (IL-6 < 2000 pg/ml). Estes valores de IL-6 foram baseados em estudos anteriores (Remick et al, 2002) e confirmados por estudo piloto em nosso modelo.

Os animais analisados neste estudo são provenientes de banco de dados originais, em estudo antigo, onde mortalidade foi seguida e os níveis de IL-6 medidos (<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/8991>).

A efetividade do uso de antioxidantes foi medida pela taxa de mortalidade dos animais que foi registrada ao longo de 5 dias. Além disto foi determinado o efeito antioxidante e anti-inflamatório a partir da medida dos níveis de IL-6, espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e proteínas carboniladas plasmáticas. Para tanto, em ambos os protocolos, sangue foi coletado 24 horas após o CLP.

### 3.2 ESTUDO EM PACIENTES CRITICAMENTE ENFERMOS

Foi realizada análise de subgrupos de um ensaio clínico randomizado, prospectivo, duplo cego e placebo controlado, previamente publicado (Fraga, et al. 2016). Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética do Hospital São José, e todos os pacientes, ou seus responsáveis legais, assinaram termos de compromisso livre e esclarecido antes de sua inclusão no estudo. Aprovado no CEP, com o número 208621 (Apêndice D). O estudo foi registrado ainda no Clinicaltrials.gov sob o número NCT00870883 (Apêndice E).

Maiores detalhes do método do estudo clínico foram publicados previamente (Fraga, et al. 2016). Brevemente, foram incluídos pacientes que apresentavam hipotensão por no mínimo trinta minutos, definida como uma pressão arterial média menor que 60 mmHg, mesmo com a reposição volêmica adequada, ou que necessitavam de vasopressores endovenosos (dopamina em dose maior que 5 mcg/kg/min, norepinefrina, ou epinefrina em qualquer dose. Inotrópicos como dobutamina, ou milrinona não foram considerados para inclusão dos pacientes. Foram excluídos os pacientes menores de 18 anos, participantes de outros estudos, com história de alergia a alguma das medicações do estudo, portadores de neoplasias malignas, portadores de HIV, os que haviam apresentado hipotensão arterial em até 48h antes de entrarem no estudo, pacientes com lesão renal necessitando de terapia renal substitutiva, os que apresentavam creatinina sérica superior a 3,5 mg/dl, os que precisaram de exames de imagem com uso de contrastes endovenosos nos últimos 7 dias, as gestantes ou lactantes, os que haviam feito uso de circulação extracorpórea até 48 h antes e pacientes que estavam fazendo uso prévio de alguma das duas medicações por outras indicações.

Os pacientes admitidos foram randomizados com uso do software online <<http://graphpad.com/quickcalcs/randomize1/>> para receberem NAC mais DFX ou placebo. A primeira dose de NAC e DFX foi dada em



até no máximo 12 h da inclusão no estudo. A dose de NAC foi de 50 mg/Kg por 4 h seguido de 100 mg/kg/dia por 48 h diluído em soro glicosado a 5%. DFX foi administrada em dose única de 1000 mg diluída em soro glicosado a 5% numa velocidade de 15 mg/kg/h. Pacientes do grupo placebo receberam infusão de soro glicosado 5% nos mesmos volumes e em recipientes idênticos ao infundidos aos pacientes do grupo tratado. A enfermeira responsável pela randomização preparava as medicações ou placebo, e somente ela tinha o conhecimento da alocação dos grupos. Após a inclusão no estudo foram coletados os dados demográficos e clínicos que incluíam creatinina inicial (que foi considerada a mais recente antes da inclusão no estudo), doenças pré-existentes, APACHE II, SOFA do dia da inclusão no estudo e diariamente enquanto os pacientes permaneciam na UTI, e a creatinina final (que foi considerada a última creatinina dosada durante a internação).

Foram incluídos nesta subanálise todos os pacientes do estudo original estratificados em dois grupos, conforme a mediana dos níveis de IL-6, em (1) grupo IL-6 elevado (IL-6 > 1060 pg/ml) e (2) grupo IL-6 baixo (IL-6 < 1060 pg/ml). Para tal determinação foi utilizado sangue coletado no momento da inclusão do paciente no estudo, antes do início da infusão de NAC e DFX ou placebo.

### **3.2.1 Desfechos do estudo em pacientes criticamente enfermos**

O desfecho primário foi definido como a incidência de injúria renal aguda definida pelos critérios *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KIDGO) (Khwaja et al, 2012). Como desfechos secundários foram analisados severidade da lesão renal conforme os critérios de KIDGO (agrupando os pacientes KIDGO 0 e 1 como grupo referência e pacientes KIDGO 2 e 3), mortalidade na UTI e hospitalar.

## **3.3 MEDIDAS DE PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS E DE DANOS OXIDATIVOS**

Conforme o estudo (animal ou humanos), quando indicado, foram realizadas medidas de IL-6, TBARS e proteínas carboniladas.

### **3.3.1 Medida de parâmetros inflamatórios**

Além de ter sido utilizada como biomarcador para estratificação (tanto no estudo com animais, quanto com pacientes) dos indivíduos, os níveis plasmáticos de IL-6 foram utilizados como marcador pró-inflamatório no

estudo em animais (vide acima). Em ambas situações, IL-6 foi medida com KITs ELISA específicos para cada espécie (ratos e humanos), comercialmente disponíveis, conforme recomendação do fabricante (R&D Systems, Minneapolis, MN).

### **3.3.2 Medida de parâmetros de dano oxidativo**

No estudo em animais foram utilizados como marcadores plasmáticos de dano oxidativo os níveis de TBARS e proteínas carboniladas. Os níveis de TBARS foram determinadas pelo método descrito por Winterbourn e colaboradores em 1985. Brevemente durante uma reação ácida aquecida o ácido tricloroacético 10% e o ácido tiobarbitúrico reagem com a amostra e após os níveis de TBARS foram determinados em 535 nm por espectrofotometria (Winterbourn et al, 1985). O dano oxidativo em proteínas foi determinado pela medida de grupos carbonil conforme técnica descrita previamente (Levine et al, 1994). Brevemente, as amostras obtidas foram precipitadas e as proteínas dissolvidas com dinitrofenilidrazina. Os grupamentos carbonil foram medidos em espectrofotômetro em 370nm.

## **3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

### **3.4.1 Estudo animal**

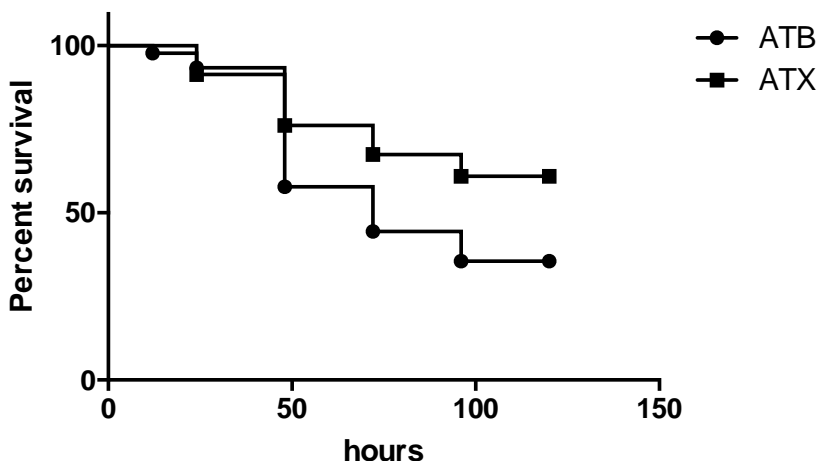
Os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Para as medidas de parâmetros inflamatórios e de dano oxidativo os diferentes grupos de tratamento foram comparados utilizando ANOVA de duas vias. Para comparação da mortalidade foram construídas curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier e os diferentes grupos de tratamento foram comparadas usando o teste log-rank. Diferenças estatisticamente significantes foram definidas como valor de  $p < 0,05$ .

### **3.4.2 Estudo em humanos**

As comparações das variáveis categóricas foram feitas com o teste do qui-quadrado (com a correção de Yates quando indicado) e apresentadas como n e percentagem do total. As variáveis contínuas foram apresentadas na forma de média  $\pm$  desvio padrão e comparadas com ANOVA de uma via. Em todas as análises foi adotado como nível para significância estatística um p-valor  $< 0,05$  bicaudado.

## 4 RESULTADOS

Como já descrito anteriormente (Ritter et al, 2004) a administração de NAC+DFX 3 horas após a indução de CLP melhora a sobrevivência quando comparado ao grupo que recebeu somente antibióticos (Figura 1).

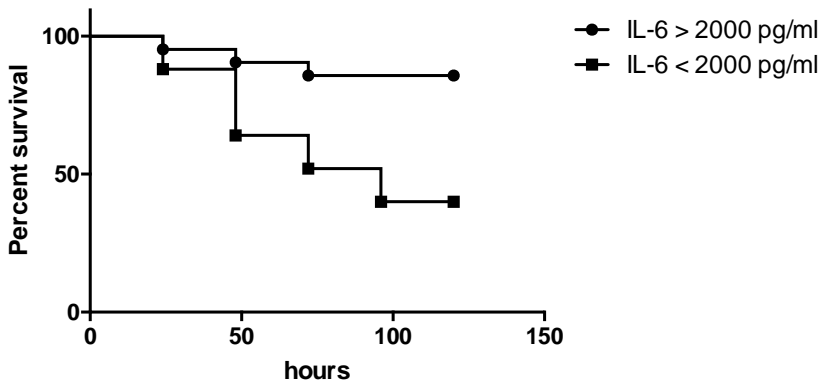


**Figura 1 - Taxa de mortalidade em animais tratados ou não com antioxidantes precocemente após a indução de sepse.**

Fonte: elaborada pelo autor.

A mortalidade foi avaliada em ratos Wistar submetidos a ligação cecal e perfuração tratados com ATB, ou com ATB mais antioxidantes (ATX) administrados 3h após a indução de sepse (n=45 cada grupo). Diferença entre os grupos estatisticamente significantes para um valor de  $p < 0.05$ .

Ao dividir os animais que receberam ATX, utilizando níveis plasmáticos de IL-6, observou-se que o efeito protetor é observado apenas naqueles animais com níveis de IL-6  $> 2.000$  pg/ml (Figura 2).

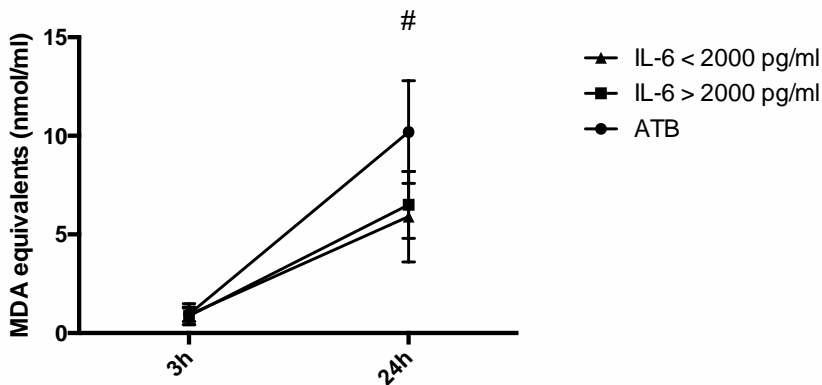


**Figura 2 - Taxa de mortalidade em animais tratados com antioxidantes precocemente após a indução de sepse conforme níveis plasmáticos de interleucina-6.**

Fonte: elaborada pelo autor.

A mortalidade foi avaliada em ratos Wistar submetidos a ligação cecal e perfuração tratados ATX administrados 3h após a indução de sepse e estratificados conforme os níveis de interleucina-6 no início do tratamento (n=20 grupo IL-6 > 2000pg/ml e n=25 grupo IL-6 > 2000pg/ml). Diferença entre os grupos estatisticamente significantes para um valor de  $p < 0.05$ .

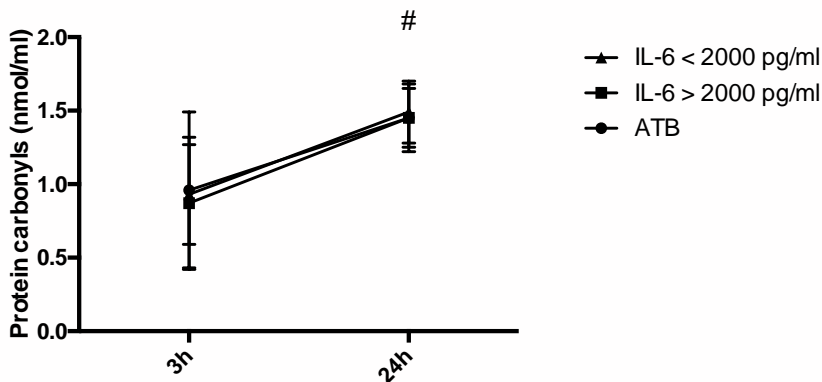
Foi previamente demonstrado que NAC + DFX diminui o dano oxidativo neste modelo de sepse (Ritter et al, 2004). Portanto foi ainda determinado se esses efeitos protetores eram restritos apenas aos animais com níveis elevados de IL-6. Conforme demonstrado nas figuras 3 e 4, o efeito antioxidante de NAC + DFX foi semelhante nos dois grupos quando os antioxidantes foram administrados 3 horas após CLP.



**Figura 3 - Efeito do uso de antioxidantes administrados precocemente após a indução de sepse sobre os níveis plasmáticos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.**

Fonte: elaborada pelo autor.

Os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foram medidos no momento do início do tratamento (3 horas) e 24 horas após a indução de sepse em ratos Wistar tratados com antibióticos (ATB) ou ATX estratificados conforme os níveis de interleucina-6 no início do tratamento (n=40 grupo ATB, n=18 grupo IL-6 > 2000pg/ml e n=21 grupo IL-6 > 2000pg/ml). # Diferença de todos os grupos em relação ao tempo 3h,  $p < 0.05$ .



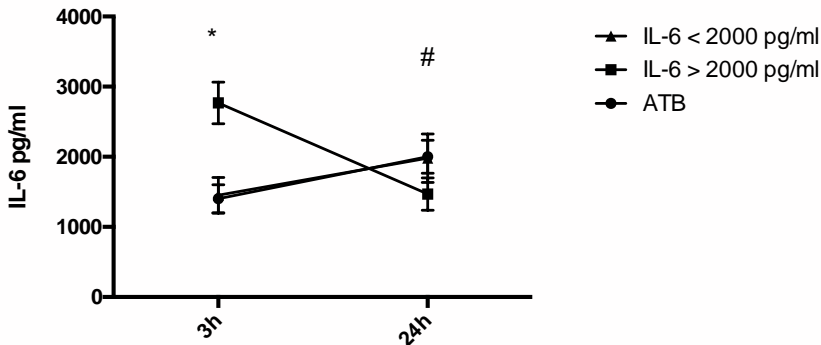
**Figura 1D**

**Figura 4 - Efeito do uso de antioxidantes administrados precocemente sobre os níveis plasmáticos de proteínas carboniladas.**

Fonte: elaborada pelo autor.

Os níveis de proteínas carboniladas foram medidos no momento do início do tratamento (3 horas) e 24 horas após a indução de sepse em ratos Wistar tratados com antibióticos (ATB) ou ATX estratificados conforme os níveis de interleucina-6 no início do tratamento (n=40 grupo ATB, n=18 grupo IL-6 > 2000pg/ml e n=21 grupo IL-6 > 2000pg/ml). # Diferença de todos os grupos em relação ao tempo 3h,  $p < 0.05$ .

Além disso, foi determinado se o tratamento antioxidante apresentava efeitos diferenciais sobre os níveis plasmáticos de IL-6. Conforme demonstrado na Figura 5, observou-se uma diminuição significativa nos níveis plasmáticos de IL-6 no grupo IL-6 > 2000 pg/ml, mas não no grupo de IL-6 < 2000 pg/ml.

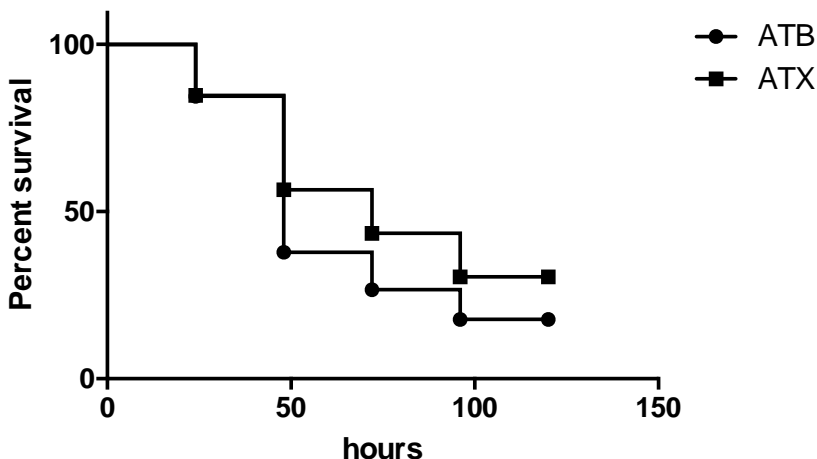


**Figura 5 - Efeito do uso de antioxidantes administrados precocemente sobre os níveis plasmáticos de interleucina-6.**

Fonte: elaborada pelo autor.

Os níveis de interleucina-6 foram medidos no momento do início do tratamento (3 horas) e 24 horas após a indução de sepse em ratos Wistar tratados com ATB ou ATX estratificados conforme os níveis de IL-6 no início do tratamento (n=40 grupo ATB, n=18 grupo IL-6 > 2000pg/ml e n=21 grupo IL-6 > 2000pg/ml). \* diferente em relação aos outros grupos para o mesmo tempo, # Diferença de todos os grupos em relação ao tempo 3h,  $p < 0.05$ .

Para explorar ainda mais o potencial de estratificação dos níveis plasmáticos de IL-6, foi determinado se o tratamento com ATX era capaz de aumentar a sobrevida quando administrado 12 horas após o CLP. Conforme observado na Figura 6, os efeitos protetores dos antioxidantes não foram significativos quando administrados 12 horas após CLP quando comparado ao uso isolado de antibióticos.

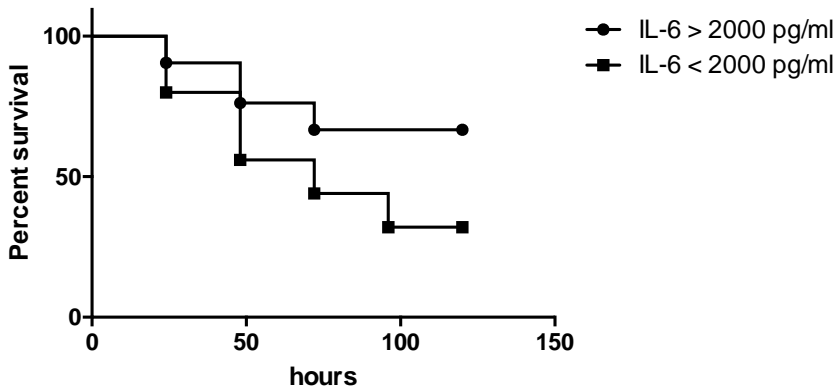


**Figura 6 - Taxa de mortalidade em animais tratados ou não com antioxidantes tardiamente após a indução de sepse**

Fonte: elaborada pelo autor.

A mortalidade foi avaliada em ratos Wistar submetidos a ligação cecal e perfuração tratados com ATB, ou com ATX administrados 12h após a indução de sepse (n=45 cada grupo). Diferença entre os grupos não são estatisticamente significativas.

Apesar disso, observou-se um efeito protetor de NAC mais DFX no grupo de animais com níveis maiores de IL-6, mesmo quando administrados 12 horas após CLP (Figura 7).



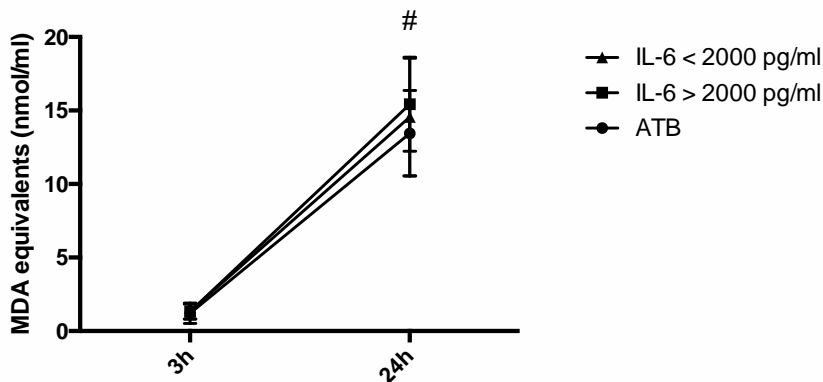
**Figura 7 - Taxa de mortalidade em animais tratados com antioxidantes tardiamente após a indução de sepse conforme níveis plasmáticos de interleucina-6.**

Fonte: elaborada pelo autor.

A mortalidade foi avaliada em ratos Wistar submetidos a ligação cecal e perfuração tratados ATX administrados 12h após a indução de sepse e estratificados conforme os níveis de interleucina-6 no início do tratamento (n=21 grupo IL-6 > 2000pg/ml e n=24 grupo IL-6 < 2000pg/ml). Diferença entre os grupos estatisticamente significantes para um valor de  $p < 0.05$ .

Este efeito protetor parece não estar relacionado a um potencial antioxidante diferencial entre os grupos, uma vez que tanto o TBARS plasmático como as proteínas carboniladas não diferiram quando entre os grupos (Figura 8 e 9).

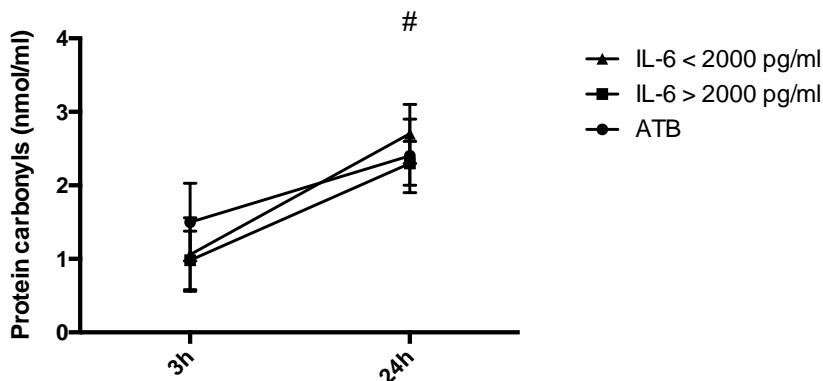




**Figura 8 - Efeito do uso de antioxidantes administrados tardiamente após a indução de sepse sobre os níveis plasmáticos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.**

Fonte: elaborada pelo autor.

Os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foram medidos no momento do início do tratamento (12 horas) e 24 horas após a indução de sepse em ratos Wistar tratados com ATB ou ATX estratificados conforme os níveis de interleucina-6 no início do tratamento (n=38 grupo ATB, n=16 grupo IL-6 > 2000pg/ml e n=17 grupo IL-6 > 2000pg/ml). # Diferença de todos os grupos em relação ao tempo 3h,  $p < 0.05$ .

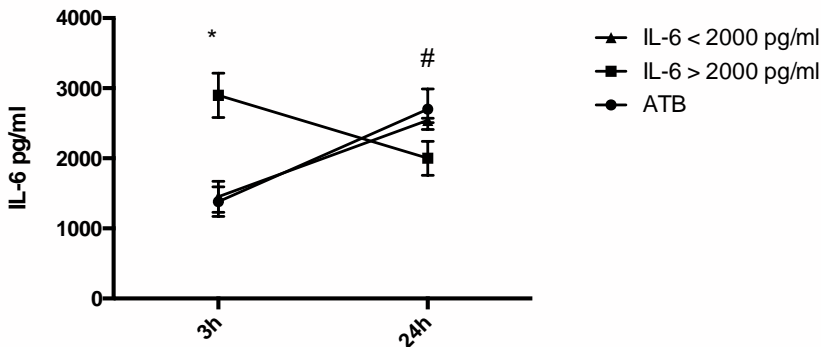


**Figura 9 - Efeito do uso de antioxidantes administrados tardiamente após a indução de sepse sobre os níveis plasmáticos de proteínas carboniladas.**

Fonte: elaborada pelo autor.

Os níveis de proteínas carboniladas foram medidos no momento do início do tratamento (12 horas) e 24 horas após a indução de sepse em ratos Wistar tratados com antibióticos (ATB) ou ATX estratificados conforme os níveis de interleucina-6 no início do tratamento (n=38 grupo ATB, n=16 grupo IL-6 > 2000pg/ml e n=17 grupo IL-6 > 2000pg/ml). # Diferença de todos os grupos em relação ao tempo 3h,  $p < 0.05$ .

Entretanto, assim como demonstrado para a administração precoce, houve um efeito diferencial significativo nos níveis plasmáticos de IL-6 (Figura 10).



**Figura 10 - Efeito do uso de antioxidantes administrados tardiamente sobre os níveis plasmáticos de interleucina-6.**

Fonte: elaborada pelo autor.

Os níveis de interleucina-6 foram medidos no momento do início do tratamento (12 horas) e 24 horas após a indução de sepse em ratos Wistar tratados com antibióticos (ATB) ou ATX estratificados conforme os níveis de interleucina-6 no início do tratamento (n=38 grupo ATB, n=16 grupo IL-6 > 2000pg/ml e n=17 grupo IL-6 > 2000pg/ml). \* diferente em relação aos outros grupos para o mesmo tempo, # Diferença de todos os grupos em relação ao tempo 3h,  $p < 0.05$ .

Uma vez que em humanos não foi demonstrado um efeito significativo de NAC + DFX numa população não estratificada (Fraga et al, 2016) foi decidido determinar se a estratégia de estratificação usando níveis de IL-6 poderia detectar pacientes que se beneficiariam com esse tratamento. Conforme mostrado na Tabela 1, os grupos randomizados para receber placebo ou antioxidantes foram semelhantes independentemente dos níveis basais de IL-6.

**Tabela 1 - Características clínicas dos diferentes grupos**

	Placebo		NAC + DFX		Valor de p
	IL-6 baixa n=23	IL-6 alta n=12	IL-6 baixa n=14	IL-6 alta n=26	
Idade, média em anos (DP)	58 (13)	52 (15)	54 (13)	50 (17)	0.22
Gênero, masc, n	11	12	8	12	0.4
APACHE II, média (DP)	19 (6.2)	18 (9.1)	21 (7.7)	20 (7.6)	0.66
SOFA D1, média (DP)	10 (4.4)	8.4 (4.1)	9.8 (3.2)	9 (4)	0.49
Ventilação Mecânica na admissão, n	13	12	6	17	0.4
Admissão Médica, n	16	7	9	13	0.5
Sepse na admissão, n	8	7	4	10	0.89
Droga vasoativa, sim, n	19	15	13	22	0.82
IRA na admissão, n	9	5	7	4	0.11
Níveis de Creatinina na admissão, média (DP)	0.93 (0.43)	1.09 (0.77)	1.74 (2.7)	0.91 (0.7)	0.22
Níveis de IL-6 na admissão, média (DP)	829 (116)	1256 (265)	756 (110)	1418 (216)	<0.001

Fonte: elaborada pelo autor.

Entretanto, diferentemente do resultado no modelo animal, a IL-6 não foi capaz de estratificar pacientes respondedores ao uso de antioxidantes. (Tabela 2).

**Tabela 2 - Desfechos nos diferentes pacientes estratificados conforme níveis de interleucina-6.**

	Placebo		NAC + DFX		P value
	IL-6 baixa n=23	IL-6 alta n=12	IL-6 baixa n=14	IL-6 alta n=26	
IRA KIDGO, n	17	10	9	17	0.78
Severidade KIDGO, n	15	9	5	10	0.19
Mortalidade UTI, n	14	7	9	14	0.54
Mortalidade hospitalar, n	15	8	9	15	0.67

Fonte: elaborada pelo autor.

## 5 DISCUSSÃO

Foi demonstrado neste trabalho que apesar de os níveis plasmáticos de IL-6 serem um biomarcador capaz de prever a resposta ao uso de antioxidantes em modelo animal de sepse, parece que isto não se traduz em benefícios para pacientes criticamente enfermos com hipotensão persistente.

Durante a resposta inflamatória são produzidas citocinas e EAO. O desequilíbrio persistente desta relação se relaciona com piora clínica (Tym et al, 2008; Rello et al, 2017; Bacterman et al, 2017). Um estudo demonstrou que pacientes sépticos com genótipo promotor de polimorfismo IL-6, tipo CC, evoluíram com menor nível de IL6 plasmática e menor taxa de mortalidade num período de 30 dias, em relação aos genótipos GC ou GG (Lorente et al, 2016).

O entendimento da formação de EAO e EAN e a relação com a evolução da doença está impulsionando pesquisas que buscam identificar marcadores de evolução. Esforços são direcionados na tentativa de identificar biomarcadores capazes de discriminar pacientes respondedores. Neste contexto, pesquisadores sugerem a IL-6 como potencial preditor. (Rios-Toro et al, 2017; Bacterman et al, 2017; Dennis et al, 2017).

Os antioxidantes GPx, SOD, CAT e GSH são responsáveis pelo equilíbrio nas reações de oxidação e redução. A GSH, por exemplo, atua como mediadora das vias inflamatória e imune, cofator para várias enzimas, reparo do DNA e como *scavengers* dos vários radicais (Mantzaris et al, 2017). A NAC é um precursor sintético da GSH, podendo potencializar a ação antioxidante (Mantzaris et al, 2017). Modelos de sepse animal estudados, tem apresentado redução do estresse oxidativo após uso associado de DFX e NAC (Ritter et al, 2004). O dano oxidativo foi reduzido com DFX, em modelo de sepse abdominal animal, apresentando redução da mortalidade (Vulcano et al, 2000; Ritter et al, 2006). Do mesmo modo, em animais a associação de DFX e NAC reduziram o estresse oxidativo, sugerindo melhor resposta nas lesões de isquemia e reperfusão renais (Ritter et al, 2004; 2006). Já uso de NAC + DFX pacientes com sepse associado à lesão renal, não reduziu a IL-6, nem a mortalidade (Fraga et al, 2012; Fraga et al, 2016).

A IL-6 tem sido utilizada como biomarcador em pacientes críticos (Barre et al, 2017; Dieplinger et al 2017; Khan et al, 2017; Mao et al 2017; Takahashi et al, 2017). Subgrupos específicos podem se beneficiar com diferentes tratamentos, sendo uma estratégia que deve ser explorada (Singer 2018). Deste modo, demonstramos que a administração precoce

ou tardia de antioxidantes melhorou a sobrevida em animais submetidos a sepse, e que esta resposta é relevante apenas nos ratos com valores maiores de interleucina-6 (IL-6 alta). Este efeito protetor está relacionado com uma redução nos níveis de IL-6 plasmática, mas não com uma redução nos níveis de TBARS e proteínas carboniladas. Entretanto, este fenômeno não se repete em pacientes criticamente enfermos com hipotensão sustentada.

O uso de biomarcadores para determinar a resposta ao tratamento é um conceito relevante, de forma que Remick e cols (2002) demonstraram que camundongos com baixo risco de morte devido à sepse, tinham uma diminuição da sobrevida quando tratados com proteína de ligação à IL-18 (Remick et al 2002). Neste contexto, Osuchowski e cols (2009) demonstraram que uma predição precisa e precoce de sobrevivência poderia permitir a imunossupressão direcionada. Utilizando dexametasona com melhora de sobrevivência em fase tardia, eles propuseram um novo paradigma no tratamento da sepse: a avaliação individualizada do estado/risco imunoinflamatório do paciente seguido de terapia direcionada apenas ao grupo apropriado (Osuchowski et al, 2009). Em dois ensaios clínicos, a imunomodulação com o uso de TNF, não apresentou diminuição significativa da mortalidade (Reinhart et al, 2001; Bernard et al, 2014), mas quando os pacientes foram estratificados por níveis basais de IL-6, foi relatada uma redução global de 3,5% na mortalidade em 28 dias, e uma mortalidade ajustada de 5,8% nos pacientes com níveis elevados de IL-6 (Reinhart et al, 2001; Bernard et al, 2014). Aqui sugerimos que esse conceito deve incluir a busca do biomarcador correto para o tratamento correto, pois parece que não só os marcadores de risco de morte são suficientes para prever a resposta ao tratamento.

Algumas diferenças entre respondedores e não respondedores no modelo animal são apresentadas aqui. Curiosamente, não houve diferenças significativas entre esses dois grupos em parâmetros de danos oxidativos plasmáticos, e apenas uma diferença nos níveis de IL-6. Isto assemelha-se aos achados de Osuchowski e cols (2009) que apresentaram melhora da sobrevida sem supressão dos típicos mediadores pró-inflamatórios, como IL-6 e IL-1ra, sugerindo que as mortes não foram mediadas por inflamação excessiva causada por citocinas. Entretanto, para uma melhor compreensão do papel de antioxidantes na resposta inflamatória da sepse e da possibilidade do uso de biomarcadores para prever resposta ao tratamento mais estudos devem ser realizados. Talvez, o uso de algum marcador relacionado ao estresse oxidativo, e não a resposta inflamatória, possa ser mais específico para prever resposta a

antioxidantes. Assim, este estudo abre a possibilidade de se explorar diferentes alternativas para predição da resposta ao uso de antioxidantes tanto em modelo animal de sepse, quanto em pacientes criticamente enfermos com hipotensão persistente.





## **6 CONCLUSÃO**

A IL-6 é capaz de estratificar animais submetidos a sepse entre respondedores e não respondedores a antioxidantes e permitir a administração tardia dos mesmos. Entretanto, não é capaz em identificar subgrupos de pacientes criticamente enfermos com hipotensão refratária respondedores ou não ao mesmo tratamento.



## REFERÊNCIAS

- Andrades ME, Morina A, Spasic S, Spasojevic I. Bench-To-Bedside Review: Sepsis - From The Redox Point Of View. *Crit Care* 15, 230.2011
- Barichello T, Machado Ra, Constantino L, Valvassori Ss, Réus Gz, Martins MR, Petronilho F, Ritter C, Quevedo J, Dal-Pizzol F. Antioxidant Treatment Prevented Late Memory Impairment In An Animal Model Of Sepsis. *Crit Care Med* 35: 2186-90.2007
- Barre M, Behnes M, Hamed S, Pauly D, Lepiorz D, Lang S, Akin I, Borggreffe M, Bertsch T, Hoffmann U. Revisiting The Prognostic Value Of Monocyte Chemotactic Protein 1 And Interleukin-6 In The Sepsis-3 Era. *J Crit Care* 15; 43:21-28. 2017
- Basile DP, Anderson MD, Sutton TA. Pathophysiology Of Acute Kidney Injury. *Compr. Physiol.* 2, 1303–1353. 2012
- Bateman RM, Sharpe MD, Singer M, Ellis CG. The Effect Of Sepsis On The Erythrocyte. *Int. J. Mol. Sci* 18:1932.2017
- Bellomo R, Kellum Ja, Ronco C, Wald R, Martensson J, Maiden M, Bagshaw Sm, Glassford Nj, Lankadeva Y, Vaara St, Schneider A. Acute Kidney Injury In Sepsis. *Intensive Care Med* 43:816-828.2017
- Bellomo R, Ronco C, Mehta RL, Asfar P, Boisramé-Helms J, Darmon M, Diehl JL, Duranteau J, Hoste EAJ, Olivier JB, Legrand M, Lerolle N, Malbrain MLNG, Mårtensson J, Oudemans-Van Straaten HM, Parienti JJ, Payen D, Perinel S, Peters E, Pickkers P, Rondeau E, Schetz M, Vinsonneau C, Wendon J, Zhang L, Laterre PF. Acute Kidney Injury In The Icu: From Injury To Recovery: Reports From The 5th Paris International Conference. *Ann Intensive Care* 7:49.2017
- Bernard GR, Francois B, Mira JP, Vincent JL, Dellinger RP, Russell JA, Larosa SP, Laterre PF, Levy MM, Dankner W, Schmitt N, Lindemann J, Wittebole X. Evaluating The Efficacy And Safety Of Two Doses Of The Polyclonal Anti-Tumor Necrosis Factor-A Fragment Antibody Azd9773 In Adult Patients With Severe Sepsis And/Or Septic Shock: Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase Iib Study. *Crit Care Med* 42:504-11.2014
- Dennis J, Witting P. Protective Role For Antioxidants In Acute Kidney Disease *Nutrients* 9:718. 2017
- Dieplinger B, Egger M, Leitner I, Firlinger F, Poelz W, Lenz K, Haltmayer M, Mueller T. Interleukin 6, Galectin 3, Growth Differentiation Factor 15, And Soluble St2 For Mortality Prediction In Critically Ill Patients. *J Crit Care* 34:38-45.2016
- Fraga CM, Tomasi CD, Biff D, Topanotti MF, Felisberto F, Vuolo F, Petronilho F, Dal-Pizzol F, Ritter C. The Effects Of N-

Acetylcysteine And Deferoxamine On Plasma Cytokine And Oxidative Damage Parameters In Critically Ill Patients With Prolonged Hypotension: A Randomized Controlled Trial. *J Clin Pharmacol.* 52:1365-72.2012

Fraga Cm, Tomasi Cd, Damasio Dc, Vuolo F, Ritter C, Dal-Pizzol F. N-Acetylcysteine Plus Deferoxamine For Patients With Prolonged Hipotension Does Not Decrease Acute Kidney Injury Incidence: A Double Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Crit Care* 20:331.2016

Gómez H, Jin K, Kellum Ja. The Role Of Energy Regulation In The Tubular Epithelial Cell Response To Sepsis. *Nephron.*131:255-8.2015

Hernando Gómez H, Kellum Ja. Sepsis-Induced Acute Kidney Injury. *Curr Opin Crit Care* 22:546–553.2016

Khan F, Owens Mb, Restrepo M, Pova P, Martin-Loeches I. Tools For Outcome Prediction In Patients With Community Acquired Pneumonia. *Expert Rev Clin Pharmacol* 10:201-211.2017

Khawaja A. Kdigo Clinical Practice Guidelines For Acute Kidney Injury. *Nephron Clin Pract* 120:C179-84. 2012

Léger T, Charrier A, Moreau C, Hininger-Favier I, Mourmoura E, Rigaudière Jp, Pitois E, Bouvier D, Sapin V, Pereira B, Azarnoush K, Demaison L. Early Sepsis Does Not Stimulate Reactive Oxygen Species Production And Does Not Reduce Cardiac Function Despite An Increased Inflammation Status. *Physiol Rep* 5.2017

Lorente L, Martín Mm, Pérez-Cejas A, Barrios Y, Solé-Violán J, Ferreres J, Labarta L, Díaz C, Jiménez A. Association Between Interleukin-6 Promoter Polymorphism (-174 G/C), Seruminterleukin-6 Levels And Mortality In Severe Septic Patients. *Int J Mol Sci* 17.2016

Li J-X, Jin E-Z, Yu L-H, Li Y, Liu N-N, Dong Y-M, Li X And Li X-Q. Oral N- Acetylcysteine For Prophylaxis Of Contrast- Induced Nephropathy In Patients Following Coronary Angioplasty: A Meta-Analysis. *Exp Ther Med* 14:1568-1576.2017

Mantzarlis K, Tsolaki V, Zakynthinos E. Role Of Oxidative Stress And Mitochondrial Dysfunction In Sepsis And Potential Therapies. *Oxid Med Cell Longev* 2017:5985209.2017

Mao ZR, Zhang SL, Feng B. Association Of Il-10 (-819t/C, -592a/C And -1082a/G) And Il-6 -174g/C Gene Polymorphism And The Risk Of Pneumonia-Induced Sepsis. *Biomarkers* 22:106-112.2017

Mervyn S, Clifford S D, Christopher W S, Manu S, Djillali A, Michael B, Rinaldo B, Gordon RB, Jean-Daniel C, Craig M, Crichard SH, Mitchell ML, John CM, Greg SM, Steven Mo, Gordon D R, Tom V D

- P, Jean-Louis V, Derek C A. The Third International Consensus Definitions For Sepsis And Septic Shock (Sepsis-3). *Jama* 315:801-810.2016
- Osuchowski MF, Connett J, Welch K. Stratification Is The Key: Inflammatory Biomarkers Accurately Direct Immunomodulatory Therapy In Experimental Sepsis. *Crit Care Med* 37:1567-73.2009
- Pickkers P, Ostermann M, Joannidis M, Zarbock A, Hoste E, Bellomo R, Prowle J, Darmon M, Bonventre JV, Forni L, Bagshaw Sm, Schetz M. The Intensive Care Medicine Agenda On Acute Kidney Injury. *Intensive Care Med* 43:1198-1209.2017
- Ratliff BB, Abdulmahdi W, Pawar R, Wolin MS. Oxidant Mechanisms In Renal Injury And Disease. *Antioxid. Redox Signal* 25:119-146.2016
- Rello J, Valenzuela-Sánchez F, Ruiz-Rodriguez M, Moyano S. Sepsis: A Review Of Advances In Management. *Adv Ther* 34:2393-2411.2017
- Remick D, Bolgos GR, Siddiqui J. Six At Six: Interleukin-6 Measured 6h After The Initiation Of Sepsis Predicts Mortality Over 3 Days. *Shock* 17:463-467.2002
- Reinhart K, Menges T, Gardlund B, Harm Zwaveling J, Smithes M, Vincent JL, Tellado JM, Salgado-Remigio A, Zimlichman R, Withington S, Tschakowsky K, Brase R, Damas P, Kupper H, Kempeni J, Eiselstein J, Kaul M. Randomized, Placebo-Controlled Trial Of The Anti-Tumor Necrosis Factor Antibody Fragment Afelimomab In Hyperinflammatory Response During Severe Sepsis: The Ramses Study. *Crit Care Med* 29:765-9.2001
- Ríos-Toro JJ, Márquez-Coello M, García-Alvarez JM, Martín-Aspas A, Rivera-Fernández R, Sáez De Benito A. Soluble Membrane Receptors, Interleukin-6, Procalcitonin And C Reactive Protein As Prognostic Markers In Patients With Severe Sepsis And Septic Shock. *Plos One* 12:E0175254.2017
- Ritter C, Andrades M, Frota Júnior ML, Bonatto F, Pinho Ra, Polydoro M, Klamt F, Pinheiro CT, Menna-Barreto SS, Moreira JC, Dal-Pizzol, F. Oxidative Parameters And Mortality In Sepsis Induced By Cecal Ligation And Perforation. *Intensive Care Med* 29:1782-1789.2003
- Ritter C, Andrades Me, Reinke A. Treatment With N-Acetylcysteine Plus Deferoxamine Protects Rats Against Oxidative Stress And Improves Survival In Sepsis. *Crit Care Med* 32:342-349.2004
- Ritter C, Cunha AA, Echer Ic, Andrades M, Reinke A, Lucchiari N, Rocha J, Streck EL, Barreto Sm, Moreira JCF, Dal Pizzol F. Effects Of N-Acetylcysteine Plus Deferoxamine In Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury In The Rat. *Critical Care Medicine* 34:471-477.2006
- Ronco C, Rizo-Topete L, Serrano-Soto M, Kashani K. Pro: Prevention Of

- Acute Kidney Injury: Time For Teamwork And New Biomarkers. *Nephrol Dial Transplant* 32:408-413.2017
- Singer M. Personalizing Sepsis Care. *Crit Care Clin* 34:153-160.2018
- Singer M, Deutschman Cs, Seymour Cw. The Third International Consensus Definitions For Sepsis And Septic Shock (Sepsis-3). *Jama* 315:801.2016
- Takahashi W, Nakada TA, Yazaki M, Oda S. Interleukin-6 Levels Act As A Diagnostic Marker For Infection And A Prognostic Marker In Patients With Organ Dysfunction In Intensive Care Units *Shock* 46:254-60.2016
- Tymk K, Li F, Wilson JX. Septic Impairment Of Capillary Blood Flow Requires Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase But Not Nitric Oxide Synthase And Is Rapidly Reversed By Ascorbate Through An Endothelial Nitric Oxide Synthase-Dependent Mechanism. *Crit Care Med* 36, 2355–2362.2008
- Vulcano M, Meiss RP, Isturiz MA. Deferoxamine Reduces Tissue Injury And Lethality In Lps-Treated Mice. *International Journal Of Immunopharmacology* 22:635-644.2000
- Wang S, Liu C, Pan S, Miao Q, Xue J, Xun J, Zhang Y, Gao Y, Duan X, Fan Y. Deferoxamine Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Responses And Protects Against Endotoxic Shock In Mice. *Biochem Biophys Res Commun* 18;465:305-11.2015
- Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis And Septic Shock – A Review Of Laboratory Models And A Proposal. *J Surg Res* 29:189-201.1980
- Winterbourn CC, Gutteridge JM, Halliwell B. Doxorubicin-Dependent Lipid Peroxidation At Low Partial Pressures Of O<sub>2</sub>. *Journal Of Free Radicals Biology And Medicine* 1:43-49.1985
- Xu R, Tao A, Bai Y, Deng Y, Chen G. Effectiveness Of N-Acetylcysteine For The Prevention Of Contrast-Induced Nephropathy: A Systematic Review And Meta-Analysis Of Randomized Controlled Trials. *J Am Heart Assoc* 5:E003968.2016
- Zapellini PH, Rezin GT, Cardoso MR, Ritter C, Klamt F, Moreira Jc, Streck El, Dal-Pizzol F. Antioxidant Treatment Reverses Mitochondrial Dysfunction In A Sepsis Animal Model. *Mitochondrion* 8:211-8.2008
- zarbock A, Gomez H, Kellum Ja. Sepsis-Induced Aki Revisited: Pathophysiology, Prevention And Future Therapies. *Curr Opin Crit Care* 20:588–595.2014

## APÊNDICES

## APÊNDICE A – ESCORE KDIGO

<b>Ref.: KDIGO, KI 2012 (RIFLE)</b>	<b>Critério: Creatinina</b>	<b>Critério: Débito Urinário</b>
Risco ou Estágio 1	$\geq 0,3 \text{ mg/dL} < 48\text{h,}$ ou $\geq 150\% \text{ e } < 200 < 7\text{d}$	DU < 0,5ml/Kg/h, por 6h
Injúria ou Estágio 2	$\geq 200\%$ ou $< 300 < 7\text{d}$	DU < 0,5ml/Kg/h, por 12h
Falência ou Estágio 3	$\geq 300\%$ ou $\geq 4,0 \text{ mg/dL} < 7\text{d}$	DU < 0,3ml/Kg/h, por 24h ou anúria por 12h
<b>Terapia de Reposição Renal</b>		



## APÊNDICE B – FICHA DE COLETA DE DADOS

Ensaio clínico randomizado, duplo cego contra placebo para determinar eficácia do uso de N-acetilcisteína e deferoxamina no tratamento de pacientes criticamente enfermos com hipotensão

### 1 – IDENTIFICAÇÃO E DADOS DEMOGRÁFICOS

Iniciais: |...||...||...||...| Registro hospitalar:

|...||...||...||...||...||...||...||...||...||...||...||...|

Idade: |...||...||...| anos Sexo: | M | | F | Peso: |...||...||...| kg Altura: |...||...||...|cm

Data Internação: Hospitalar: |...||...| / |...||...| / |...||...|

Na UTI: |...||...| / |...||...| / |...||...|

### 2– COMORBIDADES

Insuficiência renal crônica |sim||não| creatinina inicial.....

Insuficiência cardíaca |sim||não|

DM |sim||não| HAS |sim||não|

OUTRAS: \_\_\_\_\_

### 3 – INTERNAÇÃO NA UTI

**Tipo:** | 1 | Médica | 2 | Cirurgia eletiva | 3 | Cirurgia de urgência / emergência

**Origem:** | 1 | Enfermaria/quarto | 2 | Emergência | 3 | Centro Cirúrgico | 4 | Outra

**Motivo da Internação:** | 1 | Monitoração pós-operatório | 2 | Sepses  
| 3 | Insuficiência respiratória (exceto sepses) | 4 | Choque (exceto sepses)  
| 5 | Neurológico | 6 | Renal / metabólico | 7 | Pós PCR | 8 | Cardiovascular  
| 9 | Hepático | 10 | Hematológica | 11 | Digestivo | 11 | Trauma | 12 | Outras

**Escreva o diagnóstico da internação:**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

### 4 - TEMPO HIPOTENSÃO .....h.....min

#### CAUSA DA HIPOTENSÃO

| 1 | hipovolemia | 2 | hemorragia | 3 | sepses | 4 | medicações | 5 | outras

**TEMPO ENTRE HIPOTENSÃO E INÍCIO DA INFUSÃO DAS DROGAS.....h .....mi**

## 5 - APACHE II VALOR a+b+c= \_\_\_\_\_

a) Variáveis fisiológicas	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Temperatura retal	>41	39 – 40,9		38,5-8,9	36-38,4	34-35,9	32-33,9	30-31,9	<29,9
PAM	>160	130- 159	110-129		70- 109		50- 69		<49
FC	>180	140- 179	110- 139		70- 109		55- 69	40- 54	< 39
FR	>50	35- 49		25- 34	12- 24	10- 11	6- 9		<5
Oxigenação Fio2>0,5 Fio2 < 0,5	>500	350- 499	200- 349		<200 >70	61- 70		55- 60	<55
Ph	>7,7	7,6- 7,69		7,5- 7,59	7,33-7,49		7,25- 7,32	7,15- 7,24	<7,15
Na	>180	160- 179	155- 159	150- 154	130-149		120- 129	111- 119	<110
K	>7	6- 6,9		5,5- 5,9	3,5- 5,4	3- 3,4	2,5- 2,9		<2,5
Creatinina x2 se IRA	>3,5	2- 3,4	1,5- 1,9		0,6- 1,4		<0,6		
Ht	>60		50- 59,9	46- 49,9	30-45,9		20-29,9		<20
Globulos brancos/(mm 3)	>40		20- 39,9	15- 19,9	3- 14,9		1- 2,9		<1
Glasgow	15- valor	observado							

### b) Pontuação para idade

<44	0
45 – 54	2
55 – 64	3
65 – 74	5
>75	6

### c) Pontuação para doença crônica se o paciente possui insuficiência orgânica ou imunossuprimido

- A) Para não cirúrgico ou pós-op de cirurgia de urgência – 5 pontos
- B) Para pós-op de cirurgia eletiva – 2 pontos



## 7. ANOTE OS VALORES DA CREATININA E VOLUME

	Creatinina mg/dl	Diurese 6 – 12	Diurese 12– 18	Diurese 18 – 24	Diurese 24 – 6
D1					
D2					
D3					
D4					
D5					
D6					
D7					
D8					
D9					
D10					

## 8. Anote os valores do KDIGO (RIFLE)

D1 R | 1 | F| 2 | L| 3 | E| 4|                      D2 R | 1 | F| 2 | L| 3 | E| 4|

D3 R | 1 | F| 2 | L| 3 | E| 4|                      D4 R | 1 | F| 2 | L| 3 | E| 4|

D5 R | 1 | F| 2 | L| 3 | E| 4|                      D6 R | 1 | F| 2 | L| 3 | E| 4|

D7 R | 1 | F| 2 | L| 3 | E| 4|                      D8 R | 1 | F| 2 | L| 3 | E| 4|

D9 R | 1 | F| 2 | L| 3 | E| 4|                      D10 R | 1 | F| 2 | L| 3 | E| 4|

## 9 – Evolução no CTI e no Hospital

Saída do CTI: Óbito: |sim|não| Alta: |sim|não| Data: : |...|...| / |...|...| / |...|...|

TEMPO INTERNAÇÃO UTI \_\_\_\_\_ dias Saída do Hospital: Óbito: |sim|não| Alta: |sim|não|

Data: : |...|...| / |...|...| / |...|...| TEMPO INTERNAÇÃO HOSPITAL \_\_\_\_\_ dias

Houve decisão para a limitação da terapêutica? |sim|não|

Data: : |...|...| / |...|...| / |...|...| Necessidade de TRS: |sim|não| Número de sessões \_\_\_\_\_ **Creatinina final:** \_\_\_\_\_ mg/dL

## APÊNDICE C – TERMOS DE CONSENTIMENTOS

### TERMO CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA O PACIENTE

#### *Anexo 1 – Termo de Consentimento Pós-Infirmação (modelo 1 – para paciente)*

#### **Estudo – Incidência de IRA com uso de NAC e DFX em pacientes hipotensos na UTI**

#### **Responsáveis: Dra Cassiana Mazon Fraga, Dra Cristiane Ritter, Dr Felipe Dal Pizzol– Serviço de Medicina Intensiva**

Esta sendo realizado no Serviço de Medicina Intensiva do Hospital São José um estudo para verificar a incidência de Insuficiência Renal Aguda e a produção de radicais livres em pacientes com doenças graves que fazem hipotensão arterial (queda da pressão), e tentar controlar isso com o uso de duas medicações antioxidantes (contra radicais livres) que são a N-acetilcisteína (NAC) e a Deferoxamina (DFX).

A Insuficiência Renal Aguda ocorre com muita frequência nesses pacientes e a produção de radicais livres também aumenta muito durante estas situações, podendo causar mais lesão em todos os outros órgãos do organismo.

O objetivo deste trabalho experimental é determinar se o uso destes antioxidantes diminui a produção de radicais livres e a incidência de insuficiência renal aguda.

A NAC é usada frequentemente para tratar pacientes que apresentam infecções pulmonares para diminuir a quantidade de secreção que é produzida nos pulmões e também vem sendo muito usada para prevenir a insuficiência renal aguda nos pacientes que fazem exames que utilizam contraste como tomografias e cateterismos cardíacos. É uma medicação bastante segura que apresenta raríssimos efeitos colaterais.

A DFX é usada principalmente em pacientes que apresentam doenças onde a quantidade de ferro no organismo encontra – se em excesso, como em alguns tipos de anemia. Apresenta alguns efeitos colaterais como reações alérgicas que são raras e lesões em outros órgãos como pulmão, fígado e cérebro que são mais raras ainda.

Para participar deste estudo o paciente receberá NAC na dose de 50mg/Kg por 4h seguido de 100mg/Kg/dia por 2 dias e DFX numa dose única de 1g, numa velocidade de infusão de 15mg/kg/h, ambos diluídos em soro glicosado a 5%. Não será necessária coleta de sangue extra do paciente para a dosagem destas substâncias, pois será usado o sangue que sobra das coletas feitas diariamente como rotina na UTI.

Mesmo que o (a) senhor (a) decida não participar do estudo sobre incidência de insuficiência renal e formação de radicais livres após o uso de NAC e DFX, não haverá nenhum prejuízo no seu atendimento no hospital.

Declaro ter lido as informações sobre o estudo acima. Concordo em participar do estudo e em coletar sangue para medir os radicais livres.

Estou de acordo que os resultados do estudo sejam publicados de forma anônima numa revista científica.

Criciúma, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

Paciente \_\_\_\_\_

Responsável pelo paciente \_\_\_\_\_

## **TERMO CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA O FAMILIAR**

### ***Anexo 1 – Termo de Consentimento Pós-Informação (modelo 1 – para paciente)***

#### **Estudo – Incidência de IRA com uso de NAC e DFX em pacientes hipotensos na UTI**

#### **Responsáveis: Dra Cassiana Mazon Fraga, Dra Cristiane Ritter, Dr Felipe Dal Pizzol– Serviço de Medicina Intensiva**

Esta sendo realizado no Serviço de Medicina Intensiva do Hospital São José um estudo para verificar a incidência de Insuficiência Renal Aguda e a produção de radicais livres em pacientes com doenças graves que fazem hipotensão arterial (queda da pressão), e tentar controlar isso com o uso de duas medicações antioxidantes (contra radicais livres) que são a N-acetilcisteína (NAC) e a Deferoxamina (DFX).

A Insuficiência Renal Aguda ocorre com muita frequência nesses pacientes e a produção de radicais livres também aumenta muito durante estas situações, podendo causar mais lesão em todos os outros órgãos do organismo.

O objetivo deste trabalho experimental é determinar se o uso destes antioxidantes diminui a produção de radicais livres e a incidência de insuficiência renal aguda.

A NAC é usada frequentemente para tratar pacientes que apresentam infecções pulmonares para diminuir a quantidade de secreção que é produzida nos pulmões e também vem sendo muito usada para prevenir a

insuficiência renal aguda nos pacientes que fazem exames que utilizam contraste como tomografias e cateterismos cardíacos. É uma medicação bastante segura que apresenta raríssimos efeitos colaterais.

A DFX é usada principalmente em pacientes que apresentam doenças onde a quantidade de ferro no organismo encontra – se em excesso, como em alguns tipos de anemia. Apresenta alguns efeitos colaterais como reações alérgicas que são raras e lesões em outros órgãos como pulmão, fígado e cérebro que são mais raras ainda.

Para participar deste estudo o paciente receberá NAC na dose de 50mg/Kg por 4h seguido de 100mg/Kg/dia por 2 dias e DFX numa dose única de 1g, numa velocidade de infusão de 15mg/kg/h, ambos diluídos em soro glicosado a 5% . Não será necessária coleta de sangue extra do paciente para a dosagem destas substancias, pois será usado o sangue que sobra das coletas feitas diariamente como rotina na UTI.

Mesmo que o (a) senhor (a) decida não autorizar a participação de seu familiar no estudo sobre incidência de insuficiência renal e formação de radicais livres após o uso de NAC e DFX, não haverá nenhum prejuízo no atendimento de seu familiar no hospital.

Declaro ter lido e compreendido as informações sobre o estudo acima.  
Como \_\_\_\_\_ responsável \_\_\_\_\_ autorizo \_\_\_\_\_ meu  
familiar \_\_\_\_\_

\_\_\_ a participar deste estudo e a coletar sangue para medir os radicais livres.

Estou de acordo que os resultados do estudo sejam publicados de forma anônima numa revista científica.

Criciúma, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

Responsável pelo paciente \_\_\_\_\_

## APÊNDICE D - COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA

Modificar Afficher Historique Favoris Personnes Fenêtre Aide  
 SISNEP - Sistema Nacional de X  
 Non sécurisé | portal2.saude.gov.br/sisnep/pesquisador/

Andamento do projeto - CAAE - 0021.0.379.139-08

**Título do Projeto de Pesquisa**

Ensaio clínico randomizado, duplo cego contra placebo para determinar eficácia do uso de N-acetilcisteína e deferroxamina no tratamento de pacientes crificamente enfermos com hipertensão

Situação	Data Inicial no CEP	Data Final no CEP	Data Inicial na CONEP	Data Final na CONEP
Aprovado no CEP	30/07/2008 11:58:32	15/08/2008 14:29:55		

Descrição	Data	Documento	Nº do Doc	Origem
2 - Recebimento de Protocolo pelo CEP (Check-List)	30/07/2008 11:58:32	Folha de Rosto	0021.0.379.139-08	CEP
1 - Envio da Folha de Rosto pela Internet	23/07/2008 15:12:20	Folha de Rosto	FRZ08621	Pesquisador
3 - Protocolo Aprovado no CEP	15/08/2008 14:29:55	Folha de Rosto	208621	CEP

[Voltar](#)



# APÊNDICE E – REGISTRO NO CLINICAL TRIALS

## N-acetylcysteine Plus Deferoxamine for Patients With Hypotension

ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00870883

The safety and scientific validity of this study is the responsibility of the study sponsor and investigators.

**⚠** Listing a study does not mean it has been evaluated by the U.S. Federal Government. Read our [disclaimer](#) for details.

[Recruitment Status](#)  : Completed  
[First Posted](#)  : March 27, 2009  
[Last Update Posted](#)  : May 28, 2015

**Sponsor:**

Universidade do Extremo Sul Catarinense - Unidade Academica de Ciecias da Saude

**Collaborator:**

Conselho Nacional de Desenvolvimento Cientifico e Tecnológico

**Information provided by (Responsible Party):**

Felipe Dal Pizzol, Universidade do Extremo Sul Catarinense - Unidade Academica de Ciecias da Saude

[Study Details](#)

[Tabular View](#)

[No Results Posted](#)

[Disclaimer](#)

[How to Read a Study Record](#)

### Study Description

Go to 

Brief Summary:

