

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas

Dissertação de Mestrado

A Proteína 1 Relacionada a Uteroglobulina está Associada a Gravidade  
da Injúria Inalatória

SABRINA FRIGHETTO HENRICH

Porto Alegre

2015

A PROTEÍNA 1 RELACIONADA A UTEROGLOBULINA ESTÁ  
ASSOCIADA A GRAVIDADE DA INJÚRIA INALATÓRIA

Dissertação de  
Mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-  
graduação em Ciências  
Pneumológicas para  
obtenção de título de  
Mestre.

Orientador: Prof. Gilberto Friedman

Porto Alegre

2015

## **CIP – Catalogação na Publicação**

Henrich, Sabrina Frighetto

Associação da Proteína 1 Relacionada a Uteroglobulina a Gravidade da Injúria Inalatória/ Sabrina Frighetto Henrich, Gilberto Friedman, 2015.

Total de folhas: 39.

Orientador: Gilberto Friedman.

Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Programa de Pós-graduação em Ciências Pneumológicas, Porto Alegre, 2015.

1. Injúria Inalatória 2. Proteína 1 Relacionada a Uteroglobulina I.  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Marcos Antônio Henrich e Silvana Frighetto Henrich, que são o meu porto seguro, que sempre estiveram ao meu lado apoiando minhas escolhas.

Ao meu amor, Marcelo Manzato, que participou de todos os momentos da construção deste trabalho, passando por momentos difíceis com compreensão.

Aos meus tios, tias, primos e primas, amigos e amigas, que compreenderam o meu abdicar de alguns encontros para que este trabalho fosse concluído.

As colegas e amigas Cristine Pilati e Jussara Gomez, que mesmo quando fazer terapia intensiva ainda era uma idéia a ser explorada, acreditaram e confiaram nos meus planos e desde então passaram a ser as grandes idealizadoras do que hoje acredito ser a minha vida: ser intensivista.

Aos meus colegas da UTI, que mesmo nos meus dias de maior agitação e loucura (acho que este é o termo correto) conseguiram entender o motivo e colaboraram para que este trabalho chegasse ao fim.

Ao Prof. Dr. Gilberto Friedman que me acolheu, compreendendo minhas dificuldades, sempre me apoiando e estimulando.

A Dra Tatiana Helena Rech que foi o ponto-chave e a maior incentivadora e participante deste projeto.

Ao Dr Rafael Barberena de Moraes pela ajuda quase que diária quando este trabalho ainda nem estava no papel.

Ao Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol, pela grande ajuda e participação neste trabalho.

## Resumo

### **Proteína 1 Relacionada a Uteroglobulina e Severidade da Injúria Inalatória**

**INTRODUÇÃO:** A mortalidade das vítimas de queimaduras tem diminuído nos últimos anos e a lesão inalatória tornou-se a principal causa de morte. As consequências da inalação por fumaça resultam de uma resposta inflamatória que envolve vários mediadores. A proteína 1 relacionada a uteroglobulina (UGRP1) é uma secretoglobulina antinflamatória específica do pulmão que pode desempenhar um papel na inflamação pulmonar.

**OBJETIVO:** Investigar se a expressão precoce da UGRP1 na inalação de fumaça está relacionada com a severidade da injúria inalatória.

**MÉTODOS:** Nós estudamos 16 pacientes críticos vítimas de queimaduras. Todos os pacientes foram mecanicamente ventilados por Síndrome da Angústia Respiratória do Adulto (SARA) secundária a injúria por inalação de fumaça. Uma amostra de sangue foi coletada entre a admissão a UTI até 24h após a injúria inalatória. O grau da injúria por inalação foi avaliado em todos os pacientes.

**RESULTADOS:** A média de idade dos pacientes foi de  $23\pm 5$  anos, com injúria inalatória: graus 1 (n=3), 2 (n=4) e 3 (n=9). Níveis de UGRP1 foram significativamente relacionados a severidade da injúria (Grau 1  $0.389\pm 0.053$  DO/mL vs. grau 2  $0.474\pm 0.0423$  DO/mL vs grau 3  $0.580\pm 0.094$  DO/mL,  $p=0.007$ ).

**CONCLUSÕES:** Níveis aumentados de UGRP1 no plasma humano após lesão inalatória em pacientes queimados estão associados com a severidade da injúria pulmonar.

## Summary

### Uteroglobulin-related Protein 1 and Severity of Inhalation Injury

**INTRODUCTION:** The mortality of burn victims has decreased in recent years and the inhalation injury has become the leading cause of death. The consequences of smoke inhalation result from an inflammatory response involving several mediators. Uteroglobulin-related protein 1 (UGRP1) is a lung-specific anti-inflammatory secretoglobulin that may play a role in lung inflammation.

**AIM:** To investigate if UGRP1 expression early after smoke inhalation relates to the severity of inhalation injury.

**METHODS:** We studied 16 critically ill burn victims. All patients were mechanically ventilated with Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) secondary to smoke inhalation injury. A blood sample was collected at ICU admission within 24 hours after the inhalation injury. The grade of inhalation injury was evaluated in all patients.

**RESULTS:** Mean age was  $23\pm 5$  years, with inhalation injury: grades 1 (n=3), 2 (n=4), and 3 (n=9). UGRP1 levels were significantly related to the severity of inhalation (Grade 1  $0.389\pm 0.053$  OD/mL vs. grade 2  $0.474\pm 0.0423$  OD/mL vs grade 3  $0.580\pm 0.094$  OD/mL,  $p=0.007$ ).

**CONCLUSIONS:** UGRP1 levels in human blood plasma increases after inhalation injury in burn patients and are associated with the severity of inhalation injury.

## **LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1.** Características dos Pacientes

**Tabela 2.** Análises Laboratoriais

**Table 1.** Patients's Characteristics

**Table 2.** Laboratorial Analyses

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Concentração sérica da Proteína 1 relacionada a Uteroglobulina (UGRP1) (densidade óptica/mL) está relacionada a severidade da injúria por inalação

**Figure 1.** Uteroglobin-related protein 1 (UGRP1) serum concentrations (optical density/mL) are related to the inhalation injury severity

## LISTA DE ABREVIATURAS

UTI = Unidade de Terapia Intensiva  
UGRP1 = Proteína 1 Relacionada a Uteroglobulina  
SOFA = Escore de Falência Orgânica  
HCPA = Hospital de Clínicas de Porto Alegre  
IOT = Intubação Orotraqueal  
PaO<sub>2</sub> = Pressão Arterial Parcial de Oxigênio  
FiO<sub>2</sub> = Fração Inspirada de O<sub>2</sub>  
SARA = Síndrome da Angústia Respiratória do Adulto  
SCGB3A2 = Secretoglobulina 3A2  
CCSP = Proteína Produtora de Célula Clara  
AIS = Abbreviated Injury Score  
CSF = Fator Estimulador de Crescimento  
ADRB2 = Receptor B2-Adrenérgico  
PCR = Proteína C Reativa  
IL-5 = Interleucina 5  
IL-9 = Interleucina 9  
IL-10 = Interleucina 10  
ACTH = Hormônio Adrenocorticotrófico  
TSH = Hormônio Estimulante da Tireóide  
EAI = Escore Abreviado de Injúria  
VILI = Injúria Pulmonar Induzida pela Ventilação  
ICU = Intensive Care Medicine  
PaO<sub>2</sub> = Arterial Oxygen Partial Pressure  
FiO<sub>2</sub> = Fractional Inspired Oxygen  
ARDS = Acute Respiratory Distress Syndrome  
SCGB3A2 = Secretoglobulin 3A2  
CCSP = Clara-Cell Specific Protein  
CSF = Colony-stimulating Factor  
ADRB2 = B2-Adrenergic Receptor  
IL-5 = Interleukin 5

IL-9 = Interleukin 9

IL-10 = Interleukin 10

ACTH = Adrenocorticotrophic Hormone

CRP = C-Reactive Protein

TSH = Thyroid-stimulating Hormone

ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

UGRP1 = Uteroglobulin-related Protein 1

SOFA = Sequential Organ Failure Assessment Score

VILI = Ventilator Induced Lung Injury

## SUMÁRIO

1. Introdução	12
2. Revisão Bibliográfica	14
2.1. A Injúria Inalatória	14
2.2. Fisiopatologia da Injúria Inalatória	15
2.2.1. Injúria Inalatória na Via Aérea Superior	16
2.2.2. Lesão Química da Via Aérea Inferior	17
2.3. A Importância Prognóstica da Injúria Inalatória	18
2.4. Diagnóstico da Injúria Inalatória	19
2.5. Tratamento da Lesão Inalatória	20
2.6. A Proteína 1 Relacionada a Uteroglobulina	21
3. Justificativa	24
4. Objetivos	25
4.1. Objetivo Geral	25
4.2. Objetivos Específicos	25
5. Artigo em Português	26
6. Artigo em Inglês	36
7. Conclusões	45
8. Considerações finais	46
9. Referências bibliográficas	47
10. Anexos	50
10.1. Ficha de Coleta de Dados Gerais	50

## 1. INTRODUÇÃO:

As queimaduras são um grande problema de saúde pública global. Estima-se que mais de 300 mil pessoas morram a cada ano em todo o mundo vítimas de queimaduras. A maioria dos acidentes é doméstico ou em locais de trabalho e envolvem principalmente homens e crianças. Com os avanços obtidos nos cuidados de pacientes grande queimados, a mortalidade diminuiu nos últimos anos e a injúria por inalação tornou-se a principal causa de morte nesses pacientes. A mortalidade associada a inalação de fumaça pode ser baixa (0-11%), mas quando combinada a queimaduras cutâneas pode chegar a 90% (1).

A quantificação dos produtos tóxicos da fumaça inalada em ambiente fechado é de difícil precisão, uma vez que a composição dos ambientes pode ser muito complexa. Porém, o monóxido de carbono e o cianeto são tóxicos comuns em muitos casos de inalação de fumaça (2).

A fisiopatologia da injúria por inalação tem 4 mecanismos: a lesão térmica direta, a inalação de gás hipóxico, as toxinas locais e as toxinas sistêmicas. A lesão térmica direta relaciona-se as altas temperaturas da fumaça inalada e se caracteriza por edema, eritema e úlceras na mucosa, usualmente acima da laringe. Durante a combustão, as concentrações de oxigênio da atmosfera caem progressivamente e o fogo costuma extinguir-se quando a concentração de oxigênio cai abaixo de 13%. O ar inalado pobre em oxigênio causa confusão mental e dispnéia. Substâncias tóxicas presentes na fumaça, como formaldeído, dióxido sulfúrico e dióxido de nitrogênio, causam lesão direta da mucosa, com extenso processo inflamatório da via aérea (3). Entre as toxinas sistêmicas, o monóxido de carbono e o cianeto são os gases de maior importância, devido a sua alta letalidade. O cianeto bloqueia a enzima citocromooxidase, impedindo a mitocôndria de utilizar oxigênio e causando a chamada hipóxia histotóxica (2).

O diagnóstico da injúria inalatória pode ser suspeito se o paciente estiver em ambiente fechado, com exposição a fumaça, geralmente com queimadura de face, estridor e rouquidão frequentes, queimaduras das vibrissas nasais e

lacrimejamento, escarro carbonáceo e sintomas respiratórios (tosse, hipersecreção brônquica e dispnéia). O diagnóstico pode ser confirmado por radiografia de tórax, gasometria arterial, fibrobroncoscopia e/ou cintilografia pulmonar. A fibrobroncoscopia é o exame diagnóstico de maior utilidade na admissão desses pacientes, porque, além do diagnóstico da lesão inalatória, pode classificar a gravidade da lesão e auxiliar no toailete brônquico (2). Infelizmente, a fibrobroncoscopia é uma estratégia de diagnóstico consistente, pouco disponível, mas amplamente favorável ao diagnóstico (4).

O grau da lesão inalatória está associado a maior incidência de pneumonia associada à ventilação mecânica, a maior tempo de ventilação mecânica e de internação na UTI e a maior necessidade de traqueostomia. Além disso, níveis mais elevados de citocinas inflamatórias no lavado broncoalveolar desses pacientes associam-se com maior gravidade da lesão inalatória e ao desenvolvimento de lesão pulmonar aguda (3).

Muitas das consequências da inalação de fumaça são resultado de uma resposta inflamatória envolvendo mediadores cujo número e função ainda permanecem incompreendidos, apesar de melhores instrumentos no processamento do material clínico. Melhorias em relação a mortalidade da lesão inalatória são na sua maioria devido a melhorias generalizadas dos cuidados intensivos, em vez de intervenções voltadas para a inalação da fumaça (5).

Entender a interação entre estes mediadores em face a doença crítica continua sendo dependente de investigações clínicas e laboratoriais. Em pacientes queimados com inalação de fumaça a resposta inflamatória pulmonar é reforçada com piores graus de lesão por inalação e aqueles que morrem de lesões têm uma capacidade de resposta imunológica pulmonar reprimida em comparação aos sobreviventes (6). Métodos não-invasivos para avaliar a resposta inflamatória das vias aéreas, que é primordial para a patogênese de diversas patologias, foram desenvolvidos na última década, com a esperança de monitorar com segurança e precisão o progresso do paciente e a resposta ao tratamento (7).

A proteína 1 relacionada a Uteroglobulina (UGRP1), uma pequena proteína pertencente à família da secretoglobulina foi avaliada em vários

estudos. UGRP1 é uma proteína específica do pulmão, rica em proteínas normais 2 ou secretoglobulinas 3A2. A UGRP1 tem sido sugerida para desempenhar um papel na inflamação do pulmão, principalmente em doenças alérgicas (7,4). Também foi demonstrada como uma importante pneumoproteína com potencial diagnóstico sendo considerada um biomarcador de danos pulmonares.

Na madrugada do dia 27 de janeiro de 2013, uma chama alastrou-se pelo material de isolamento acústico de uma casa noturna superlotada na cidade de Santa Maria, no sul do Brasil. O incêndio matou 234 pessoas no local e feriu gravemente outras 143, tornando-se o maior desastre do país nos últimos 50 anos.

A inalação de fumaça em ambiente fechado foi a grande responsável pelas mortes que ocorreram no local do incêndio em Santa Maria. Dos sobreviventes, 88 foram admitidos em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) com injúria inalatória com percentuais variados de superfície corporal queimada. Em um período de 24 horas a UTI do Hospital de Clínicas de Porto Alegre recebeu 16 pacientes vítimas do desastre apresentando queimaduras cutâneas de graus variados e, principalmente, injúria inalatória.

Portanto, este estudo investiga a expressão da UGRP1 no plasma dos pacientes logo após a queimadura e inalação de fumaça, com o objetivo de correlacionar esta secretoglobulina com a gravidade da lesão inalatória.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA:**

### **2.1. A Injúria Inalatória:**

A lesão inalatória é o resultado do processo inflamatório das vias aéreas após a inalação de produtos incompletos da combustão e é a principal responsável pela mortalidade (até 77%) dos pacientes vítimas de queimaduras (8,9). Cerca de 33% dos pacientes com queimaduras extensas apresentam lesão inalatória e o risco aumenta progressivamente com o aumento da superfície corporal queimada. A presença de lesão inalatória, per se, aumenta em 20% a mortalidade associada a extensão da queimadura (10). Nos últimos anos houve um crescente entendimento dos mecanismos fisiopatológicos

relacionados a lesão inalatória, o que vem permitindo abordagens cada vez mais particularizadas.

## **2.2. Fisiopatologia da Injúria Inalatória:**

A lesão das vias aéreas resulta em obstrução nas primeiras 12h após o incidente e é causada por dano térmico direto e/ou irritação química. As alterações fisiopatológicas decorrentes não são oriundas da própria queimadura, apenas o vapor, com capacidade de carrear o calor muitas vezes maior que a do ar seco, pode sobrepujar a eficiente capacidade dissipatória de extremos de temperatura das vias aéreas superiores. Tampouco é o material carbonáceo presente na fumaça capaz de danificar o parênquima pulmonar, muito embora possa servir de veículo para outros agentes lesivos (3). A avaliação inicial não é um bom indicador de severidade da obstrução que pode ocorrer mais tarde (11).

**Lesão Térmica Direta:** A ação decorrente da temperatura da fumaça inalada raramente provoca lesões nos territórios abaixo da laringe. Apesar das altas temperaturas, a fumaça tende a ser seca, o que diminui muito o potencial de troca de calor. Além disso, as regiões supralaríngeas têm grande capacidade de troca de calor, já que as mucosas liberam grande quantidade relativa de água (12).

**Inalação do Gás Hipóxico:** Durante a combustão, a concentração de oxigênio cai até um momento em que o fogo se apaga, pelo consumo gerado. A maior parte do fogo decorrente da combustão de derivados de petróleo se extingue em frações de oxigênio entre 13% e 15%, enquanto componentes que contenham oxigênio podem permitir a combustão até frações inspiradas menores que 10%. Devido as baixas frações inspiradas as vítimas passam a referir dispnéia e tontura, podendo evoluir para confusão mental, torpor, coma e até mesmo óbito, em frações ao redor de 5%, consideradas incompatíveis com a vida (13).

**Toxinas Locais:** Vários componentes da fumaça podem causar lesão direta nas vias aéreas como por exemplo a acroleína, formaldeídos, dióxido de enxofre e dióxido de nitrogênio. A lesão decorre de um processo inflamatório

agudo, mediada por polimorfonucleares, principalmente neutrófilos. Os sintomas podem surgir em apenas 24 horas após a exposição, provocando alterações de permeabilidade capilar, de fluxo linfático e de clareamento mucociliar, podendo determinar o aparecimento da Síndrome da Angústia Respiratória do Adulto e de infecções secundárias (14).

**Toxinas Sistêmicas:** O monóxido de carbono e o cianeto são os gases com maior importância dentre os efeitos sistêmicos decorrentes da injúria inalatória. A intoxicação por monóxido de carbono é uma das causas mais frequentes de óbito nos pacientes vítimas desta lesão. Ele possui grande afinidade pela hemoglobina, podendo ser de 200 a 250 vezes maior que a do oxigênio. A produção de carboxihemoglobina, complexo extremamente estável, além de diminuir a saturação de oxihemoglobina, causa um desvio da curva de dissociação para a esquerda, diminuindo a liberação de oxigênio aos tecidos. A inibição competitiva com os sistemas da citocromooxidase, principalmente a do P-450, impede o uso do oxigênio para geração de energia. O monóxido de carbono liga-se também a mioglobina, prejudicando o armazenamento de oxigênio nos músculos (15). O tipo de exposição, o tempo, ou ainda, a predominância de um ou mais desses mecanismos determinam diferentes evoluções da lesão inalatória.

### **2.2.1. Injúria Inalatória da Via Aérea Superior:**

A temperatura do ar em uma sala contendo um incêndio atinge aproximadamente 538°C, devido a combinação de calor dissipado nas vias aéreas superiores, a baixa capacidade do calor do ar e ao reflexo de fechamento da laringe, o ar superaquecido provoca lesão apenas nas estruturas das vias aéreas acima da carina. O prejuízo para estas estruturas das vias aéreas pode causar edema da língua, epiglote e cordas vocais com potencial obstrução. O edema das vias aéreas ao longo de horas se desenvolve também secundário a hidratação hídrica que está em curso para a ressuscitação volêmica do paciente. A avaliação inicial não é um bom indicador de gravidade da obstrução que irá ocorrer horas mais tarde (3).

O padrão ventilatório deve ser monitorado a rigor durante as primeiras 24h e se a história clínica e o exame inicial levem a suspeita de lesão térmica das vias aéreas há indicação de intubação orotraqueal do paciente (6).

### **2.2.2. Lesão Química da Via Aérea Inferior:**

A maioria das substâncias quando queimadas geram material tóxico para a via aérea (3). Borracha e plástico produzem dióxido de enxofre, dióxido de nitrogênio, amônia e cloro, com aumento da acidez quando combinados com água nas vias aéreas. Mobiliário laminado contém colas e painéis de parede que também podem produzir gás cianeto no local quando queimado. Queima de algodão ou lã produz aldeídos tóxicos. Toxinas relacionadas com o fumo causam danos epiteliais e às células endoteliais dos capilares das vias aéreas, as alterações histológicas se assemelham a traqueobronquite. O transporte mucociliar é destruído e há uma depuração bacteriana reduzida (6).

As atelectasias ocorrem secundárias a perda do surfactante. Os macrófagos alveolares mostram-se aumentados devido a resposta inflamatória com aumento das quimiotoxinas. Alterações inflamatórias precoces que ocorrem nas vias aéreas são seguidas por um período de formação de exsudato difuso. O edema bronquioloalveolar pode se tornar grave. Uma combinação de bronquite necrosante, edema da árvore brônquica e broncoespasmo pode ser causa de obstrução de grandes e pequenas vias aéreas. A sibilância ocorre pelo edema brônquico e estimulação de receptores irritantes. O aumento da permeabilidade capilar malignifica o edema pulmonar e das vias aéreas (16, 17). A insuficiência respiratória pode ocorrer a partir de 12 a 48 horas após a exposição a fumaça. Características pulmonares aparecem diminuídas, como o aumento da incompatibilidade de perfusão e ventilação e o aumento na ventilação do espaço morto. Esta lesão pode progredir para descamação da mucosa e hemorragia intrapulmonar com obstrução mecânica das vias aéreas inferiores e a edema alveolar (1,3,6). Por causa da necrose do epitélio respiratório, os pacientes estão predispostos a invasão bacteriana secundária com pneumonia bacteriana sobreposta (6). A recuperação pode exigir vários meses (1).

### **2.3. A Importância Prognóstica da Injúria Inalatória:**

A lesão respiratória resultante da inalação de fumaça ou produtos químicos da combustão está associada com morbidade e mortalidade significativas. Mesmo isolada, a injúria por inalação pode ser associada com disfunção pulmonar prolongada (6). Combinada com queimaduras cutâneas, a injúria por inalação aumenta as necessidades de reanimação com líquidos, a incidência de complicações pulmonares e a mortalidade global da lesão térmica. Infelizmente, o entendimento dos mecanismos envolvidos na injúria inalatória não são completos, o que limita o diagnóstico e o tratamento apenas ao suporte (18).

O estudo clássico que descreve os efeitos da lesão inalatória, e sua complicação principal, a pneumonia, sobre a mortalidade em pacientes queimados vem de Shirani, Pruitt, Mason, do Instituto Cirúrgico de Pesquisa do Exército Americano em Santo Antônio, no Texas (18). Os autores revisaram mais de 1000 pacientes e avaliaram o estado da injúria inalatória, na admissão e o desenvolvimento de pneumonia durante a internação. Trezentos e setenta e três pacientes tiveram injúria inalatória. A mortalidade era maior na presença de lesão por inalação e aumentava significativamente quando associada ao desenvolvimento de pneumonia. O aumento na mortalidade era de 20% na presença de lesão inalatória e de 60% quando ambos lesão inalatória e pneumonia estavam presentes. A injúria por inalação e a pneumonia foram fatores independentes e aditivas para o aumento da mortalidade. Enquanto muitos dos produtos e técnicas têm sido desenvolvidos para manejar a lesão cutânea, relativamente poucas opções diagnósticas e terapêuticas específicas têm sido identificadas para pacientes com lesão inalatória. As melhorias na mortalidade da lesão inalatória são principalmente devido a melhoria nos cuidados intensivos.

Uma variedade de fatores explica o progresso mais lento de melhoria no manejo da lesão inalatória. O tecido cutâneo queimado pode ser excisado e substituído pela pele de enxertos, mas o tecido pulmonar lesado deve simplesmente ser protegido contra a lesão secundária. Vários mecanismos presentes nos doentes críticos com queimaduras, além da inalação da fumaça,

podem contribuir para a lesão pulmonar tais como sepse, lesão pulmonar induzida pela ventilação (VILI) ou uma inflamação sistêmica em resposta as queimaduras. Assim, a lesão inalatória tem um impacto significativo sobre a vítima de queimadura, mas é difícil de separar da contribuição de outros mecanismos que também afetam os pulmões (1,18).

Os principais avanços no entendimento dos princípios da terapia para pacientes queimados ao longo do último meio século resultaram em melhores taxas de sobrevivência, menor tempo de internação e queda das taxas de morbidade e mortalidade, devido ao desenvolvimento de protocolos de reanimação, melhora no suporte respiratório, suporte para a resposta hipermetabólica, melhor controle da infecção, melhora na cicatrização das feridas e nutrição enteral precoce (1). Os cuidados intensivos do paciente queimado exigem uma equipe multidisciplinar.

#### **2.4. Diagnóstico da Injúria Inalatória:**

Para o clínico, o diagnóstico da injúria inalatória é em partes subjetivo, baseado em grande parte na história de exposição a fumaça em ambiente fechado. Achados no exame físico, incluindo lesão facial, como queimaduras de vibrissas, fuligem em vias aéreas proximais, produção de expectoração carbonácea e alterações na fala podem auxiliar no diagnóstico (19, 20, 21).

Uma limitação significativa para os médicos que estudam inalação por fumaça tem sido a falta de critérios uniformes para o diagnóstico da lesão inalatória, escalas de gravidade e identificação com terminologia comum para descrever os resultados (2).

Assim, estudos comparativos são difíceis para avaliar estes pacientes. Alguns estudos descrevem pacientes que necessitam de intubação e ventilação mecânica após inalação de fumaça. Outros estudos enfatizam a cintilografia pulmonar para o diagnóstico de lesão inalatória. Os estudos multicêntricos sofrem o impacto da confusão de diferentes definições da lesão inalatória.

Apesar de todas as limitações expostas acima, a fibrobroncospia fornece o diagnóstico padrão ouro para injúria inalatória. Além de prover o diagnóstico, é frequentemente empregada como forma de higienização das

vias aéreas, através da remoção do material particulado, de tampões mucosos brônquicos obstrutivos e da grande quantidade de secreção inflamatória que se forma pela necrose celular (6,18). Adicionalmente, essa ferramenta é capaz de prever a evolução do ponto de vista respiratório. O escore fibrobroncoscópico chamado *Abbreviated Injury Score (AIS)*, mediante o qual a magnitude do insulto térmico das vias aéreas é classificada em 0 (sem lesão), 1 (lesão leve), 2 (lesão moderada), 3 (lesão grave) e 4 (lesão maciça) associou-se a decréscimos na relação  $PaO_2/FiO_2$  nas primeiras 24h da admissão na UTI em 32 pacientes grande queimados em uma coorte retrospectiva (4). Outro trabalho evidenciou que maiores escores na admissão de pacientes grande queimados correlacionaram-se com um maior tempo de ventilação mecânica, uma tendência a maior realização de traqueostomias e uma maior permanência na UTI (22). A repetição seriada de fibrobroncoscopias após o fornecimento do diagnóstico ainda é motivo de controvérsia entre os especialistas. Não existem estudos prospectivos ou de intervenção analisando especificamente esse tópico na literatura. A injúria térmica desencadeia uma intensa reação inflamatória nas vias aéreas, com ativação de fatores procoagulantes e liberação de radicais livres de oxigênio, o que explica sua íntima associação com o desenvolvimento de SARA (6).

## **2.5. Tratamento da Lesão Inalatória:**

### **Manutenção das vias aéreas:**

Identificar os pacientes com alto risco para obstrução das vias aéreas superiores e intervir precocemente nos quadros com lesão já instalada é um dos pontos principais no tratamento dos pacientes com lesão inalatória, reduzindo significativamente a mortalidade dos mesmos. Sinais clínicos compatíveis com obstrução secundária à lesão de vias aéreas superiores, ou ainda evidências broncoscópicas desse processo, indicam a intervenção precoce. Preferência por cânulas de grande calibre, durante a intubação, facilitam a higiene brônquica (13).

**Oxigênio:** Importante para a reversão dos quadros de intoxicação por monóxido de carbono. Nos casos suspeitos de intoxicação, está indicado o uso de altas frações de oxigênio, mesmo em pacientes oligossintomáticos. O

oxigênio nestes casos aumenta a reserva da troca gasosa do paciente, revertendo o efeito da inalação do gás hipóxico. Pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica associada à retenção de dióxido de carbono e pacientes comatosos mostram-se como indicação absoluta a intubação imediata sendo a alternativa mais indicada para aumentar a fração inspirada de oxigênio sem os potenciais efeitos deletérios de uma retenção maior de dióxido de carbono (23).

**Ventilação Mecânica:** Não é o modo ideal de estratégia ventilatória, o suporte ventilatório deve manter limites de pressão, combinado com hipercapnia permissiva e manejo rigoroso da secreção. Um número significativo de pacientes com injúria inalatória vai desenvolver pneumonia associada a ventilação mecânica. Rotinas de prevenção como elevação da cabeceira, alternância de decúbito e higiene oral devem ser otimizadas. Terapia antibiótica profilática não se mostra como regra pois pode aumentar as taxas de infecção. Membrana de oxigenação extracorpórea é talvez a terapia indicada na fase mais dramática embora ainda não haja aplicabilidade clara como sendo terapia padrão. Terapias simples como posição prona são mais práticas para o tratamento da hipoxemia refratária (2).

**Tratamentos ainda em estudo:** A injúria térmica desencadeia uma intensa reação inflamatória nas vias aéreas, com ativação de fatores procoagulantes e liberação de radicais livres de oxigênio, o que explica sua íntima associação com o desenvolvimento de SARA. Trabalhos avaliando o papel concomitante da heparina e N-acetilcisteína inalatória em adultos concluíram que poderia haver melhora da relação  $PaO_2/FiO_2$ , porém sem efeitos duradouros em comparação ao grupo sem tratamento (24).

Outro estudo publicou resultados mais expressivos nos parâmetros de hipoxemia e complacência pulmonar quando intervenção combinada, reduzindo a mortalidade mesmo após 150 dias de acompanhamento (25).

## **2.6. A Proteína 1 Relacionada a Uteroglobulina:**

O avanço no tratamento da lesão inalatória talvez venha a ter um impacto tão significativo na evolução do paciente queimado quanto foi a instituição da ressuscitação volêmica, principalmente com o desenvolvimento

de métodos que permitam a modulação da resposta inflamatória do sistema respiratório (23).

Reduzir a resposta inflamatória local após a injúria por inalação teoricamente reduziria a obstrução mecânica das vias aéreas, havendo um decréscimo a longo tempo das reações fibróticas induzidas pela inalação. Há uma série de agentes que tem sido estudadas para reduzir a inflamação, primeiramente em modelos animais (2). Novos mediadores envolvidos na resposta inflamatória a diferentes doenças pulmonares estão em estudo, neste contexto surgem as secretoglobulinas, proteínas com elevada expressão nas vias aéreas e que podem estar relacionadas a injúria inalatória (7).

A Proteína 1 Relacionada a Uteroglobulina (UGRP1) é uma dessas proteínas que tem sido estudadas. O gene que codifica para a secretoglobulina (SCGB3A2), conhecida como UGRP1 (7), está localizado dentro do cromossoma 5q31-33. Esta região do cromossoma humano 5 também contém muitos outros genes candidatos para doenças pulmonares, tais como interleucinas - IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13; colônias de macrófagos, fator estimulador de crescimento (CSF) e receptor b2-adrenérgico (ADRB2) (7). A Secretoglobulina 3A2 (SCGB3A2) é um membro da superfamília de genes de proteínas composto por proteínas secretoras com baixo peso molecular, sendo proposta como uma nova citocina (4), altamente expressa nas células epiteliais da traquéia, brônquios e bronquíolos (26). Secretoglobulinas são encontradas em altos níveis na maioria das secreções, incluindo uterinas, prostáticas, pulmonares, lacrimais e glândulas salivares, com alguma secretoglobulina frequentemente sendo expressada em mais de um tecido (27).

Com base nas várias linhas de evidência, a SCGB3A2 foi proposta para desempenhar um papel na inflamação pulmonar (4,28). O padrão de expressão sugere a possibilidade de a SCGB3A2 estar envolvida numa função diferente da inflamação. A UGRP1 foi originalmente sugerida como tendo uma função antiinflamatória devido a sua semelhança com a proteína de secreção da célula clara (7). A elevada expressão desta proteína em células epiteliais das vias aéreas sugere um possível papel na resposta inflamatória alérgica das vias respiratórias. Evidência adicional do papel da UGRP1 é vista na regulação por várias citocinas T-reguladoras tais como a IL-10, IL-5 e IL-9, sugerindo o seu

envolvimento na resposta alérgica (29). Claire et al. demonstraram que existe um aumento na UGRP1 na expectoração induzida de pacientes com asma e rinite, sugerindo um possível papel em doenças inflamatórias (4). Resultados anteriores demonstraram que polimorfismos no gene da UGRP1 poderiam predispor um indivíduo a inflamação alérgica (30). Srisodsai et al. demonstraram que num modelo em ratos, a administração de IL-10 aumentou a expressão de RNAm constitutiva e a UGRP1 foi sugerida como um potencial alvo para a atividade antiinflamatória da IL-10 no pulmão (29,30). Chiba et al. demonstraram que a UGRP1 pode suprimir a inflamação em um modelo de rato para a inflamação alérgica das vias respiratórias e também mostra a UGRP1 como um candidato terapêutico para o tratamento de inflamação pulmonar (30). Esses relatos destacam um papel potencial para UGRP1 no tratamento de doenças inflamatórias das vias respiratórias.

### **3. JUSTIFICATIVA:**

O desastre envolvendo centenas de vítimas fatais e não fatais no incêndio em Santa Maria é, felizmente, um evento raro. A coorte formada por pacientes sobreviventes da injúria por inalação internada no HCPA após o acidente é uma rara oportunidade para se estudar os mecanismos envolvidos na lesão secundária a inalação de fumaça em ambiente fechado. O entendimento dos mediadores envolvidos pode ajudar no diagnóstico e até no desenvolvimento de novas terapias. A UGRP1 surge como um potencial mediador, particularmente envolvida na antiinflamação das vias aéreas que pode ser estudada em lesão pulmonar aguda, tal qual a injúria por inalação.

#### **4. OBJETIVOS:**

##### **4.1. Objetivo Geral:**

Investigar o processo inflamatório em pacientes queimados que sofreram lesão pulmonar inalatória.

##### **4.2. Objetivos específicos:**

Investigar a expressão da UGRP1 precocemente após a queimadura e inalação por fumaça.

Correlacionar as concentrações séricas de UGRP1 com a gravidade da lesão inalatória.

## 5. ARTIGO EM PORTUGUÊS

### PROTEINA 1 RELACIONADA À UTEROGLOBULINA E GRAVIDADE DA INJÚRIA INALATÓRIA

Sabrina Frighetto Henrich MD<sup>1</sup>

Tatiana Helena Rech PhD<sup>2</sup>

Felipe Dal Pizzol PhD<sup>3</sup>

Gilberto Friedman PhD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, PPG Ciências Pneumológicas, Porto Alegre, Brasil

<sup>2</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, PPG Endocrinologia, Porto Alegre, Brasil

<sup>3</sup> Universidade do Extremo Sul Catarinense, PPG Ciências da Saúde, Criciúma, Brasil

#### INTRODUÇÃO:

As queimaduras são um importante problema de saúde pública global. Estima-se que mais de 300 milhões de vítimas de queimaduras morrem a cada ano em todo o mundo. A maioria dos acidentes são domésticos ou no local de trabalho e envolvem principalmente mulheres e crianças. Com os avanços no cuidado dos pacientes queimados, a mortalidade tem diminuído nos últimos anos e a lesão inalatória tornou-se a principal causa de morte nesses pacientes (3). A injúria inalatória resultado da inalação de fumaça ou produtos químicos da combustão está associada a significativa morbidade e mortalidade. A mortalidade associada à inalação de fumaça isolada pode ser baixa (0-11%), mas a inalação combinada com queimaduras na pele pode chegar a 90% (2). Mesmo isolada, a lesão por inalação pode ser associada com disfunção pulmonar a longo prazo. Combinado com queimaduras cutâneas, a injúria por inalação aumenta o requerimento de ressuscitação volêmica, a incidência de complicações pulmonares e mortalidade global da injúria térmica. Infelizmente,

uma estratégia diagnóstica e terapêutica consistente ainda não está disponível sendo o tratamento em grande parte suportivo (1). Muitas das consequências da inalação de fumaça resultam de uma resposta inflamatória envolvendo mediadores cujo número e função ainda permanece incompreendida, apesar da melhora dos instrumentos para o processamento do material clínico. Melhorias na mortalidade pela lesão inalatória são na sua maioria devido a melhorias generalizadas nos cuidados intensivos, em vez de intervenções voltadas para a inalação de fumaça (5).

Entender a interação entre estes mediadores em face a doença crítica continua na vanguarda dos esforços de investigação clínica e laboratorial. Em pacientes queimados com inalação de fumaça a resposta inflamatória pulmonar está aumentada nos piores graus de lesão por inalação e aqueles que morrem da injúria têm uma capacidade de resposta imunológica pulmonar atenuada em comparação com os sobreviventes (6).

Métodos não-invasivos para avaliar a resposta inflamatória das vias aéreas, os quais são centrais para a patogênese de diversas doenças, foram desenvolvidos na última década, com a esperança de monitorar com segurança e precisão o progresso do paciente e a resposta a terapêutica. Uma ferramenta desenvolvida recentemente consiste no estudo de proteínas específicas do pulmão secretadas para o fluido de revestimento das vias aéreas por ambas células de condução e células epiteliais (34,35).

A proteína 1 relacionada a Uteroglobina (UGRP1), uma pequena proteína pertencente a família da secretoglobulina CC16 foi avaliada em vários estudos. UGRP1 é uma proteína de 17 kd, homodimérica, específica do pulmão também chamado de proteína 2 normal ou secretoglobulina 3A2. UGRP1 tem sido sugerida para desempenhar um papel na inflamação do pulmão e das doenças alérgicas (4,7). A UGRP1 também foi demonstrada como sendo uma importante pneumoproteína com potencial diagnóstico como um biomarcador de danos pulmonares.

Nas primeiras horas do dia 27 de Janeiro de 2013, 234 vítimas adultas jovens morreram imediatamente durante o incêndio em uma boate na cidade de Santa Maria, Brasil. Dos sobreviventes, 88 foram admitidos na UTI com lesão grave por inalação de fumaça e variando as percentagens da

superfície corporal queimada, bem como com outras lesões, a maioria das quais de gravidade moderada. Dezesseis pacientes foram transferidos de Santa Maria para o Hospital de Clínicas de Porto Alegre devido a SARA secundária a injúria inalatória. Portanto, este estudo investigou a expressão da UGRP1 no plasma destes pacientes logo após a queimadura e inalação de fumaça, com o objetivo de correlacionar esta secretoglobulina com a gravidade da lesão inalatória.

### **METODOLOGIA:**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê em Ética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

#### **Delineamento do estudo**

Estudo observacional, de coorte retrospectiva.

#### **População em estudo**

Composta por uma coorte de 16 pacientes críticos vítimas da catástrofe de Santa Maria que foram internados no HCPA.

#### **Protocolo do estudo**

Foi feita revisão dos prontuários dos 16 pacientes vítimas do incêndio de Santa Maria, internados no HCPA, com o uso de ficha de coleta de dados apresentada no anexo 1. Foi utilizado termo de compromisso para uso de dados. Foi coletado uma amostra de sangue venoso destes pacientes, conforme consta no termo de consentimento livre e esclarecido, nas primeiras 24h de internação na UTI, para posterior análise.

#### **Pacientes e Parâmetros**

Entre 27 e 28 de janeiro de 2013, foram realizadas broncoscopias em 16 pacientes consecutivos admitidos na Unidade de Terapia Intensiva do Hospital de Clínicas de Porto Alegre dentro das primeiras 72 horas da injúria inalatória em todos os casos. Todos os pacientes foram mecanicamente ventilados por SARA secundária a injúria por inalação. Os critérios para broncoscopia

incluíam evidência de escarro carbonáceo, fuligem em narinas, queimaduras em cabeça e pescoço, injúria dentro de espaço fechado. Foi coletado amostra de sangue venoso na admissão a UTI e dentro das primeiras 24h da injúria nestes pacientes. Variáveis clínicas e desfechos de interesse foram armazenados, incluindo idade, sexo, SOFA (22), balanço hídrico de 24h (L), graus de injúria inalatória, dias de ventilação mecânica, tempo de internação em UTI e hospitalar e mortalidade em 28 dias.

### **Graus de Injúria Inalatória e Análise Amostral**

Durante a broncoscopia, a injúria inalatória foi graduada entre os graus 1 de 5 categorias (0, 1, 2, 3, and 4), baseado no Escore Abreviado de Injúria (EAI), com grau 0 sendo ausência de injúria visível e grau 4 correspondendo a injúria maciça (18).

Níveis séricos de UGRP1 foram determinados através de teste ELISA com dois anticorpos monoclonais contra a UGRP1 humana, MoAb 4G10 e MoAb 5B1 (28). Valores foram expressos como unidades de densidade óptica/mL de plasma. Estes resultados foram comparados de acordo com os diferentes graus de injúria inalatória.

### **Análise Estatística**

Todos os dados foram analisados de acordo com a normalidade. Variáveis dicotômicas foram reportadas como número e porcentagem, variáveis contínuas foram reportadas como média e desvio padrão. Significância estatística foi determinada por análise unidirecional de variância (ANOVA) com análise *post hoc* com teste de Bonferroni/Dunn. Um valor de  $p < 0.05$  foi considerado significativamente estatístico. As análises foram feitas pelo software SAS versão 9.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC).

### **RESULTADOS:**

A tabela 1 descreve as características demográficas, clínicas e os desfechos. A tabela 2 descreve as análises laboratoriais. A média de idade foi  $23 \pm 5$  anos, com graus de injúria inalatória: grau 1:(n=3), 2 (n=4), and 3 (n=9). Os níveis de UGRP1 foram significativamente relatados de acordo com a

severidade da injúria inalatória (Grau 1  $0.389 \pm 0.053$  DO/mL vs. Grau 2  $0.474 \pm 0.0423$  DO/mL vs Grau 3  $0.580 \pm 0.094$  DO/mL,  $p=0.007$ ).

### **DISCUSSÃO:**

O mais importante achado do nosso estudo é que as concentrações séricas da UGRP1 mostraram associação com a gravidade da injúria inalatória. As concentrações séricas de UGRP1 aumentaram conforme a severidade da injúria.

Estudos em animais e humanos têm investigado a resposta imune a queimaduras, trauma, sepse e, correlacionando ambas as respostas pró e antiinflamatórias como potenciais determinantes da disfunção orgânica com impacto na mortalidade (6; 31,32,33). Até hoje, no entanto, nenhum mediador, seja pró ou antiinflamatório, foi identificado como um bom candidato para imunomodulação. Estes resultados sugerem que tanto a nossa compreensão da resposta imune a queimaduras, trauma e sepse é incompleta como a nossa abordagem para imunomodulação se mostra inadequada.

Este estudo é importante porque é um dos raros estudos que identificou a lesão por inalação induzindo a mudanças sistêmicas nos mediadores imunes. Rodriguez e col. relataram que a adição da lesão por inalação magnifica a quantidade de IL-8 sérica circulante (29). Davis et al. mostram que os efeitos sistêmicos da lesão por inalação são por aumento nas concentrações plasmáticas de mediadores imunes, sendo elevados de acordo com a severidade da injúria (6). Em nosso estudo, os efeitos sistêmicos da injúria por inalação foram evidenciados através da concentração plasmática de UGRP1, com aumento nos graus de maior injúria. As amostras de plasma do nosso estudo foram coletadas num período máximo de 24 horas da injúria, minimizando, assim, o efeito do tempo de lesão em concentrações de mediadores do sistema imunológico.

Nosso resultado parece confirmar a UGRP1 como determinante e/ou marcador de lesão inalatória em pacientes com queimaduras. Como uma pneumoproteína, a UGRP1 foi originalmente sugerida para ter uma função antiinflamatória devido a sua semelhança com a uteroglobina/proteína de célula clara (28). A UGRP1 está localizada na região 5q31-32 do cromossoma,

locus atribuído a susceptibilidade a asma e onde há elevada expressão desta proteína em células epiteliais da via aérea sugerindo um possível papel na inflamação alérgica das vias respiratórias. Outra evidência do papel da UGRP1 é visto em sua regulação por citocinas T-reguladoras tais como IL-10, IL-5 e IL-9, sugerindo seu envolvimento na resposta alérgica (30). Claire et al., demonstraram que não existe aumento em UGRP1 na expectoração induzida de pacientes com asma e rinite, sugerindo ainda um possível papel em doenças inflamatórias. A evidência experimental sugere que a sua secreção é uma resposta contra estímulos inflamatórios. Acredita-se que o gene UGRP1 é sobrerregulador por Th1, mas suprimido por citocinas Th2, e ambientes com UGRP1 reduzida tendem a ser proinflamatórios (28). Assim, parece que a UGRP1 nas fases iniciais após lesão por inalação pode ser um mecanismo adaptativo na tentativa de controlar a inflamação pulmonar.

Em acordo com outros estudos relatamos o que já se falou sobre a injúria inalatória, sobre a gravidade da injúria por inalação, que é um determinante importante da resposta imune sistêmica para queimaduras, principalmente quando há combinação da lesão cutânea com a inalação de fumaça. Além disso, amostras de plasma foram coletadas em nosso estudo em uma janela de um máximo de 24 horas após a lesão, minimizando, assim, o efeito do tempo da lesão em concentrações de mediadores do sistema imunológico.

A associação entre UGRP1 e a severidade de diferentes doenças pulmonares já foram demonstradas. Burbure et al. mostraram aumento da UGRP1 no escarro de pacientes com asma e rinite (7). Na asma, Inoue et al. mostraram que a severidade da asma apresentava maiores níveis de UGRP1 (28). Curiosamente, eles encontraram que os níveis de UGRP1 foram menores em pacientes com asma sem uso de corticosteróides orais, particularmente nos casos severos, sugerindo que a ausência desta proteína antiinflamatória possa ter um papel significativo na asma. A associação entre severidade da injúria inalatória sugere resposta antiinflamatória a lesão térmica ou a injúria por inalação de fumaça.

Temos de reconhecer limitações importantes para o nosso estudo. Em primeiro lugar, o tamanho de amostra de 16 doentes é relativamente pequeno.

Em segundo lugar, nosso estudo tem um viés de seleção inerente ao fato, em que apenas aqueles com SARA e uma suspeita de lesão inalatória foram incluídos. Além disso, uma medida dinâmica dos níveis no plasma pode ser de extrema importância, porém seria de se esperar que uma medida após lesão por inalação com uma diminuição da UGRP1 poderia estar associado com hiperinflamação e agravamento da lesão pulmonar. Por fim, nosso estudo não fornece dados mecânicos adicionais além da aparente importância da UGRP1 em induzir seus efeitos.

Em conclusão, temos demonstrado que os níveis UGRP1 no plasma humano, aumenta após lesão inalatória em pacientes queimados. Além disso, os níveis séricos UGRP1 estão associados com a gravidade da lesão por inalação.

**Tabela 1. Características dos pacientes.**

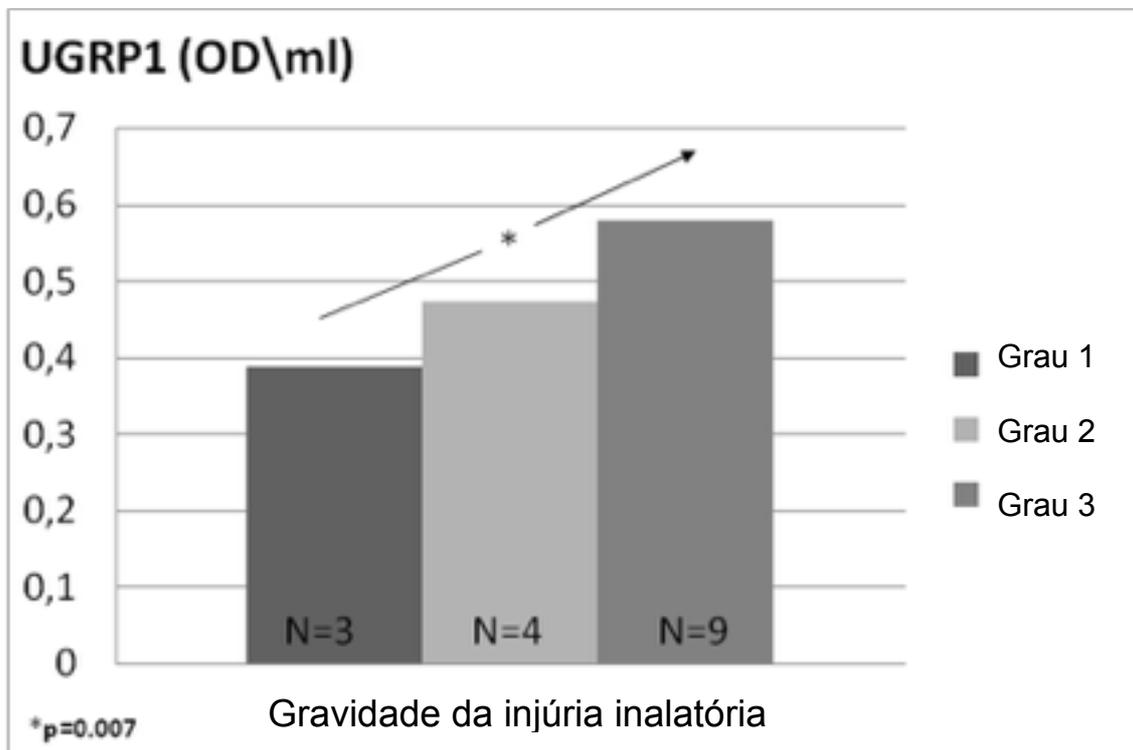
Parâmetros	
Idade (anos)	23±5
Sexo (M/F)	11/5
Tempo de Ventilação Mecânica (dias)	10±6
Tempo de internação em UTI (dias)	14±9
Tempo de internação hospitalar (dias)	19±9
Mortalidade em UTI (n)	1
Mortalidade em 28 dias (n)	1
SOFA	
Dia 1	4.5±2.4
Dia 3	4.7±3.8
Relação PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	342±139
Balanço hídrico em 24h (L)	5733±4917
Injúria inalatória (n)	
Grau 1	3
Grau 2	4
Grau 3	9

Os dados apresentados estão expressos em média±desvio padrão. UTI, unidade de terapia intensiva; SOFA, escore sequencial de falência orgânica; Relação PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>, relação entre a pressão parcial de oxigênio arterial pela fração inspirada de oxigênio.

**Tabela 2. Análises Laboratoriais.**

Parâmetros	
Pico de Lactato (mmol/L)	2.3±1.9
Pico de PCR (mg/dL)	190±87
ACTH (pg/dL)	6.46±5.21
TSH (mU/L)	1.42±2.03
T4 livre (ng/dL)	21.17±34.69
IL-10 (pg/mL)	31.38±10.65
IL-6 (pg/mL)	16.28±3.01
IL-8 (pg/mL)	54.06±26.07
UGRP1 (DO/mL)	0.52±0.11
Antisurfactante (DO/mL)	0.43±.13

Dados são representados como média±desvio padrão. Lactato, PCR (proteína C reativa); ACTH (hormônio adrenocorticotrófico); TSH (hormônio estimulante da tireóide); T4 livre;



**Figura 1.** As concentrações séricas de Proteína 1 relacionada a Uteroglobulina (UGRP1) (densidade óptica\mL) estão relacionadas à gravidade da injúria inalatória.

## 6. ARTIGO EM INGLÊS

### UTEROGLOBIN-RELATED PROTEIN 1 AND SEVERITY OF INHALATION INJURY

Sabrina Frighetto Henrich MD<sup>1</sup>

Tatiana Helena Rech PhD<sup>2</sup>

Felipe Dal Pizzol PhD<sup>3</sup>

Gilberto Friedman PhD<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, PPG Ciências Pneumológicas, Porto Alegre, Brazil

<sup>2</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, PPG Endocrinologia, Porto Alegre, Brazil

<sup>3</sup> Universidade do Extremo Sul Catarinense, PPG Ciências da Saúde, Criciúma, Brazil

#### INTRODUCTION:

Burns are a major global public health problem. It is estimated that over 300 million burn victims die each year worldwide. Most accidents are domestic or on workplace and involve mainly women and children. With the advances made in the care of burned patients, the mortality has decreased in recent years and the inhalation injury has become the leading cause of death in these patients (3). Respiratory injury resulting from inhalation of smoke or chemical products of combustion is associated with significant morbidity and mortality. Mortality associated to smoke inhalation alone may be low (0-11%), but the inhalation combined with skin burns can reach 90%(2). Even in isolation, inhalation injury can be associated with longstanding pulmonary dysfunction. Combined with cutaneous burns, inhalation injury increases fluid resuscitation requirements, incidence of pulmonary complications and overall mortality of thermal injury. Unfortunately, a consistent diagnostic strategy is unavailable and treatment is largely supportive (1). Many of the consequences of smoke

inhalation result from an inflammatory response involving mediators whose number and role remain incompletely understood despite improved tools for processing of clinical material. Improvements in mortality from inhalation injury are mostly due to widespread improvements in critical care rather than focused interventions for smoke inhalation (5).

Understanding the interplay between these mediators in the face of critical illness remains at the forefront of clinical and laboratory research efforts. In burned patients with smoke inhalation the pulmonary inflammatory response is enhanced with worse grades of inhalation injury and that those who die of injuries have a blunted pulmonary immune responsiveness compared with survivors (6).

Noninvasive methods for assessing the airway inflammatory response, which is central to the pathogenesis of different pathologies, have been developed in the last decade with the hope to reliably and accurately monitor patient progress and response to therapy. One such newly developed and evolving tool consists in the study of lung-specific proteins secreted into the airways lining fluid by both the conducting and the respiratory airway epithelial cells (34,35).

Uteroglobin-related protein 1 (UGRP1), a small protein belonging to secretoglobin family CC16 has been evaluated in several studies. UGRP1 is a 17-kd, homodimeric lung-specific protein also called high in normal 2 protein or secretoglobin SCGB3A2. UGRP1 has been suggested to play a role in lung inflammation and allergic diseases (4,7). UGRP1 has also been shown to be an important pneumoprotein, with diagnostic potential as a biomarker of lung damage.

In the early hours of January 27, 2013, 232 young adult victims died immediately during the fire at a nightclub in the city of Santa Maria, Brazil. Of the survivors, 88 were admitted to the ICU with severe smoke inhalation injury and varying percentages of total body surface area (TBSA) burned, as well as with other injuries, most of which were of moderate severity. Sixteen patients were transferred from Santa Maria to the Hospital de Clínicas de Porto Alegre due to ARDS secondary to inhalation injury. Therefore, this report investigated

the serum UGRP1 expression early after burn and smoke inhalation, aiming to correlate this secretoglobulin with the severity of inhalation injury.

## **METHODS**

This study was approved by the Research Ethics Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

### **Study Design**

Observational, retrospective cohort.

### **Population Study**

A cohort of 16 critically ill victims of the Santa Maria catastrophe were hospitalized at the HCPA.

### **Patients and Parameters**

In 27<sup>th</sup>-28<sup>th</sup> January 2013, bronchoscopy was performed on 16 consecutive patients admitted to the Intensive Care Unit of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre within 72 hours of injury in all cases. All patients were mechanically ventilated with ARDS secondary to smoke inhalation injury. The criteria for bronchoscopy included evidence of carbonaceous sputum, soot at the nares, burn of the head and neck, injury within a confined space. Plasma was collected at the time of ICU admission within 24 hours after the inhalation injury. Clinical variables and outcomes of interest were recorded, including age, sex, Sequential Organ Failure Assessment score (22), 24 hour fluid balance (L), grade of inhalation injury, ventilator days, intensive care unit and hospital length of stay, and 28<sup>th</sup> day mortality.

### **Grading of Inhalation Injury and Sample Processing**

During bronchoscopy, inhalation injury was graded into 1 of 5 categories (0, 1, 2, 3, and 4), based on Abbreviated Injury Score criteria, with grade 0 being the absence of visible injury and grade 4 corresponding to massive injury (18).

UGRP1 serum levels were determined using ELISA with two monoclonal antibodies against human UGRP1, MoAb 4G10 and MoAb 5B1 (28). Values are expressed as arbitrary optical density units/ml serum. These results were compared for those with different grades of inhalation injury.

### **Statistical Analysis**

All data were assessed for normality. Dichotomous variables are reported as a percentage and number, continuous variables are reported as a mean with standard deviation. Statistical significance of difference was determined by one-way analysis of variance (ANOVA) with *post hoc* Bonferroni/Dunn test. A value of  $P < 0.05$  was considered to be statistically significant. Statistical analyses were calculated with SAS version 9.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC).

### **RESULTS:**

Table 1 described the demographics, clinical characteristics of patients and outcomes. Table 2 described the laboratorial analyses. The mean age was  $23 \pm 5$  years, with inhalation injury: grades 1 (n=3), 2 (n=4), and 3 (n=9). UGRP1 levels were significantly related to the severity of inhalation (Grade 1  $0.389 \pm 0.053$  OD/mL vs. grade 2  $0.474 \pm 0.0423$  OD/mL vs grade 3  $0.580 \pm 0.094$  OD/mL,  $p=0.007$ ).

### **DISCUSSION**

The most important finding of our study is that we've shown that UGRP1 serum concentrations were associated to the severity of smoke inhalation injury. UGRP1 serum concentrations were increased with worse grades of inhalation injury.

Animal and human studies have investigated the immune response to burns, trauma, and sepsis, implicating both pro and anti-inflammatory responses as potential determinants of organ dysfunction, outcomes and survival (6, 31,32, 33). To date, however, no single mediator, be it pro- or anti-inflammatory, has been identified as a successful candidate for immunomodulation. These findings suggest either that our understanding of the

immune response to burns, trauma, and sepsis is incomplete or that our approach to immunomodulation is inappropriate.

This study is important because it is one of the rare studies to have identified inhalation injury as inducing systemic immune mediator changes. Rodriguez et al reported that the addition of inhalation injury magnified the amount of circulating IL-8 detected (29). Davis et al. studied the systemic effects of inhalation injury are by numerous plasma immune mediator concentrations being elevated in response to more severe grades of inhalation injury (6). In our study, the systemic effects of inhalation injury are evidenced by UGRP1 concentrations being elevated in response to more severe grades of inhalation injury. Our results are in accordance with others that did take into account the severity of inhalation injury, which, as we have observed, is an important determinant of the systemic immune response to burns combined with smoke inhalation. Further yet, plasma samples were collected in our study in a post injury window of a maximum of 24 hours, thus minimizing the effect of time since injury on immune mediator concentrations.

Our study seems to confirm UGRP1 as a determinant and/or marker of inhalation injury in patients with burns. As a pneumoprotein, UGRP1 was originally suggested to have an anti-inflammatory function due to its similarity to uteroglobin/Clara cell secretory protein (28). UGRP1 is localized in the chromosome 5q31-32 region where asthma susceptibility locus has been assigned and the high expression of this protein in epithelial cells of the airway suggests a possible role in allergic airway inflammation. Further evidence of the role of UGRP1 is seen in its regulation by T-regulatory cytokines such as IL-10, IL-5 and IL-9 (130), suggesting its involvement in allergic response. Claire et al., have shown that there is increase in UGRP1 in the induced sputum of patients with asthma and rhinitis, further suggesting a possible role in inflammatory diseases. The experimental evidence suggests that its secretion is a response against inflammatory stimuli. It is believed that UGRP1 gene is up-regulated by Th1, but suppressed by Th2 cytokines, and environments with reduced UGRP1 production tend to be pro-inflammatory (28). Thus, it seems that UGRP1 in the early phases after inhalation injury could be an adaptive mechanism trying to control lung inflammation.

The association between serum UGRP1 and severity of different lung diseases has already been demonstrated. Burbure et al. showed that UGRP1 is increased in the sputum of asthma and rhinitis (7). In asthma, Inoue et al. showed that in severe asthma UGRP1 serum levels were increased (28). Interestingly, they found that UGRP1 levels were lower in asthma patients without oral corticosteroids, particularly in the severe cases, suggesting that the lack of this anti-inflammatory protein may have a significant role in asthma. The association between the severity of inhalation injury in our patients suggests an anti-inflammatory response to the thermal or smoke lung injury.

We must acknowledge important limitations to our study. First, a sample size of 16 patients is relatively small. Second, our study has an inherent selection bias, in that only those with ARDS and a suspected inhalation injury were enrolled. In addition, a dynamic measure of plasma levels could be of importance, it would be expected that late after inhalation injury a decrease of UGRP1 could be associated with hyperinflammation and worsening of lung damage. Finally, our study does not provide mechanistic data that may hold additional clues as to how seemingly important UGRP1 may induce its effects.

In conclusion, we've demonstrated that UGRP1 levels in human serum, an anti-inflammatory lung secretoglobulin increases after inhalation injury in burn patients. In addition, serum UGRP1 levels are associated with the severity of inhalation injury.

**Table 1. Patient's characteristics\*.**

Parameters	
Age (years)	23±5
Sex (M/F)	11/5
Ventilator days	10±6
ICU length of stay (days)	14±9
Hospital length of stay (days)	19±9
ICU mortality (n)	1
28 <sup>th</sup> day mortality (n)	1
SOFA	
Day 1	4.5±2.4
Day 3	4.7±3.8
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> ratio	342±139
24 h Fluid balance (L)	5733±4917
Inhalation injury (n)	
Grade 1	3
Grade 2	4
Grade 3	9

Data are presented as mean±SD. ICU, intensive care unit; SOFA, sequential organ failure assessment score; PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ratio, ratio of arterial oxygen partial pressure to fractional inspired oxygen;

**Table 2. Laboratorial analyses.**

Parameters	
Peak Lactate (mmol/L)	2.3±1.9
Peak CRP (mg/dL)	190±87
ACTH (pg/dL)	6.46±5.21
TSH (mU/L)	1.42±2.03
Free T4 (ng/dL)	21.17±34.69
IL-10 (pg/mL)	31.38±10.65
IL-6 (pg/mL)	16.28±3.01
IL-8 (pg/mL)	54.06±26.07
UGRP1 (OD/mL)	0.52±0.11
antisurfactant (OD/mL)	0.43±.13

Data are presented as mean±SD. Lactate, CRP (C-Reactive Protein); ACTH (adrenocorticotropic hormone); TSH (thyroid-stimulating hormone); Free T4 (free thyroxine);

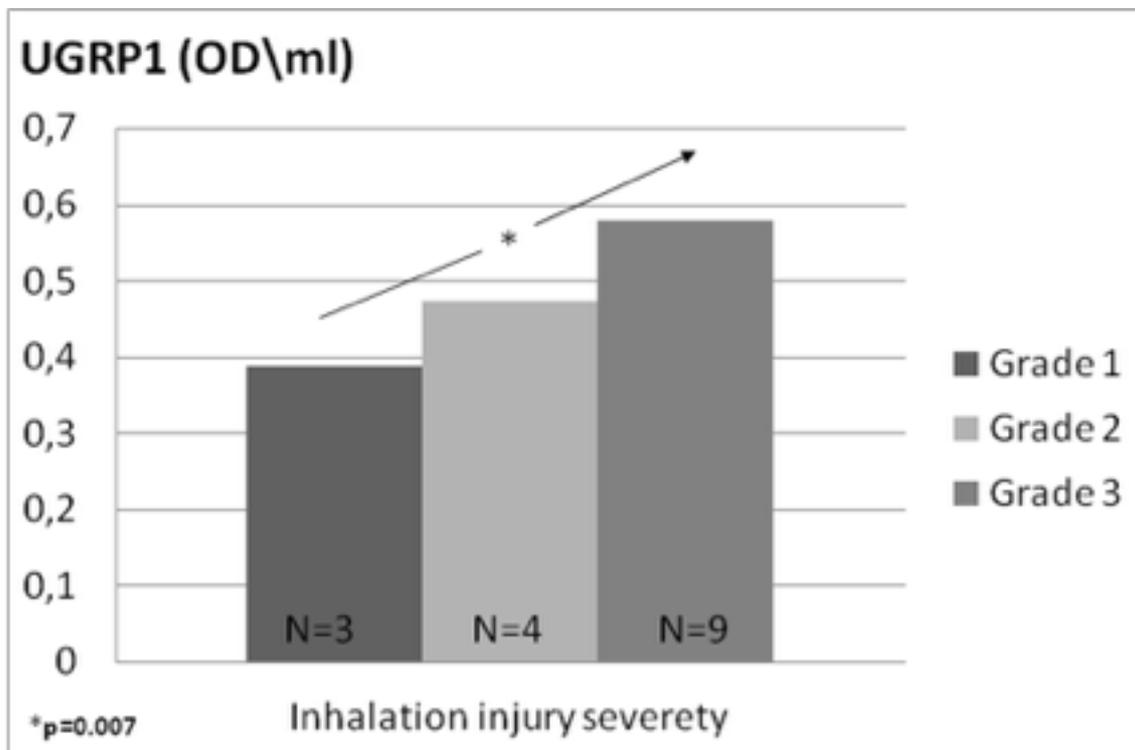


Figure 1. Uteroglobin-related protein 1 (UGRP1) serum concentrations (optical density/ml) are related to the inhalation injury severity.

## **7. Conclusões:**

Este estudo permite concluir que os níveis de UGRP1 no plasma dos pacientes vítimas de queimaduras e inalação de fumaça estão aumentados. Além disso, os níveis de UGRP1 se correlacionam com a gravidade da injúria inalatória.

Embora a população estudada seja pequena, a relação da UGRP-1 e injúria inalatória permite considerar a dosagem desta citocina como um marcador de injúria por inalação e de gravidade nesta situação.

São necessários mais estudos com UGRP1 na injúria inalatória para definir melhor o seu papel diagnóstico e seu poder em avaliar a gravidade.

## **8. Considerações finais:**

Deve-se atentar para a injúria inalatória em todos os pacientes vítimas de queimaduras por inalação de fumaça, principalmente em ambientes fechados. Nos dias de hoje, a injúria inalatória é o principal determinante prognóstico de pacientes queimados.

O entendimento da fisiopatologia da injúria inalatória é importante para o diagnóstico. O diagnóstico e a avaliação da gravidade ainda depende muito de critérios clínicos pois os mecanismos da injúria inalatória ainda não são bem conhecidos. Por isso, estratégias diagnósticas e de avaliação prognóstica devem ser constantemente aprimoradas. Nestes pacientes deve-se levar em consideração a possibilidade de coleta de amostra de sangue nas primeiras 24h do acidente para a dosagem de marcadores sistêmicos que indiquem a possibilidade e a extensão da injúria inalatória e com isso novas e precoces abordagens possam ser definidas. A UGRP1 plasmática surge como um possível marcador nesta condição.

Serão necessários mais estudos nesta área para definir a validade externa do uso desta citocina como um marcador para tal injúria.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIGRÁFICAS:

- (1) Latenser BA. Critical care of the burn patient: the first 48 hours. *Crit Care Med* 2009; 37(10):2819-2826.
- (2) Dries DJ, Endorf FW. Inhalation injury: epidemiology, pathology, treatment strategies. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2013; 21:31.
- (3) Antonio AC, Castro PS, Freire LO. Smoke inhalation injury during enclosed-space fires: an update. *J Bras Pneumol* 2013; 39(3):373-381.
- (4) Lu X, Wang N, Long XB, You XJ, Cui YH, Liu Z. The cytokine-driven regulation of secretoglobins in normal human upper airway and their expression, particularly that of uteroglobin-related protein 1, in chronic rhinosinusitis. *Respir Res* 2011; 12:28.
- (5) Sterner JB, Zanders TB, Morris MJ, Cancio LC. Inflammatory mediators in smoke inhalation injury. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2009; 8(1):63-69.
- (6) Davis CS, Janus SE, Mosier MJ, Carter SR, Gibbs JT, Ramirez L et al. Inhalation injury severity and systemic immune perturbations in burned adults. *Ann Surg* 2013; 257(6):1137-1146.
- (7) Burbure C, Pignatti P, Corradi M, Malerba M, Clippe A, Dumont X et al. Uteroglobin-related protein 1 and clara cell protein in induced sputum of patients with asthma and rhinitis. *Chest* 2007; 131(1):172-179.
- (8) Ryan CM, Schoenfeld DA, Thorpe WP, Sheridan RL, Cassem EH, Tompkins RG. Objective estimates of the probability of death from burn injuries. *N Engl J Med*.1998;338:362-6.
- (9) Darling GE, Keresteci MA, Ibanez D, Pugash RA, Peters WJ, Neligan PC. Pulmonary complications in inhalation injuries with associated cutaneous burn. *J Trauma*. 1996;40:83-9.
- (10) Shirani KZ, Pruitt BA Jr, Mason AD jr. The influence of inhalation injury and pneumonia on burn mortality. *Ann Surg*. 1987; 205; 82-7.
- (11) Initial evaluation is not a good indicator of the severity of obstruction that may occur later [3,12].
- (12) Oldham KT, Guice KS, Till GO, Ward PA. Activation of complement by hydroxyl radical in thermal injury. *Surgery*. 1988;104:272-9.
- (13) Weiss SM, Lakshminarayan S. Acute inhalation injury. *Clin Chest Med*. 1994;15:103-16.
- (14) Demling RH. Smoke inhalation injury. *New Horiz*. 1993;1:422-34.

- (15) Piantadosi CA. Diagnosis and treatment of carbon monoxide poisoning. *Respir Care Clin N Am.* 1999;5:183-202.
- (16) Fein A, Leff A, Hopewell PC: Pathophysiology and management of the complications resulting from fire and the inhaled products of combustion: review of the literature. *Crit Care Med* 1980, 8:94–98.
- (17) Herndon DN, Traber LD, Linares H, Flynn JD, Niehaus G, Kramer G, Traber DL: Etiology of the pulmonary pathophysiology associated with inhalation injury. *Resuscitation* 1986, 14:43–59.
- (18) Endorf FW, Gamelli RL. Inhalation injury, pulmonary perturbations, and fluid resuscitation. *J Burn Care Res* 2007; 28(1):80-83.
- (19) Palmieri TL: Inhalation injury: research progress and needs. *J Burn Care Res* 2007, 28:549–554.
- (20) McCall JE, Cahill TJ: Respiratory care of the burn patient. *J Burn Care Rehabil* 2005, 26:200–206.
- (21) Woodson LC: Diagnosis and grading of inhalation injury. *J Burn Care Res* 2009, 30:143–145.
- (22) Vincent JL, De Mendonca A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. *Crit Care Med* 1998; 26:1793-1800.
- (23) Souza R, Jardim C, Salge JM, CARVALHO CRR et al. Lesão por inalação de fumaça. *J Bras Pneumol* 2004; 30(5); 557-65.
- (24) Holt J, Saffle JR, Morris SE, Cochran A. Use of inhaled heparin/N-acetylcysteine in inhalation injury: does it help? *J Burn Care Res.* 2008;29(1):192-5.
- (25) Miller AC, Rivero A, Ziad S, Smith DJ, Elamin EM. Influence of nebulized unfractionated heparin and N-acetylcysteine in acute lung injury after smoke inhalation injury. *J Burn Care Res.* 2009;30(2):249-56.
- (26) Chiba Y, Kurotani R, Kusakabe T, Miura T, Link BW, Misawa M, Kimura S. Uteroglobin-related Protein 1 Expression Suppresses Allergic Airway Inflammation in Mice. *Am J Respir Crit Care Med* Vol 173. pp 958–964, 2006.
- (27) Jackson BC, Thompson DC, Wright MW, McAndrews M, Bernard A, Nebert DW, Vasiliou V. Update of the human secretoglobin (SCGB) gene superfamily and an example of ‘evolutionary bloom’ of androgen-binding protein genes within the mouse Scgb gene superfamily. *HUMAN GENOMICS. VOL 5. NO 6. 691–702 OCTOBER 2011.*

- (28) Inoue K, Wang X, Saito J, Tanino Y, Ishida T, Iwaki D et al. Plasma UGRP1 levels associate with promoter G-112A polymorphism and the severity of asthma. *Allergol Int* 2008; 57(1):57-64.
- (29) Rodriguez JL, Miller CG, Garner WL, Till GO, Guerrero P, Moore NP et al. Correlation of the local and systemic cytokine response with clinical outcome following thermal injury. *J Trauma* 1993; 34(5):684-694.
- (30) Hashimoto K, Katayose M, Sakuma H, Kawasaki Y, Sumikoshi M, Sakata H et al. Uteroglobulin-related protein 1 and severity of respiratory syncytial virus infection in children admitted to hospital. *J Med Virol* 2011; 83(6): 1086-1092.
- (31) Friedman G, Jankowski S, Marchant A, Goldman M, Kahn RJ, Vincent JL. Blood interleukin 10 levels parallel the severity of septic shock. *J Crit Care* 1997; 12(4):183-187.
- (32) Vincent JL, Slotman G, Van Leeuwen PA, Shelly M, Nasraway S, Tenailon A et al. IL-1ra administration does not improve cardiac function in patients with severe sepsis. *J Crit Care* 1999; 14(2):69-72.
- (33) Marchant A, Alegre ML, Hakim A, Pierard G, Marecaux G, Friedman G et al. Clinical and biological significance of interleukin-10 plasma levels in patients with septic shock. *J Clin Immunol* 1995; 15(5):266-273.
- (34) Azzopardi EA, McWilliams B, Iyer S, Whitaker IS et al. Fluid resuscitation in adults with severe burns at risk of secondary abdominal compartment syndrome—An evidence based systematic review. *Burns* 2009; 35; 911–920.
- (35) Alvarado R, Chung KK, Cancio LC, Wolf SE et al. Burn Resuscitation. *Burns* 2009; 35; 4–14.

## 10.ANEXOS:

### 10.1. Ficha de coleta de dados gerais

Anexo 1. Ficha para coleta de dados dos pacientes de Santa Maria

Nome:

Prontuário:

Idade:

Sexo:

Peso:

Altura:

Data de internação:

Horário da internação:

Doenças prévias? ( ) sim ( ) não Qual?-----

Complicações na chegada:

Presença de: ( ) cateter central ( ) SNE ( ) SVD ( ) linha arterial

( ) dreno de tórax ( ) TET ( ) outros

Superfície corporal queimada estimada em:

Queimadura predominante em:

Escarotomia no dia:

Fasciotomia no dia:

Infecção cutânea?

Recebeu profilaxia tétano? ( ) sim ( ) não

Dialisou? ( ) sim ( ) não Início de diálise dia:

Término dia:

Ventilação mecânica: ( ) sim ( ) não Início dia:

Término dia:

Extubação dia:

Necessidade de reintubação? ( ) sim ( ) não

PAV? ( ) sim ( ) não diagnóstico no dia.....da internação

Diagnóstico de sepse dia:

Fibrobroncoscopia dia:

Resultado da fibrobroncoscopia:

Complicações da internação: ( ) barotrauma ( ) broncoespasmo

( ) atelectasias ( ) PCR

Necessidade de transfusão: ( ) sim ( ) não

Data alta CTI:

Data alta hospitalar:

Condições da alta: ( ) vivo ( ) óbito

Dosagem de cianeto? ( ) sim ( ) não