

Edison Moraes Rodrigues Filho^{1,2}, Nilo Ikuta^{1,2,3},
Daniel Simon^{1,2}, Andrea Pereira Regner^{1,2}

Valor prognóstico dos níveis de DNA circulante em pacientes graves e em pacientes com trauma

Prognostic value of circulating DNA levels in critically ill and trauma patients

1. Laboratório de Biomarcadores do Trauma, Universidade Luterana do Brasil - Canoas (RS), Brasil.
2. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, Universidade Luterana do Brasil - Canoas (RS), Brasil.
3. Simbios Biotecnologia - Canoas (RS), Brasil.

RESUMO

Nos últimos anos, o número de estudos que investigam os ácidos nucleicos circulantes como potenciais biomarcadores tem aumentado. A detecção desses biomarcadores é uma alternativa minimamente invasiva para o diagnóstico e o prognóstico de diversas condições clínicas. O valor dos níveis de DNA circulante como biomarcador preditivo foi demonstrado em pacientes com numerosas patologias agudas que apresentam riscos elevados de necessitar cuidados intensivos

e de sofrer mortalidade hospitalar. Os mecanismos pelos quais os níveis de DNA circulante aumentam em pacientes com essas condições ainda são obscuros. Nesta revisão, focalizamos o potencial uso deste biomarcador para predição prognóstica em pacientes graves e pacientes com trauma. A revisão da literatura foi feita por meio de busca no MedLine utilizando o PubMed em inglês.

Descritores: Doença crítica; Cuidados críticos; Ferimentos e lesões; Marcadores biológicos; Prognóstico; DNA/sangue

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, cresceu, de forma significativa, o número de estudos que investigam ácidos nucleicos circulantes como potenciais biomarcadores. A detecção desses biomarcadores é uma alternativa minimamente invasiva para o diagnóstico e o prognóstico de diversas condições clínicas. A presença de ácidos nucleicos extracelulares na corrente sanguínea foi inicialmente descrita por Mandel e Métais, em 1948.⁽¹⁾ Contudo, apenas nos últimos 15 anos, tem sido explorada a análise de ácidos nucleicos circulantes, particularmente o DNA circulante, em uma série de condições crônicas, inclusive neoplasias.⁽²⁾

O potencial dos níveis de DNA circulante como biomarcador foi demonstrado em pacientes com diversas patologias agudas, com risco elevado de necessitar tratamento intensivo e sofrer mortalidade hospitalar. O mecanismo por meio do qual ocorre aumento dos níveis plasmáticos de DNA em pacientes com essas condições permanece obscuro. As concentrações rapidamente elevadas de DNA circulante observadas em pacientes com diversas lesões agudas sugerem que o DNA extracelular se origine da necrose tissular.⁽³⁾ Em contraste, a apoptose pode contribuir para aumentos persistentes nos níveis de DNA circulante. A diminuição da depuração de DNA, causada pelo comprometimento da função orgânica, durante a inflamação sistêmica, pode também ser um fator que contribui para esse aumento.⁽⁴⁾

Conflitos de interesse: Nenhum.

Submetido em 15 de fevereiro de 2014

Aceito em 15 de julho de 2014

Autor correspondente:

Edison Moraes Rodrigues Filho
Centro de Pesquisa em Ciências Médicas da
Universidade Luterana do Brasil
Avenida Farroupilha, 8.001, prédio 22,
5º andar - São José
CEP: 92425-900 - Canoas (RS), Brasil
E-mail: vitangel@terra.com.br

Editor responsável: Felipe Dal Pizzol

DOI: 10.5935/0103-507X.20140043

MÉTODOS

Foi realizada uma revisão da literatura, por meio de busca no MedLine, utilizando o PubMed e os seguintes termos em inglês do *Medical Subject Heading* (MeSH): “*intensive care*”, “*critically ill*”, “*trauma*”, “*brain traumatic injury*”, “*free-serum DNA*”, e “*plasma DNA*”. Foi realizada uma busca focalizada, utilizando as referências contidas nos artigos. Os critérios de seleção das publicações foram: estudos clínicos e populações de pacientes adultos. Para as finalidades desta revisão, utilizamos os seguintes critérios de exclusão de artigos: queimaduras, acidentes vasculares e síndromes coronárias. Não fizemos restrições à data da publicação.

RESULTADOS

As publicações sobre DNA foram organizadas segundo as condições patológicas. Um tópico em especial discute os resultados dos artigos com relação ao DNA mitocondrial. Os dados relevantes, que estão resumidos nos quadros 1 e 2, estão respectivamente divididos entre trauma e outras condições sob cuidados críticos.

Níveis de DNA nuclear circulante em pacientes de trauma

Os escores de trauma foram introduzidos há mais de 30 anos para descrever alterações anatômicas e fisiológicas relacionadas à lesão traumática, assim como outras consequências das lesões. Os escores de trauma são ferramentas úteis para facilitar a triagem e o tratamento pré-hospitalar, gerando registros com terminologia consistente, descrevendo a gravidade das lesões, avaliando a qualidade dos cuidados e os desfechos clínicos, avaliando e comparando os sistemas de cuidados às vítimas de trauma, e padronizando definições para fins de epidemiologia, pesquisa e financiamento.^(2,3)

Quando um escore de trauma é utilizado, cria-se um modelo que é utilizado para prever o desfecho ou correlacionar com uma medida prognóstica. Esses modelos permitem previsões e comparações entre grupos de pacientes e sistemas de assistência às vítimas de trauma.^(2,3) Um único escore é individualmente adequado para tomadas de decisão com relação à triagem. Porém, as complexas consequências do trauma são mais bem descritas utilizando escores e modelos de previsão que incluem alterações anatômicas e fisiológicas, assim como a idade e a presença de comorbidades.^(2,3)

Nos últimos 30 anos, foram descritos numerosos sistemas de avaliação. Diversos desses escores foram aplicados regionalmente com sucesso, contudo, nenhum sistema de escore ou triagem foi universalmente aceito. Exames laboratoriais rápidos e amplamente disponíveis podem ser extremamente úteis nesse contexto.^(2,3)

Lo et al.⁽⁵⁾ avaliaram inicialmente os níveis circulantes de DNA em 84 pacientes de trauma cerca de 60 minutos após um trauma fechado. Os níveis de DNA nuclear circulante medidos foram mais altos em pacientes com níveis mais elevados de *Injury Severity Score*. Além disso, os níveis de DNA nuclear circulante foram 11,6 a 12 vezes mais altos em pacientes que tiveram complicações, como lesão pulmonar aguda, síndrome da angústia respiratória aguda e óbito, do que em pacientes que não apresentaram essas complicações.⁽⁵⁾

Rainer et al.⁽⁶⁾ mediram os níveis de DNA nuclear circulante em 83 pacientes de trauma. As amostras foram coletadas até 210 minutos após o trauma, e uma combinação de níveis de DNA nuclear circulante e transaminase alanina (ALT) previram falência pós-traumática de órgãos e síndrome de falência de múltiplos órgãos em, respectivamente, 93% e 87% dos pacientes.

Lam et al.⁽⁴⁾ estudaram o perfil cinético de níveis de DNA circulante em duas populações de pacientes de

Quadro 1 - Características dos estudos em trauma incluídos

Fonte	Delineamento	N	Condição	Técnica/primer genético	Fonte do DNA	Resultados
Lam et al. ⁽⁴⁾	Prospectivo observacional	61	Trauma	qPCR/gene beta-globina	Nuclear	Mais alto em pacientes com lesões graves e nos que desenvolveram falência de órgãos
Lo et al. ⁽⁵⁾	Prospectivo observacional	84	Trauma	qPCR/gene beta-globina	Nuclear	Mais alto em pacientes com ISS elevado e pacientes que tiveram complicações
Rainer et al. ⁽⁶⁾	Prospectivo observacional	83	Trauma	qPCR/gene beta-globina	Nuclear	Combinado com transaminase alanina previu falência pós-traumática de órgãos e síndrome de falência de múltiplos órgãos
Campello Yurgel et al. ⁽⁷⁾	Prospectivo observacional	41 homens	TCE	qPCR/gene beta-globina	Nuclear	Níveis mais altos em pacientes que morreram na UTI
Macher et al. ⁽⁸⁾	Prospectivo observacional	65	TCE	qPCR/gene beta-globina	Nuclear	Níveis mais altos em pacientes que morreram no hospital

qPCR - reação quantitativa de cadeia de polimerase; ISS - *injury severity score*; TCE - trauma crânioencefálico; UTI - unidade de terapia intensiva.

Quadro 2 - Características dos estudos incluídos em unidade de terapia intensiva

Fonte	Delineamento	N	Condição	Técnica/primer genético	Fonte do DNA	Resultados
Rhodes et al. ⁽⁹⁾	Prospectivo observacional	19	Sepse	qPCR/gene beta-globina	Nuclear	Níveis mais altos em pacientes que desenvolveram sepse e em pacientes que morreram na UTI ou no hospital
Saukkonen et al. ⁽¹⁰⁾	Prospectivo observacional	255	Sepse e choque séptico	qPCR/gene beta-globina	Nuclear	Níveis mais altos em pacientes que morreram no hospital
Moreira et al. ⁽¹¹⁾		110	Febril		Nuclear	Níveis correlacionados com a gravidade da infecção
Ha et al. ⁽¹²⁾	Caso-controle com base hospitalar	192	Dengue hemorrágica	qPCR/gene GAPDH	Nuclear	Níveis correlacionados com a gravidade da dengue e choque
Huttunen et al. ⁽¹³⁾	Prospectivo observacional	132	Bacteremia	Ensaio Quant-iT® dsDNA HS	Nuclear	Níveis altos foram um fator independente de risco para óbito
Wijeratne et al. ⁽¹⁴⁾	Prospectivo observacional	94	Predição prognóstica	qPCR/gene beta-globina	Nuclear	Níveis mais altos em pacientes que necessitaram de ventilação mecânica e não sobreviventes
Saukkonen et al. ⁽¹⁵⁾	Prospectivo observacional	228	Predição prognóstica	qPCR/gene beta-globina	Nuclear	O nível máximo foi um preditor independente de mortalidade hospitalar
Okkonen et al. ⁽¹⁶⁾	Prospectivo observacional	580	Predição prognóstica	qPCR/gene beta-globina	Nuclear	O nível de DNA circulante na avaliação basal foi um preditor independente da mortalidade em 90 dias
Arnalich et al. ⁽¹⁷⁾	Prospectivo observacional	85	Parada cardíaca	qPCR/gene beta-globina	Nuclear	Níveis mais altos por ocasião da admissão em pacientes que morreram dentro de 24 horas ou no hospital
Huang et al. ⁽¹⁸⁾	Prospectivo observacional	42	Parada cardíaca	qPCR/gene beta-globina	Nuclear	Preditor independente para mortalidade hospitalar e associado com mortalidade em 90 dias mais elevada
Gornik et al. ⁽¹⁹⁾	Prospectivo observacional	67	Parada cardíaca	qPCR/gene da telomerase da transcriptase reversa humana	Nuclear	Nível a 24 horas após admissão à UTI foi independentemente associado com mortalidade hospitalar
Gornik et al. ⁽²⁰⁾	Prospectivo observacional	30	Pancreatite	qPCR/gene da telomerase da transcriptase reversa humana	Nuclear	Níveis mais altos no primeiro dia se correlacionaram com a extensão da necrose e foram um bom preditor da gravidade
Gornik et al. ⁽²¹⁾	Prospectivo observacional	104	Pancreatite	qPCR/gene da telomerase da transcriptase reversa humana	Nuclear	Níveis mais altos no primeiro dia se correlacionaram com a gravidade
Nakahira et al. ⁽²²⁾	Prospectivo observacional	443	Predição prognóstica	qPCR/gene da NADH desidrogenase 1 humana	Mitocondrial	Níveis mais altos se associaram com mortalidade na UTI

qPCR - reação quantitativa de cadeia de polimerase; UTI - unidade de terapia intensiva; GAPDH - desidrogenase gliceraldeído-3-fosfato; dsDNA - ácido desoxirribonucleico de dupla hélice; HS - alta sensibilidade; NADH - reduzido com dinucleotídeo de nicotinamida e adenina.

trauma. Na primeira população, as amostras foram coletadas de 25 pacientes a cada 20 minutos por 3 horas após o trauma. Na segunda população, em 36 pacientes admitidos à unidade de terapia intensiva (UTI), foi coletada uma amostra diária. Na primeira população, os níveis de DNA nuclear circulante aumentaram 20 minutos após o trauma e foram significativamente mais altos em pacientes com trauma mais grave e naqueles que desenvolveram falência de múltiplos órgãos. Na segunda população, os níveis de DNA nuclear circulante foram mais elevados em pacientes que desenvolveram falência de múltiplos órgãos entre o segundo e o quarto dia após a admissão à UTI. Em pacientes com falência de múltiplos órgãos persistente que permaneceram na UTI, os níveis de DNA nuclear circulante permaneceram elevados por 28 dias após o trauma. A maioria dos pacientes sobreviventes com disfunção de múltiplos órgãos apresentou um pico inicial extremamente alto de níveis de DNA nuclear circulante, seguido por um aumento sustentado menor.

Níveis de DNA nuclear circulante em pacientes com trauma cranioencefálico

Globalmente, o trauma é uma importante causa de morte em indivíduos abaixo dos 45 anos de idade. Até metade dos óbitos nesse grupo é causada por traumatismos do cérebro.^(24,25) É importante estabelecer critérios prognósticos para o tratamento efetivo de pacientes com trauma cranioencefálico (TCE) grave, pois a identificação precisa de pacientes em maior risco demanda um preditor efetivo. A escala de coma de Glasgow (ECG) é um dos preditores de curto prazo mais importantes após TCE.⁽²⁶⁾ Embora a ECG seja útil na fase aguda, a escala Glasgow de desfechos (*Glasgow outcome scale - GOS*) é a mais amplamente utilizada para avaliar o prognóstico após TCE e outras lesões cerebrais não traumáticas, em médio e longo prazo.⁽²⁷⁾ Entretanto, condições associadas e o baixo valor preditivo, na avaliação clínica de pacientes com TCE grave, complicam a identificação de pacientes com risco

umentado de desenvolver lesão cerebral secundária e morte.⁽²⁸⁾ É necessário um biomarcador prático e sensível para permitir identificar esses pacientes o quanto antes, proporcionando a possibilidade de intervenções mais precoces.⁽²⁹⁾

Consequentemente, tem sido devotados cada vez mais esforços para o desenvolvimento de novos biomarcadores. Os potenciais biomarcadores para dano cerebral incluem as proteínas S100B, C-tau, enolase neurônio-específica e Hsp70.⁽³⁰⁾ Entretanto, nenhuma dessas proteínas foi estabelecida como um marcador largamente aplicável para prever dano cerebral.

Campello Yurgel et al.⁽⁷⁾ investigaram os níveis de DNA nuclear circulante em 41 vítimas do sexo masculino que apresentavam TCE isolado ou TCE associado com lesões extracerebrais. Os resultados indicaram significativa correlação entre níveis mais altos de DNA nuclear circulante nas primeiras 24 horas após TCE grave e óbito. Além do mais, níveis elevados de DNA nuclear circulante pareceram se correlacionar com mortalidade mais elevada.

Recentemente, Macher et al.⁽⁸⁾ investigaram os níveis de DNA nuclear circulante em 65 pacientes com TCE grave durante as primeiras 96 horas após admissão à UTI. Após um pico inicial dos níveis de DNA nuclear circulante, foi detectada entre os sobreviventes uma maior redução dos níveis de DNA nuclear circulante dentro das primeiras 24 horas do que entre os não sobreviventes.

Níveis de DNA nuclear circulante em pacientes com sepse

Sepse grave e choque séptico são importantes causas de óbito na UTI, com uma taxa de mortalidade que varia entre 30 e 60%.^(31,32) Diversos biomarcadores foram avaliados para prever a mortalidade e a morbidade em pacientes sépticos, contudo nenhum desses marcadores se comprovou útil na prática clínica.⁽³³⁾

Martins et al.⁽³⁴⁾ foram os primeiros autores a descreverem a presença de DNA circulante em um pequeno grupo de pacientes sépticos. Subsequentemente, Rhodes et al.⁽⁹⁾ avaliaram os níveis de DNA nuclear circulante em 52 pacientes de UTI, sendo que 19 desses pacientes desenvolveram sepse grave ou choque séptico. As mensurações de DNA nuclear circulante demonstraram níveis mais elevados observados em pacientes que desenvolveram sepse e em pacientes que morreram na UTI ou no hospital. Os níveis de DNA nuclear circulante foram um preditor independente de mortalidade. A sensibilidade e a especificidade dos níveis de DNA nuclear circulante, para prever

óbito em pacientes de UTI, foram, respectivamente, de 92 e 80%, quando se utilizaram concentrações superiores a 127ng/mL.

Saukkonen et al.⁽¹⁰⁾ avaliaram os níveis de DNA nuclear circulante em 255 pacientes com sepse grave e choque séptico por ocasião da admissão à UTI e 72 horas após a admissão à UTI. Em ambos os momentos de avaliação, os níveis de DNA nuclear circulante foram significativamente mais altos nos não sobreviventes do que nos sobreviventes. Além disso, os níveis de DNA nuclear circulante foram mais altos em pacientes que não sobreviveram à hospitalização do que nos que sobreviveram. Notavelmente, os níveis de DNA nuclear circulante, no primeiro dia na UTI, foram um preditor independente de mortalidade.

Moreira et al.⁽¹¹⁾ mediram os níveis de DNA nuclear circulante de procalcitonina e proteína C-reativa em 110 pacientes com diagnóstico de febre origem desconhecida, infecção localizada, sepse ou choque séptico. Os níveis de DNA nuclear circulante se correlacionaram com a gravidade da infecção. Os melhores limites para predição de infecção e sepse foram, respectivamente, de 2.800GE/mL e 14.000GE/mL. É importante ressaltar que foram encontradas concentrações mais altas de níveis de DNA nuclear circulante em não sobreviventes do que em pacientes sobreviventes. Além disso, a eficiência diagnóstica dos níveis de DNA nuclear circulante foi similar à eficiência dos níveis de procalcitonina e da proteína C-reativa. Assim, os resultados indicaram que níveis normais de DNA nuclear circulante podem excluir a presença de infecção em pacientes febris, enquanto concentrações elevadas indicam uma infecção grave e apresentam um elevado valor prognóstico para prever mortalidade, na ausência de outras causas que justifiquem os valores elevados.

Ha et al.⁽¹²⁾ avaliaram os níveis de DNA nuclear circulante em 192 pacientes com dengue hemorrágica e relataram que níveis de DNA nuclear circulante mais elevados se correlacionaram com a gravidade da doença e a presença de choque.

Huttunen et al.⁽¹³⁾ avaliaram os níveis de DNA nuclear circulante em 132 pacientes com bacteremia causada por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus β-hemolyticus* e *Escherichia coli*. Os valores máximos obtidos entre 1 e 4 dias após as primeiras hemoculturas positivas foram significativamente mais elevados nos não sobreviventes do que nos sobreviventes. Esses valores demonstraram um poder discriminatório de 0,81 para prever óbito. Níveis elevados (1,52mg/mL) de DNA nuclear circulante foram um fator independente de risco para óbito. Assim, a maioria

dos óbitos em pacientes com bacteremia séptica e alguns óbitos em pacientes com infecções virais graves parecem ser resultados de uma inadequada resposta imune, que é causada por extensa morte de células imunes. Esse processo é também chamado de imunoparalisia da sepse.⁽³⁵⁾

Níveis de DNA nuclear circulante para predição prognóstica em pacientes gravemente enfermos

Nas últimas três décadas foram utilizados diversos escores prognósticos para prever a gravidade em pacientes gravemente enfermos. Os principais escores utilizados para prever o prognóstico em pacientes adultos gravemente enfermos são o *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation* (APACHE), o *Simplified Acute Physiology Change* (SAPS) e o Modelo de Probabilidade de Morte (MPM).⁽³⁶⁾ As variáveis preditivas comumente utilizadas nesses escores são idade, presença de comorbidades, alterações fisiológicas, diagnósticos agudos e vieses em função do tempo, pois o tratamento e a mensuração são realizados em diferentes momentos. Contudo, esses escores demandam constante atualização,⁽³⁷⁾ pois se deterioram com o tempo e perdem sua capacidade discriminatória e sua calibração. Mais ainda, esses escores prognósticos geralmente assumem que valores não disponíveis são normais, o que pode afetar, de forma negativa, seu desempenho.⁽³⁸⁾ Fatores como as preferências dos pacientes para o suporte à vida, as respostas individuais à doença, os efeitos do ambiente e do tratamento também influenciam os desfechos e podem não estar incluídos nos modelos preditivos. Em sua maioria, os modelos preditivos não incluem uma medida dos vieses em função do tempo. Em teoria, muitas limitações dos tradicionais modelos de predição poderiam ser contornadas pela coleta precoce de amostras para exames laboratoriais, como o exame de ácidos nucleicos livres.

Wijeratne et al.⁽¹⁴⁾ investigaram inicialmente 94 pacientes e o valor prognóstico dos níveis de DNA nuclear circulante medidos por ocasião de sua admissão à UTI. Os níveis de DNA nuclear circulante se correlacionaram com os níveis de proteína C-reativa e o escore *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA). Além disso, os pacientes que demandaram ventilação mecânica e os que não sobreviveram tiveram níveis de DNA nuclear circulante significativamente mais elevados. O melhor limite para predição de óbito foi 6.109GE/mL.

Saukkonen et al.⁽¹⁵⁾ estudaram 228 pacientes admitidos em uma UTI clínica e duas UTIs clínico-cirúrgicas. As amostras foram coletadas por ocasião da admissão, na manhã seguinte e 48 horas após a segunda amostra. O pico dos níveis de DNA nuclear circulante se correlacionou

significativamente com os escores APACHE II e SOFA máximo. Além disso, os níveis de DNA nuclear circulante, por ocasião da admissão ao hospital, foram mais altos nos pacientes que não sobreviveram do que nos sobreviventes, e o nível de DNA nuclear circulante foi um preditor independente de mortalidade hospitalar.

Okkonen et al.⁽¹⁶⁾ estudaram 580 pacientes que necessitaram de ventilação mecânica invasiva ou não invasiva por mais de 6 horas em 25 UTI finlandesas. As amostras para determinação dos níveis de DNA nuclear circulante foram coletadas por ocasião da admissão e 2 dias mais tarde. Os níveis de DNA nuclear circulante, por ocasião da admissão, foram significativamente mais elevados nos pacientes que não sobreviveram até o 90º dia, e os níveis de DNA nuclear circulante >16.000GE/mL foram preditores independentes de óbito.

Níveis de DNA nuclear circulante em pacientes com parada cardiorrespiratória

Apesar dos avanços em ressuscitação cardiopulmonar, as taxas de sobrevivência para pacientes que tiveram uma parada cardiorrespiratória fora do hospital não melhoraram.⁽³⁹⁾ Variáveis clínicas da história do paciente, variáveis relacionadas com a ressuscitação cardiopulmonar e com o período após a ressuscitação, e diversos biomarcadores foram examinados com finalidades prognósticas. Contudo, nenhum desses fatores se comprovou efetivo.

Assim sendo, Arnalich et al.⁽¹⁷⁾ avaliaram os níveis de DNA nuclear circulante em 85 vítimas de parada cardiorrespiratória fora do hospital que tiveram um retorno sustentado da circulação espontânea após cerca de 27 minutos. Dentre os 85 pacientes estudados, 30 morreram dentro de 24 horas e 58 pacientes morreram durante a hospitalização. Os níveis de DNA nuclear circulante foram significativamente mais elevados nos pacientes que não sobreviveram até 24 horas e em pacientes que morreram durante a hospitalização, do que nos sobreviventes. O melhor nível de corte para predição de mortalidade após 24 horas foi de 4.340GE/mL, e o melhor nível de corte para predição de mortalidade hospitalar foi de 3.485GE/mL. O risco de morrer dentro de 24 horas e durante a hospitalização aumentou, respectivamente, em 1,75 e 1,36 vez para cada aumento de 500GE/mL nos níveis de DNA nuclear circulante.

Huang et al.⁽¹⁸⁾ avaliaram 42 vítimas de parada cardiorrespiratória fora do hospital. Os níveis de DNA nuclear circulante medidos dentro de 2 horas após o evento foram mais elevados nos pacientes não sobreviventes do que nos sobreviventes, e um valor >1.170GE/mL foi um preditor independente de mortalidade hospitalar após 90 dias.

Gornik et al.⁽¹⁹⁾ avaliaram recentemente 67 vítimas de parada cardiorrespiratória não traumática ocorrida fora do hospital em três UTI de hospitais universitários. Os níveis de DNA nuclear circulante foram medidos por ocasião da admissão e 24±1 horas após a admissão. A análise multivariada demonstrou que o período de “baixo fluxo” e os níveis de DNA nuclear circulante 24 horas após admissão à UTI se associaram independentemente com mortalidade hospitalar. A curva ROC (sigla do inglês *Receiver Operating Characteristic*), para os níveis de DNA nuclear circulante 24 horas após a admissão, mostrou sensibilidade de 81,0% e especificidade de 78,3% para o valor de corte de 0,115ng/μL.

Níveis de DNA nuclear circulante em pacientes com pancreatite

A pancreatite aguda é, tipicamente, uma doença de gravidade considerada leve. No entanto, cerca de 20% dos pacientes têm doença grave, com complicações locais e sistêmicas, e elevada mortalidade. A identificação precoce desse subgrupo de pacientes é crítica, pois o tratamento precoce pode reduzir a morbidade e a mortalidade. Os métodos utilizados para estratificação de risco incluem os escores de Ranson e o APACHE II, assim como os níveis de proteína C-reativa. A tomografia computadorizada de abdome também é útil para avaliar necrose pancreática,⁽⁴⁰⁾ que é um importante determinante da gravidade.

Gornik et al.⁽²⁰⁾ mediram inicialmente os níveis de DNA nuclear circulante em 30 pacientes com pancreatite, utilizando amostras coletadas por ocasião da admissão e após 1 dia, 4 dias e 7 dias. Os pacientes que desenvolveram pancreatite grave tiveram níveis de DNA nuclear circulante significativamente mais elevados no primeiro dia do que aqueles com doença leve. Os níveis de DNA nuclear circulante também se correlacionaram com a extensão da necrose e se revelaram como um bom preditor da gravidade (AUC da curva ROC=0,97).

Gornik et al.⁽²¹⁾ ampliaram seus estudos iniciais, determinando os níveis de DNA nuclear circulante em 104 pacientes com pancreatite. Um total de 33 pacientes cumpria os critérios para doença grave, e 71 pacientes tinham doença leve. Dentre os pacientes com pancreatite grave, 28 foram admitidos à UTI. As amostras foram coletadas no primeiro dia. Os níveis de DNA nuclear circulante foram mais baixos nos pacientes com doença leve do que naqueles com doença grave. Além disso, os níveis de DNA nuclear circulante diferenciaram os pacientes com doença grave daqueles com doença leve com elevadas sensibilidade

e especificidade (90,9 e 88,7%, respectivamente), utilizando um valor de corte de >0,304ng/μL. Esse nível de DNA nuclear circulante foi mais sensível e específico do que os níveis de proteína C-reativa, escore APACHE II e escore de Ranson.

Níveis de DNA mitocondrial circulante

Outras espécies de DNA celular livre, como mtDNA celular livre, estão sob avaliação quanto à sua relevância clínica.⁽⁴¹⁾ Até aqui, foi demonstrado que o mtDNA é mais sensível ao dano oxidativo do que o DNA nuclear.⁽⁴¹⁾

Essa observação abriu oportunidades estimulantes para avaliação diagnóstica não invasiva, que podem ser realizadas com elevada precisão e custos razoáveis.

Estudos iniciais têm sugerido que os níveis de mtDNA circulantes estão aumentados em resposta a estímulos, como trauma⁽⁴²⁾ e sepse.⁽⁴³⁾

Nakahira et al.⁽²²⁾ recentemente avaliaram amostras de sangue obtidas de dois estudos observacionais e prospectivos de coorte realizados com pacientes de UTI (n=443). Os pacientes de UTI clínica com níveis de mtDNA circulantes elevados (≥3.200 cópias/mL de plasma) tiveram tendências aumentadas a morrer dentro de 28 dias após a admissão à UTI em ambas as coortes (*odds ratio* - OR: 7,5-8,4). Nakahira et al. demonstraram que níveis elevados de mtDNA circulantes melhoram a predição de risco em pacientes de UTI clínica.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos apresentados nesta revisão demonstram que os níveis de DNA circulante podem ser uma valiosa ferramenta para diagnóstico e predição prognóstica em uma série de doenças graves. Os níveis de DNA circulante podem facilitar a estratificação de pacientes, particularmente quando uma ou mais medidas são realizadas precocemente, durante a evolução do quadro. Entretanto, diferentes sequências genômicas utilizadas para amplificação e o tamanho pequeno das amostras limitam a extrapolação desses estudos. Assim, são necessários futuros estudos, com amostras maiores de pacientes, para padronizar a técnica e definir pontos de corte mais precisos.

AGRADECIMENTOS

O presente estudo teve apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), com bolsa número 568691/2008-3, e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), com bolsa número PPSUS 09/0041-5.

ABSTRACT

The number of studies investigating circulating nucleic acids as potential biomarkers has increased in recent years. The detection of such biomarkers is a minimally invasive alternative for the diagnosis and prognosis of various clinical conditions. The value of circulating DNA levels as a predictive biomarker has been demonstrated in patients suffering from numerous acute pathologies that have a high risk of intensive care needs

and in-hospital deaths. The mechanism by which circulating DNA levels increase in patients with these conditions remains unclear. In this review, we focused on the potential use of this biomarker for prognosis prediction in critically ill and trauma patients. The literature review was performed by searching MedLine using PubMed in the English language.

Keywords: Critical illness; Critical care; Wounds and injuries; Biological markers; Prognosis; DNA/blood

REFERÊNCIAS

- Mandel P, Métais P. Les acides nucléiques du plasma sanguin chez l'homme. *C R Acad Sci Paris*. 1948;142:241-3.
- van der Vaart M, Pretorius PJ. Is the role of circulating DNA as a biomarker of cancer being prematurely overrated? *Clin Biochem*. 2010;43(1-2):26-36.
- Ziegler A, Zangemeister-Wittke U, Stahel RA. Circulating DNA: a new diagnostic gold mine? *Cancer Treat Rev*. 2002;28(5):255-71.
- Lam NY, Rainer TH, Chan LY, Joynt GM, Lo YM. Time course of early and late changes in plasma DNA in trauma patients. *Clin Chem*. 2003;49(8):1286-91.
- Lo YM, Rainer TH, Chan LY, Hjelm NM, Cocks RA. Plasma DNA as a prognostic marker in trauma patients. *Clin Chem*. 2000;46(3):319-23.
- Rainer TH, Lo YM, Chan LY, Lam NY, Lit LC, Cocks RA. Derivation of a prediction rule for posttraumatic organ failure using plasma DNA and other variables. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;945:211-20.
- Campello Yurgel V, Ikuta N, Brondani da Rocha A, Lunge VR, Fett Schneider R, Kazantzi Fonseca AS, et al. Role of plasma DNA as a predictive marker of fatal outcome following severe head injury in males. *J Neurotrauma*. 2007;24(7):1172-81.
- Macher H, Egea-Guerrero JJ, Revuelto-Rey J, Gordillo-Escobar E, Enamorado-Enamorado J, Boza A, et al. Role of early cell-free DNA levels decreased as a predictive marker of fatal outcome after severe traumatic brain injury. *Clin Chem Acta*. 2012;414:12-7.
- Rhodes A, Wort SJ, Thomas H, Collinson P, Benett ED. Plasma DNA concentration as a predictor of mortality and sepsis in critically ill patients. *Crit Care*. 2006;10(2):R60.
- Saukkonen K, Lakkisto P, Pettilä V, Varpula M, Karlsson S, Ruokonen E, Pulkki K; Finnsepsis Study Group. Cell-free plasma DNA as a predictor of outcome in severe sepsis and septic shock. *Clin Chem*. 2008;54(6):1000-7.
- Moreira VG, Prieto B, Rodríguez JS, Alvarez FV. Usefulness of cell-free plasma DNA, procalcitonin and C-reactive protein as markers of infection in febrile patients. *Ann Clin Biochem*. 2010;47(Pt 3):253-8.
- Ha TT, Huy NT, Murao LA, Lan NT, Thuy TT, Tuan HM, et al. Elevated levels of cell-free circulating DNA in patients with acute dengue virus infection. *PLoS One*. 2011;6(10):e25969.
- Huttunen R, Kuparinen T, Jylhävä J, Aittoniemi J, Vuento R, Huhtala H, et al. Fatal outcome in bacteremia is characterized by high plasma cell free DNA concentration and apoptotic DNA fragmentation: a prospective cohort study. *PLoS One*. 2011; 6(7):e21700.
- Wijeratne S, Butt A, Burns S, Sherwood K, Boyd O, Swaminathan R. Cell-free plasma DNA as a prognostic marker in intensive treatment unit patients. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1022:232-8.
- Saukkonen K, Lakkisto P, Varpula M, Varpula T, Voipio-Pulkki LM, Pettilä V, et al. Association of cell-free plasma DNA with hospital mortality and organ dysfunction in intensive care unit patients. *Intensive Care Med*. 2007;33(9):1624-7.
- Okkonen M, Lakkisto P, Korhonen AM, Parviainen I, Reinikainen M, Varpula T, Pettilä V; FINNALI Study Group. Plasma cell-free DNA in patients needing mechanical ventilation. *Crit Care*. 2011;15(4):R196.
- Arnalich F, Menéndez M, Lagos V, Ciria E, Quesada A, Codoceo R, et al. Prognostic value of cell-free plasma DNA in patients with cardiac arrest outside the hospital: an observational cohort study. *Crit Care*. 2010;14(2):R47.
- Huang CH, Tsai MS, Hsu CY, Chen HW, Wang TD, Chang WT, et al. Circulating cell-free DNA levels correlate with postresuscitation survival rates in out-of-hospital cardiac arrest patients. *Resuscitation*. 2012;83(2):213-8.
- Gornik I, Wagner J, Gasparović V, Milicic D, Degoricija V, Skoric B, et al. Prognostic value of cell-free DNA in plasma of out-of-hospital cardiac arrest survivors at ICU admission and 24h post-admission. *Resuscitation*. 2014;85(2):233-7.
- Gornik I, Wagner J, Gasparović V, Lauc G, Gornik O. Free serum DNA is an early predictor of severity in acute pancreatitis. *Clin Biochem*. 2009; 42(1-2):38-43.
- Gornik O, Gornik I, Wagner J, Radić D, Lauc G. Evaluation of cell-free DNA in plasma and serum as early predictors of severity in acute pancreatitis. *Pancreas*. 2011;40(5):787-8.
- Nakahira K, Kyung SY, Rogers AJ, Gazourian L, Youn S, Massaro AF, et al. Circulating mitochondrial DNA in patients in the ICU as a marker of mortality: derivation and validation. *PLoS Med*. 2013;10(12):e1001577; discussion e1001577.
- Champion HR. Trauma scoring. *Scand J Surg*. 2002;91(1):12-22. Review.
- Gennarelli TA. Mechanisms of brain injury. *J Emerg Med*. 1993;11 Suppl 1:5-11. Review.
- Jennett B. Epidemiology of head injury. *Arch Dis Child*. 1998;78(5):403-6.
- Balestreri M, Czosnyka M, Chatfield DA, Steiner LA, Schmidt EA, Smielewski P, et al. Predictive value of Glasgow Coma Scale after brain trauma: change in trend over the past ten years. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004;75(1):161-2.
- Wilson JT, Pettigrew LE, Teasdale GM. Structured interviews for the Glasgow Outcome Scale and the extended Glasgow Outcome Scale: guidelines for their use. *J Neurotrauma*. 1998;15(8):573-85.
- Ghajar J. Traumatic brain injury. *Lancet*. 2000;356(9233):923-9.
- Townend WJ, Guy MJ, Pani MA, Martin B, Yates DW. Head injury outcome prediction in the emergency Department: a role for protein S-100B? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002;73(5):542-6.
- Oliveira CO, Ikuta N, Regner A. Outcome biomarkers following severe traumatic brain injury. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2008;20(4):411-21.
- Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*. 2001;29(7):1303-10.
- Alberti C, Brun-Buisson C, Burchard H, Martin C, Goodman S, Artigas A, et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med*. 2002;28(2):108-21. Erratum in: *Intensive Care Med*. 2002;28(4):525-6.
- Kibe S, Adams K, Barlow G. Diagnostic and prognostic biomarkers of sepsis in critical care. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66 Suppl 2:ii33-40.
- Martins GA, Kawamura MT, Carvalho Mda G. Detection of DNA in the plasma of septic patients. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;906:134-40.
- Hotchkiss RS, Nicholson DW. Apoptosis and caspases regulate death and inflammation in sepsis. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(11):813-22.

36. Keegan MT, Gajic O, Afessa B. Severity of illness scoring systems in the intensive care unit. *Crit Care Med.* 2011;39(1):163-9.
37. Afessa B, Gajic O, Keegan MT. Severity of illness and organ failure assessment in adult intensive care units. *Crit Care Clin.* 2007;23(3):639-58.
38. Afessa B, Keegan MT, Gajic O, Hubmayr RD, Peters SG. The influence of missing components of the Acute Physiology Score of APACHE III on the measurement of ICU performance. *Intensive Care Med.* 2005;31(11):1537-43.
39. Fairbanks RJ, Shah MN, Lerner EB, Ilangovan K, Pennington EC, Schneider SM. Epidemiology and outcomes of out-of-hospital cardiac arrest in Rochester, New York. *Resuscitation.* 2007;72(3):415-24.
40. Balthazar EJ. Staging of acute pancreatitis. *Radiol Clin North Am.* 2002;40(6):1199-209.
41. Chan SW, Chevalier S, Aprikian A, Chen JZ. Simultaneous quantification of mitochondrial DNA damage and copy number in circulating blood: a sensitive approach to systemic oxidative stress. *Biomed Res Int.* 2013;2013:157547.
42. Zhang Q, Raoof M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, et al. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature.* 2010; 464(7285):104-7.
43. Kung CT, Hsiao SY, Tsai TC, Su CM, Chang WN, Huang CR, et al. Plasma nuclear and mitochondrial DNA levels as predictors of outcome in severe sepsis patients in the emergency room. *J Transl Med.* 2012;10:130.