



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA

Gláucia Regina Nogueira

**Influência dos polimorfismos TaqI e BsmI do
gene do receptor de vitamina D no surgimento
de infecção, tempo de internação e mortalidade
em pacientes queimados**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do título de Mestre em “Fisiopatologia em Clínica Médica”

Orientador: Prof. Dr. *Marcos Ferreira Minicucci*

Co-orientador: Prof. Dr. *Sandro José Conte*

Botucatu
2015

Gláucia Regina Nogueira

Influência dos polimorfismos TaqI e BsmI do gene do receptor de vitamina D no surgimento de infecção, tempo de internação e mortalidade em pacientes queimados

Dissertação Apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” para obtenção do título de Mestre em Fisiopatologia em Clínica Médica

Orientador: Prof. Dr. *Marcos Ferreira Minicucci*

Co-orientador: Prof. Dr. *Sandro Conte*

UNESP-Botucatu
2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Nogueira, Gláucia Regina.

Influência dos polimorfismos Taq1 e Bsm1 do gene do receptor de vitamina D no surgimento de infecção, tempo de internação e mortalidade em pacientes queimados / Gláucia Regina Nogueira. - Botucatu, 2015

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Marcos Ferreira Minicucci

Coorientador: Sandro José Conde

Capes: 40500004

1. Polimorfismo (Genética). 2. Queimaduras - Complicações e sequelas. 3. Vitamina D. 4. Genes.

Palavras-chave: polimorfismos; queimaduras; vitamina D.

Dedicatória

À minha filha LUÍSA, presente
precioso de DEUS, a quem dedico
amor eterno.

Ao meu esposo EDSON, que me
apoia e me acompanha sem
medir esforços. Obrigada por
todo amor e atenção dedicados.

À MINHA FAMÍLIA por todo apoio,
incentivo e carinho. Em especial à
minha mãe CLEONICE pela
presença, auxílio e cuidado.

Aos meus irmãos GLEICE,
WELLINTON e EVERTON, a quem
tenho carinho especial.

À DEUS que é essencial na minha vida. Obrigada por seu imenso amor por mim, pelo cuidado e proteção constantes.

Agradecimentos Especiais

Prof. Assist. Dr. MARCOS FERREIRA MINICUCCI pelo privilégio de tê-lo como orientador deste trabalho, pela humildade, paciência, generosidade, humanidade e incentivo que sempre demonstrou durante esse período, pois sem dúvida, seu modo de ser e palavras de incentivo foram fundamentais para que eu não desistisse e alcançasse esta conquista. Obrigada por contribuir de maneira tão especial com meu crescimento profissional.

Prof. Dr. SANDRO JOSÉ CONDE pela realização das dosagens dos polimorfismos, pela atenção, gentileza e conhecimentos prestados com tanta generosidade.

Prof. Titular SERGIO PAIVA e Prof. Adj. LEONARDO ZORNOFF pela contribuição durante a prova de qualificação, importante para melhoria deste trabalho.

Agradecimentos

Ao HOSPITAL ESTADUAL BAURI e Dra. CRISTIANE ROCHA pela oportunidade para a realização deste trabalho.

À toda equipe da UNIDADE DE TERAPIA DE QUEIMADOS e LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS pela recepção e colaboração durante a coleta de dados. Em especial à Enfermeira NATÁLIA G. VISONA e à Bióloga MÔNICA DA SILVEIRA pelo conhecimento e informações prestados sempre com muita gentileza e atenção.

Às amigas RENATA PINTO, LETÍCIA COSTA, HELENA M. ANTÔNIO e ELIANA CHAVES DE SOUZA pelo apoio, incentivo, conselhos e carinho sempre dedicados.

Às colegas de pós-graduação MILENE PERON, MARIA FERNANDA BIAGIONI, BRUNA RAFACHO, MARILA MARTINEZ e BRUNA PEREIRA pelo auxílio e conhecimentos compartilhados.

Prof. Adj. CARLOS ANTÔNIO CARAMORI, Prof. Adj. GILSON VOLPATO, Profa. Assist. Dra. PAULA SCHMIDT AZEVEDO GAIOLLA e Prof. Titlar SERGIO PAIVA pelos ensinamentos durante as disciplinas.

Ao colaborador MÁRIO AUGUSTO DALLAQUA, pela disponibilidade e generosidade na formatação deste trabalho.

Aos colaboradores da SECRETARIA DA PÓS-GRADUAÇÃO, da SECRETARIA DO DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA, da CENTRAL DE AULAS, da EXPERIMENTAL, da BIBLIOTECA e do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA, que sempre me atenderam com prontidão, clareza nas informações e muita atenção.

Sumário

Resumo	1
Abstract	4
Introdução	7
Objetivo	13
Casuística e Métodos	15
Resultados	19
Discussão	30
Conclusão	36
Referências	38

Resumo

Introdução: Alguns estudos mostraram que o processo inflamatório está relacionado à gravidade da queimadura. Nesse contexto, a utilização de estratégias para modular essa hiper-resposta inflamatória é bastante atrativa. Nos últimos anos, a vitamina D tem se destacado por sua ação anti-inflamatória e pela modulação da resposta imunológica. Parte das ações da vitamina D é mediada pelo receptor nuclear da vitamina D (VDR). Estudos recentes mostram que polimorfismos do gene do receptor VDR pode influenciar a resposta à vitamina D.

Objetivos: O objetivo deste estudo é avaliar a associação dos polimorfismos Taql e Bsml do gene VDR com o tempo de internação, o surgimento de infecção e a mortalidade em pacientes queimados.

Casuística e métodos: Foram incluídos prospectivamente os pacientes queimados, com idade ≥ 18 anos, que internaram na enfermaria e na Unidade de Terapia Intensiva do Setor de Tratamento de Queimados do Hospital Estadual Bauru. Os pacientes foram incluídos no período de janeiro de 2013 a janeiro de 2014. Na admissão dos pacientes foram registrados dados demográficos e clínicos foram registrados. Amostras sanguíneas foram coletadas na admissão dos pacientes para dosagem bioquímica, de 25 (OH) vitamina D e determinação dos polimorfismos Taql e Bsml do gene VDR. Os pacientes foram acompanhados durante toda a internação e o surgimento de infecção, o tempo de internação e a mortalidade foram registrados. Para avaliar a associação dos polimorfismos com o tempo de internação utilizamos a análise de regressão linear simples e múltipla. Para avaliar a associação dos polimorfismos com o surgimento de infecção e mortalidade utilizamos a análise de regressão logística. O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados: Foram avaliados 87 pacientes, mas em 7 deles, devido problemas técnicos, não foram avaliados os polimorfismos do receptor da vitamina D, Taql e Bsml, por isso apenas 80 pacientes participaram do estudo. Dos pacientes avaliados 60% eram do sexo masculino e apresentavam idade de $42,5 \pm 16,1$ anos. Em relação à etiologia, 47,5% apresentaram queimaduras por fogo, 33,7% por escaldos, 15% por eletricidade e 3,8% por outras causas. A mediana da superfície corporal queimada foi de 8,0 (3,0-18,8) % sendo que 47,5%

necessitaram de tratamento em unidade de terapia intensiva. Durante a internação 36,3% dos pacientes apresentaram infecção. A mediana do tempo de internação foi de 15,5 (10,3-30,0) dias e 16,3% dos pacientes morreram durante a internação. Os pacientes que evoluíram a óbito apresentavam idade mais avançada, maior superfície corporal queimada, maior frequência de queimadura de terceiro grau e de infecção. Além disso, em todos os pacientes que morreram a causa da queimadura foi o fogo e todos eles necessitaram de tratamento em UTI. Em relação aos dados laboratoriais, os pacientes que evoluíram a óbito apresentaram maiores concentrações séricas de leucócitos totais, sódio, ureia, creatinina e glicemia. Além disso, os pacientes que morreram apresentaram menores valores de albumina e cálcio total. Os pacientes que tiveram infecção eram mais velhos, apresentaram superfície corporal queimada maior e maior número de queimaduras de terceiro grau. Além disso, esses pacientes necessitaram de mais intervenções cirúrgicas, de tratamento em terapia intensiva e permaneceram mais tempo internados quando comparados àqueles que não apresentaram infecção. Além disso, a etiologia principal das queimaduras nos pacientes que tiveram infecção durante a internação foi o fogo. Trinta e um por cento dos pacientes que desenvolveram infecção foram a óbito. Em relação aos exames laboratoriais apenas maiores valores de leucócitos estiveram associados com o surgimento de infecção nesses pacientes. Na análise de regressão logística a presença dos alelos recessivos dos polimorfismos Taql e Bsml não estiveram relacionadas à mortalidade e ao surgimento de infecção mesmo após ajuste por gênero, idade e superfície corporal queimada. Em relação ao tempo de internação na regressão linear simples e múltiplas também não houve associação entre a presença dos alelos recessivos e o tempo de internação em pacientes queimados.

Conclusão: Em conclusão, os polimorfismos Taql e Bsml não se associam com os desfechos tempo de internação, surgimento de infecção e a mortalidade em pacientes queimados.

Abstract

Introduction: Some studies showed that the inflammatory process was related with severe burn injury. Thus, strategies for modulation of inflammatory response are of great interest. In the last years, vitamin D received attention due to its anti-inflammatory and immunomodulatory actions. Most of the actions of vitamin D are through its nuclear receptor (VDR). Recent studies showed that VDR gene polymorphisms could influence vitamin D response.

Objective: The objective of this study is to evaluate the association of TaqI and BsmI polymorphisms of VDR gene with length of hospital stay, infection development and mortality in burn patients.

Methods: We prospectively evaluated burn patients, over the age of 18 years, admitted to the Burn Unit of Hospital Estadual Bauru. The patients were included from January 2013 to January 2014, after signing the written informed consent. Upon admission demographical and clinical data were recorded. Blood sample was collected for biochemical analysis, measure of serum 25(OH) vitamin D₃ concentration, and TaqI and BsmI polymorphisms determination. The patients were followed during hospital admission, and length of hospital stay, infection development and mortality were recorded. For association between length of hospital stay and VDR polymorphisms we used uni and multivariate linear regressions. For association between polymorphisms and infection development and mortality, uni and multiple logistic regressions were performed. Significance level was 5%.

Results: We evaluated 87 patients, however 7 were excluded due to technical problems with VDR polymorphism evaluation. Thus, 80 patients were studied. Considering these patients 60% were male, and average age was 42.5 ± 16.1 years. Regarding the cause of burn 47.5% were caused by fire, 33.7% due to hot liquids, 15% caused by electricity and 3.8% due to other causes. The median of burn surface area was 8.0 (3.0-18.8)% and 47.5% were treated in intensive care unit. During hospital stay 36.3% of the patients developed infection. The median time of hospital stay was 15.5 (10.3-30.0) days and 16.3% of the patients died during hospital stay. Patients who died during hospital stay were older, had higher burn surface area, and more third-degree lesions. Besides that, all patients that died during hospital stay the cause of burn were fire, and all of them needed

intensive care unit treatment. Regarding laboratorial data, patients who died had higher values of white blood cells, sodium, urea, creatinine and glycemia. Besides that, these patients had lower serum levels of albumin and total calcium. The patients who developed infection were older, had higher burn surface area, and third-degree lesions. In addition, these patients needed more surgical interventions, intensive care unit treatment and had longer length of hospital stay. The main etiology of burns in patients who developed infection was fire. Thirty one percent of these patients died. Regarding laboratorial analysis higher white blood cells account was associated with infection in these patients. In logistic regression analysis, the presence of recessive alleles of Taql and Bsml polymorphism were not associated with mortality and infection. Regarding length of hospital stay, in linear regression analysis, there was also no association between with the polymorphisms in burn patients.

Conclusions: In conclusion, Taql and Bsml polymorphisms of VDR gene were not associated with length of hospital stay, infection development and mortality in burn patients.

Introdução

Queimaduras são lesões cutâneas decorrentes de trauma de origem térmica, como, por exemplo, exposição à chama, líquidos e superfícies quentes, raios solares, frio extremo, substâncias químicas, eletricidade, radiações, atrito ou fricção.¹⁻⁴ Segundo dados internacionais, as queimaduras são consideradas a terceira causa de morte por acidentes no mundo, destacando a escaldadura como causa mais comum.³ As queimaduras constituem um grave problema médico, econômico e social que acomete não só os pacientes, como suas famílias e a sociedade em geral.^{3,5,6} Além disso, a queimadura exige tratamento em unidades especializadas, que geralmente apresentam custos elevados e nem sempre acessíveis.^{6,7}

Nos países desenvolvidos observa-se diminuição dos casos de queimaduras devido às normas de segurança e campanhas implementadas pelo governo.¹ No entanto, nos países em desenvolvimento, as queimaduras persistem como problema de saúde pública entre jovens e adultos, devido ao elevado índice de hospitalização e morbi-mortalidade.^{1,6-9}

Apesar de sua grande importância, poucos estudos epidemiológicos são encontrados sobre pacientes queimados na América do Sul.⁸ No Brasil, não existem dados estatísticos suficientes que comprovem a extensão deste problema, no entanto, o valor médio gasto pelo Ministério da Saúde com o tratamento de pacientes queimados hospitalizados, aproxima-se a um milhão de reais por mês.³ Nos hospitais do Estado de São Paulo, privados e/ou conveniados com o SUS, o gasto médio por paciente queimado internado é de R\$ 650,00 a R\$1.620,00 por dia, para os casos não fatais, e para os que evoluem a óbito, respectivamente.³

Nos anos 40 e 50, o choque hipovolêmico, foi visto como a principal causa de morte nos pacientes queimados. No entanto, nos anos 60 e 70, depois das terapias de reposição volêmica, a sepse tornou-se a principal causa de óbito, proveniente do acometimento de ferida ou de outros sítios de infecção.^{5,9}

Atualmente, o grande desafio no tratamento desses pacientes é reduzir as complicações infecciosas. Apesar dos diversos avanços no suporte nutricional, no desenvolvimento de agentes antimicrobianos tópicos e sistêmicos, do aprimoramento de técnicas cirúrgicas e da enxertia precoce na área queimada,

as complicações infecciosas ainda são a principal causa de morte dos pacientes vítimas de queimaduras.^{5,8-11}

Diversos fatores envolvidos nas queimaduras contribuem para sua gravidade e devem ser avaliados, como a profundidade da lesão avaliada em graus, a extensão da superfície corporal queimada (SCQ) e localização da lesão.^{2,4,12} Além disso, outros fatores como a idade da vítima, a existência de doenças prévias e a inalação de fumaça também influenciam na morbimortalidade do paciente queimado e devem ser analisados.^{4,9,13,14}

Em relação à profundidade da lesão, esta é relacionada com a intensidade do agente térmico e com tempo de contato do agente com a pele, podendo interferir com o resultado estético e funcional da queimadura.⁴ A queimadura de 1º grau se restringe à epiderme, e no local da lesão há eritema, calor e dor. A evolução desta queimadura é rápida e a repercussão sistêmica é mínima.²⁻⁴ A queimadura de 2º grau, entretanto, envolve além de toda a epiderme, parte da derme, sendo que no local da lesão pode haver dor, eritema, edema, flictenas, erosão e ulceração. Nesse grau de queimadura a cicatrização é mais lenta e podem ocorrer sequelas como a discromia ou a cicatriz.²⁻⁴ Na queimadura de 3º grau ocorre, além da destruição da epiderme e derme, lesão do tecido subcutâneo, tendões, ligamentos, músculos e ossos. A lesão pode mostrar-se esbranquiçada ou negra, seca, dura e inelástica. As terminações nervosas são destruídas, portanto não há dor. Os vasos sanguíneos estão comprometidos, logo não há regeneração espontânea, podendo ser indicada a enxertia.²⁻⁴

Outro fator que agrava o resultado estético e funcional é a localização das lesões. Por isso, queimaduras de face, pescoço, mãos devem receber maior atenção, bem como as queimaduras próximas a orifícios naturais devido ao maior risco de contaminação.² A extensão da superfície corporal queimada (SCQ) é também importante de ser avaliada, pois é um dos fatores que mais influencia na repercussão sistêmica e na sobrevida do paciente.^{2,4,15}

Além de estarem relacionados às complicações infecciosas, o grau, a localização e a extensão da lesão podem influenciar a resposta inflamatória local e sistêmica.^{5,16} Após a queimadura, as concentrações séricas de citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina (IL) -1 β , e

IL-6 estão marcadamente elevadas.¹⁷⁻²⁰ Recentemente, alguns estudos mostraram que pacientes com queimaduras mais graves apresentam maiores concentrações séricas dessas citocinas pró-inflamatórias.^{19,20} Além disso, concentrações aumentadas desses mediadores inflamatórios na admissão do paciente queimado podem prever o surgimento de infecção e sepse durante a internação.^{17,19,20} Nesse contexto a utilização de estratégias para modular essa hiper-resposta inflamatória é bastante atrativa. Em estudos recentes, a vitamina D tem se destacado por sua ação anti-inflamatória e pela modulação da resposta imunológica.²¹⁻²⁵ Além disso, em pacientes queimados as concentrações séricas de 25 (OH) D encontram-se diminuídas, tanto na fase aguda da lesão, quanto na fase crônica.²⁶⁻²⁹

A vitamina D é um composto lipossolúvel, que classicamente está associada com a homeostase do cálcio e com o *turnover* ósseo. Uma das principais funções consiste no aumento da absorção intestinal de cálcio, participando do transporte ativo deste íon nos enterócitos. Além disso, participa também na mobilização do cálcio do osso, na presença do PTH, e aumenta a reabsorção renal de cálcio no túbulo distal. No entanto, recentemente, tem-se evidenciado a importância da vitamina D na função da musculatura esquelética e cardíaca, bem como na modulação de processos inflamatórios e imunológicos.²³⁻²⁵

A principal fonte da vitamina D é a formação endógena que ocorre na pele após a exposição à radiação ultravioleta B e em menor proporção através da dieta. Assim, o precursor cutâneo da vitamina D, o 7-deidrocolesterol presente na derme e epiderme é transformado em pré-vitamina D₃. Esta forma metabolicamente inativa é transportada pela corrente sanguínea até o fígado, onde sofre uma hidroxilação no carbono 25, tornando-se 25 (OH) D. Uma segunda hidroxilação subsequente ocorre nas células dos túbulos proximais dos rins, sob ação da enzima 1- α hidroxilase, transformando-se em 1,25 (OH)₂ D₃, ou calcitriol, a forma ativa da vitamina D.³⁰⁻³²

Apesar do calcitriol ser a forma ativa da vitamina D, sua dosagem sérica não é indicador confiável do estado nutricional dessa vitamina. Este fato ocorre, pois diversos mecanismos de *feedback* regulam as concentrações séricas da 1,25 (OH)₂ D₃ dentro de uma faixa bastante estreita. Assim, as concentrações

séricas do calcitriol são frequentemente normais em pessoas com deficiência de vitamina D. Em contraste, a 25 (OH) D₃ é a forma circulante mais abundante de vitamina D, tem meia-vida longa, e reflete com precisão tanto o consumo alimentar quanto a síntese cutânea dessa vitamina.^{21,33}

Alguns trabalhos mostraram que após a queimadura diversos fatores como latitude, uso de filtro solar, quantidade de melanina da pele, tipos de vestimenta e poluição podem interferir com a quantidade de pré-vitamina D₃ produzida. É interessante observar que as queimaduras também parecem interferir com essa produção. Nos pacientes queimados a quantidade de 7-deidrocolesterol presente tanto nas áreas de cicatriz, quanto nas áreas de pele normais, são menores que em indivíduos normais. O mesmo ocorrendo com a taxa de conversão de 7-deidrocolesterol para pré-vitamina D₃ que também está reduzida nos pacientes queimados.²⁸ Logo, a redução da concentração sérica de vitamina D encontrada nos pacientes após a queimadura, está provavelmente relacionada à redução da sua síntese cutânea.²⁷

Além da deficiência encontrada cronicamente após a queimadura, alguns estudos mostram redução da concentração sérica de 25 (OH) D₃ na fase aguda após a queimadura. Gottschlich et al.²⁶, mostraram que, em crianças com mais de 25% da superfície corporal queimada, a prevalência de deficiência da concentração sérica de 25 (OH) D foi elevada na fase aguda (54%). Essa elevada prevalência de deficiência de vitamina D na fase aguda da queimadura pode estar relacionada à redução das concentrações séricas de sua proteína transportadora, ou ao aumento da utilização dessa vitamina pelo paciente queimado.²⁷ Esse consumo aumentado de vitamina D poderia ocorrer, por exemplo, para tentar modular resposta inflamatória, normalmente exacerbada na fase aguda da queimadura.

A maior parte da ação molecular da vitamina D ativa é mediada pelo receptor nuclear de vitamina D (VDR). A ligação da vitamina D ativa com o VDR leva a ativação do receptor e sua heterodimerização com o receptor retinóide (RXR) e outros cofatores, que, por sua vez, se ligam a elementos respondedores de genes alvo para regulação da transcrição gênica. Além disso, a vitamina D ativa

também pode se ligar a receptores de membranas celulares, ativando segundo mensageiros e a fosforilação de proteínas intracelulares.

A presença de VDR nas células dendríticas e macrófagos poderia explicar a influência da vitamina D na redução da produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6 e TNF- α .^{34,35} É importante observar também que polimorfismos são frequentemente encontrados no gene VDR, podendo estar associados a uma variedade de respostas diferentes, tanto na suplementação, quanto na deficiência de vitamina D.

Diversos polimorfismos do gene VDR estão sendo estudados em doenças como hipertensão arterial, neoplasias, doenças degenerativas e autoimunes. Entre esses polimorfismos destacam-se o TaqI e o BsmI.³⁶⁻⁴⁰ Segundo Bai et al³⁶ a presença do polimorfismo BsmI esteve associada ao maior risco de câncer retal. No trabalho de Zeljic et al. os autores observaram aumento do risco de melanoma quando os alelos recessivos do polimorfismo TaqI estavam presentes. No entanto, nesse estudo o risco de melanoma não esteve associado com as concentrações séricas de vitamina D. A metaanálise realizada por Zhang et al³⁷ mostrou que entre quatro polimorfismos do gene VDR analisados, BsmI, TaqI, FokI e ApaI, apenas o BsmI esteve associado com risco de Diabetes Mellitus tipo I.

Apesar da potencial importância da vitamina D, não há estudos na literatura sobre a influência dos polimorfismos do receptor VDR com desfechos agudos em pacientes queimados. Logo, nossa hipótese é que os polimorfismos TaqI e BsmI do gene VDR podem aumentar o surgimento de infecção, o tempo de internação e a mortalidade em pacientes queimados.

Objetivo

O objetivo deste estudo é avaliar a associação dos polimorfismos Taql e Bsml do gene VDR com o tempo de internação, o surgimento de infecção e a mortalidade em pacientes queimados.

Casuística e Métodos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética de nossa instituição. Todos os pacientes ou seus responsáveis legais assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Foram incluídos prospectivamente os pacientes queimados, com idade ≥ 18 anos, que internaram na enfermaria e na Unidade de Terapia Intensiva do Setor de tratamento de Queimados do Hospital Estadual Bauru - SP. Os pacientes foram incluídos no período de janeiro de 2013 a janeiro de 2014, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Para o cálculo do tamanho amostral utilizamos a fórmula de Fisher e Belle, com as seguintes variáveis: prevalência de mortalidade em pacientes queimados de 20 a 35%, intervalo de confiança 95% e erro amostral de 10%. O resultado foi de 72 pacientes.^{7,14,41}

Na admissão dos pacientes foram registrados dados demográficos como idade e gênero. Além disso, foram registrados o grau da queimadura, a localização da mesma e a porcentagem da superfície corporal queimada (SCQ). Amostras sanguíneas foram coletadas na admissão dos pacientes conforme rotina da unidade de queimaduras, para dosagem de eletrólitos, função renal, hemograma, glicemia e albumina. Além disso, na admissão foram coletados 5 ml de sangue para dosagem de 25 (OH) vitamina D₃ e determinação dos polimorfismos TaqI e BsmI do gene do receptor da vitamina D (VDR). Os pacientes foram acompanhados durante toda a internação e o surgimento de infecção, o tempo de internação e a mortalidade foram registrados. A presença de infecção foi caracterizada pelo surgimento de infecção de qualquer sítio durante o período de internação do paciente segundo o consenso da Associação Americana de Queimadura⁴².

Os pacientes foram admitidos na UTI quando necessitaram de drogas vasoativas ou de ventilação mecânica.

Avaliação bioquímica

Para a realização do hemograma foi utilizado método de automação em auto-analisador Coulter STKS, seguido de confirmação dos achados

morfológicos de contagem de plaquetas, leucometria, e diferenciais leucocitários por método convencional de hematoscopia. Para a dosagem de sódio, potássio, magnésio, cálcio total, glicemia, uréia, creatinina e albumina foi utilizado o método de química seca (Ortho-Clinical Diagnostics VITROS 950®, Johnson & Johnson).

Avaliação da 25 (OH) D₃ no soro

As concentrações de 25(OH) D₃ no soro foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), como descrito por Po⁴³. A análise foi realizada por coluna C18 de fase reversa para todos os experimentos. A fase móvel era composta por água e metanol (98:2, v/v) com 0.1% de trietilamina. O comprimento do detector de onda ultravioleta (UV) foi fixado em 245 nm e fluxo de 1ml/min. A análise da vitamina D3 foi realizada em alíquotas de 200 µL de soro. O soro foi colocado em tubo de 16X125 mm e adicionado 50 µL de ácido clorídrico (HCl) 1M. Foi adicionado também padrão interno, ácido all-trans-9-4-metoxi-2,3,6-trimetilfenil-3,7-dimetil-2,4,6,8-nonatrenoico (TMMP), e agitado em vórtex por 10 minutos. Em seguida, foi adicionado 200 µL do solvente de extração (água e metanol, 98:2 v/v) e centrifugado a 2500 rpm por 8 minutos, a 40°C. A seguir, foi coletado o sobrenadante e filtrado por seringa. Por fim, volume de 20 µL do sobrenadante filtrado foi injetado no HPLC. Após corrida de 20 minutos, aguardamos estabilização da coluna para nova leitura.

Avaliação dos polimorfismos do receptor de vitamina D

Os polimorfismos do gene VDR foram analisados através de Real-Time PCR (TaqMan SNP Genotyping Assay) com sondas que distinguem os polimorfismos associadas aos fluoróforos VIC e FAM. A seguir estão os dados dos polimorfismos e detalhes dos ensaios:

Localização	Polimorfismo	SNP ID	Sondas	Classificação
Chr.12: 48238757	TaqI	rs731236	TGGACAGGCGGTCCTGGATGGCCTC[A/G] ATCAGCGCGGCGTCCTGCACCCAG	Mis-sense
Chr.12: 48239835	BsmI	rs1544410	GAGCAGAGCCTGAGTATTGGAATG[C/T] GCAGGCCTGTCTGTGGCCCCAGGAA	intrónica

A reação de amplificação foi efetuada para um volume de 6µL/caso contendo 2,5µL de 2x TaqMan Universal Master Mix, 0,125mL de 40x SNP Genotyping Assay, 2,375µL de água esterilizada, com 1µL de DNA da amostra.

Os produtos amplificados foram detectados e analisados através do sistema 7300 System Sequence Detection Software (versão 1.2.3, Applied Biosystems). As condições da reação foram as seguintes: pré-desnaturação inicial a 95°C por 10 minutos, seguindo-se 45 ciclos de 92°C por 15 segundos para desnaturação e de 60°C durante 1 minuto para emparelhamento dos primers e extensão. A determinação do protótipo foi efetuada através do respectivo software, obtendo-se uma razão entre a fluorescência dos fluorocromos VIC e FAM, sendo que cada um deles corresponde a um único alelo.

Análise Estatística

Os dados foram apresentados em média e desvio padrão ou mediana e percentis 25 e 75. As variáveis categóricas foram analisadas pelo teste de Quiquadrado ou de Fisher. A associação entre as variáveis contínuas foi realizada pelo teste de correlação de Spearman. Para avaliar a associação das variáveis com o tempo de internação utilizamos a análise de regressão linear simples e múltipla. Para avaliar a associação das variáveis com o surgimento de infecção e mortalidade utilizamos a análise de regressão logística. Nas análises múltiplas utilizamos o gênero, idade e SCQ para os ajustes. O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados

No período analisado, internaram 105 pacientes adultos no Setor de Tratamento de Queimados, sendo que houve perda do acompanhamento de 18 pacientes e em 7 pacientes, devido à problemas técnicos, não foram avaliados os polimorfismos do receptor da vitamina D, Taql e Bsml, por isso, 80 pacientes participaram do estudo. Dos pacientes avaliados 60% eram do sexo masculino e apresentavam idade de $42,5 \pm 16,1$ anos. Em relação à etiologia, 47,5% apresentaram queimaduras por fogo, 33,7% por escaldamento, 15% por eletricidade e 3,8% por outras causas. A mediana da superfície corporal queimada foi de 8,0 (3,0-18,8) % sendo que 47,5% necessitaram de tratamento em unidade de terapia intensiva. Durante a internação 36,3% dos pacientes apresentaram infecção. A mediana do tempo de internação foi de 15,5 (10,3-30,0) dias e 16,3% dos pacientes morreram durante a internação.

A Tabela 1 mostra os dados demográficos, clínicos e os genótipos dos polimorfismos Taql e Bsml em relação à mortalidade. Os pacientes que evoluíram a óbito apresentavam idade mais avançada, maior superfície corporal queimada, maior frequência de queimadura de terceiro grau e de infecção. Além disso, em todos os pacientes que morreram a causa da queimadura foi o fogo e todos eles necessitaram de tratamento em UTI. Os genótipos dos polimorfismos Taql e Bsml não se associaram com a mortalidade em nossos pacientes.

Na Tabela 2 estão apresentados os dados laboratoriais dos pacientes em relação à mortalidade. Os pacientes que evoluíram a óbito apresentaram maiores concentrações séricas de leucócitos totais, sódio, ureia, creatinina e glicemia. Além disso, os pacientes que morreram apresentaram menores valores de albumina e cálcio total.

Tabela 1: Dados demográficos, clínicos e polimorfismos Taql e Bsml do receptor da vitamina D em pacientes queimados.

Variáveis	Mortalidade		Valor de p
	Sim (n=13)	Não (n=67)	
Idade, anos	50,0 (37,0 – 62,5)	39,0 (29,0 – 49,0)	0,033
Sexo masculino, % (n)	46,2 (6)	62,7 (42)	0,421
Causa, % (n)			
Fogo	100,0 (13)	37,3 (25)	<0,001
Escaldo	0 (0)	40,3 (27)	
Eletricidade	0 (0)	17,9 (12)	
Outras	0 (0)	4,5 (3)	
SCQ, %	38,5 (29,3-52,0)	6,5 (3,0-12,0)	< 0,001
3º grau, % (n)	92,3 (12)	44,8 (30)	0,005
Infecção, % (n)	69,2 (9)	29,9 (20)	0,011
Tempo de internação, dias	15,0 (4,5-35,0)	16,0 (11,0-30,0)	0,561
Necessidade de UTI, % (n)	100,0 (13)	37,3 (25)	<0,001
Procedimento cirúrgico, % (n)	77,0 (10)	77,6 (52)	1,000
IMC, kg/m ²	23,6 (22,3-26,2)	25,5 (23,0-27,2)	0,341
Taql, % (n)			
TT	30,8 (4)	55,2 (37)	0,244
TC	61,5 (8)	37,3 (25)	
CC	7,7 (1)	7,5 (5)	
Bsml, % (n)			
GG	38,5 (5)	53,7 (36)	0,601
GA	53,8 (7)	40,3 (27)	
AA	7,7 (1)	6,0 (4)	

SCQ: superfície corporal queimada; UTI: unidade de terapia intensiva; IMC: índice de massa corporal. Dados expressos em proporção e mediana (percentis 25-75).

Tabela 2: Dados laboratoriais dos pacientes queimados.

Variáveis	Mortalidade		Valor de p
	Sim (n=13)	Não (n=67)	
Hemoglobina, %	12,9 (11,0-15,8)	12,8 (11,3-13,8)	0,441
Hematócrito, g/L	39,4 (32,2-46,4)	38,5 (35,8-41,7)	0,461
Leucócitos, cel/mm ³	20680 (13510-25548)	7695 (6315-10823)	< 0,001
Ureia, mg/dL	49,0 (33,5-62,0)	29,0 (21,0-36,0)	0,002
Creatinina, mg/dL	0,9 (0,8-1,6)	0,8 (0,7-0,9)	0,019
Glicemia, mg/dL	99,0 (88,3-126,0)	88,0 (80,0-97,0)	0,025
Albumina, g/L	2,6 (1,9-3,6)	3,4 (3,0-3,7)	0,012
Sódio, mmol/L	136 (135-142)	135 (134-136)	0,010
Potássio, mmol/L	4,3 (3,6-4,8)	3,8 (3,4-4,3)	0,191
Magnésio, mg/dL	1,5 (1,3-1,9)	1,6 (1,4-1,8)	0,485
Cálcio, mg/dL	7,9 ± 0,8	8,4 ± 0,7	0,006
Vitamina D, ng/ml*	18,7 (7,9-22,2)	21,0 (15,4-25,6)	0,331

Dados expressos em média e desvio padrão e mediana (percentis 25-75). *4 pacientes no grupo que evoluiu a óbito e 27 no grupo que sobreviveu.

Na tabela 3 estão apresentados os dados demográficos, clínicos e os genótipos dos polimorfismos Taql e Bsml em relação ao surgimento de infecção durante a internação hospitalar. Os pacientes que tiveram infecção eram mais velhos, apresentaram superfície corporal queimada maior e maior número de queimaduras de terceiro grau. Além disso, esses pacientes necessitaram de mais intervenções cirúrgicas, de tratamento em terapia intensiva e permaneceram mais tempo internados quando comparados àqueles que não apresentaram infecção. Além disso, a etiologia principal das queimaduras nos pacientes que tiveram infecção durante a internação foi o fogo. Trinta e um por cento dos pacientes que tiveram infecção foram a óbito em comparação com 7,8% de mortalidade naqueles que não apresentaram infecção durante a internação.

Os polimorfismos Taql e Bsml também não estiveram associados com o surgimento de infecção nos pacientes queimados na análise univariada. Os dados laboratoriais segundo o desenvolvimento de infecção estão apresentados na Tabela 4. Apenas maiores valores de leucócitos estiveram associados com o surgimento de infecção nesses pacientes.

Tabela 3: Dados demográficos, clínicos e polimorfismos Taql e Bsml do receptor da vitamina D em pacientes queimados.

Variáveis	Infecção		Valor de p
	Sim (n=29)	Não (n=51)	
Idade, anos	48,0 (37,0-55,0)	37,0 (26,0-50,0)	0,010
Sexo masculino, % (n)	55,2 (16)	62,7 (32)	0,669
Causa, % (n)			
Fogo	69,0 (20)	35,3 (18)	0,033
Escalado	17,2 (5)	43,1 (22)	
Eletricidade	10,3 (3)	17,7 (9)	
Outras	3,5 (1)	3,9 (2)	
SCQ, %	15,0 (5,5-35,0)	6,5 (2,5-13,0)	0,007
3º grau, % (n)	69,0 (20)	43,1 (22)	0,046
óbito, % (n)	31,0 (9)	7,8 (4)	0,011
Tempo de internação, dias	30,0 (16,0-53,5)	13,0 (8,0-18,0)	<0,001
Necessidade de UTI, % (n)	82,8 (24)	27,5 (14)	<0,001
Procedimento cirúrgico, % (n)	96,6 (28)	66,7 (34)	0,005
IMC, kg/m ²	25,5 (22,5-27,2)	25,3 (22,9-27,2)	1,000
Taql, % (n)			
TT	41,4 (12)	56,9 (29)	0,387
TC	48,3 (14)	37,2 (19)	
CC	10,3 (3)	5,9 (3)	
Bsml, % (n)			
GG	41,4 (12)	56,9 (29)	0,206
GA	55,2 (16)	35,3 (18)	
AA	3,4 (1)	7,8 (4)	

SCQ: superfície corporal queimada; UTI: unidade de terapia intensiva; IMC: índice de massa corporal. Dados expressos em proporção e mediana (percentis 25-75).

Tabela 4: Dados laboratoriais dos pacientes queimados.

Variáveis	Infecção		Valor de p
	Sim (n=29)	Não (n=51)	
Hemoglobina, %	12,7 ± 2,0	13,0 ± 1,8	0,438
Hematócrito, g/L	37,9 ± 6,4	39,0 ± 4,8	0,386
Leucócitos, cel/mm ³	12450 (8790-14230)	7550 (5950-9890)	0,001
Ureia, mg/dL	29,0 (21,0-43,0)	31,0 (23,0-39,0)	0,968
Creatinina, mg/dL	0,9 (0,8-1,0)	0,8 (0,7-0,9)	0,244
Glicemia, mg/dL	92,0 (81,0-100,0)	89,0 (79,0-97,0)	0,214
Albumina, g/L	3,2 (2,7-3,7)	3,5 (3,0-3,7)	0,243
Sódio, mmol/L	135 (134-137)	135 (134-136)	0,649
Potássio, mmol/L	3,9 ± 0,7	4,0 ± 0,7	0,463
Magnésio, mg/dL	1,6 (1,3-1,8)	1,6 (1,4-1,8)	0,551
Cálcio, mg/dL	8,2 ± 0,8	8,5 ± 0,7	0,070
Vitamina D, ng/ml*	18,0 (15,4-25,6)	21,7 (14,8-24,8)	0,650

Dados expressos em média e desvio padrão e mediana (percentis 25-75). *11 pacientes no grupo que evoluiu com infecção e 20 no grupo que não apresentou infecção.

Em relação ao tempo de internação hospitalar, os dados demográficos, clínicos e laboratoriais estão na Tabela 5. Não houve diferença entre os gêneros em relação ao tempo de internação ($p=0,455$), bem como em relação à etiologia da queimadura ($p=0,06$). No entanto, houve correlação positiva entre o tempo de internação e superfície corporal queimada ($r=0,220$ e $p=0,050$).

Tabela 5: Dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos pacientes queimados.

Variáveis	Tempo de Internação	
	Coeficiente de correlação	Valor de p
Idade, anos	0,127	0,260
SCQ, %	0,220	0,050
Vitamina D, ng/ml*	-0,036	0,845
IMC, kg/m ²	-0,143	0,205
Hemoglobina, g/L	-0,061	0,588
Hematócrito, %	-0,161	0,154
Leucócitos, cel/mm ³	0,107	0,348
Ureia, mg/dL	-0,112	0,322
Creatinina, mg/dL	-0,030	0,789
Glicemia, mg/dL	0,028	0,805
Albumina, g/L	-0,157	0,163
Sódio, mmol/L	-0,117	0,302
Potássio, mmol/L	0,034	0,763
Magnésio, mg/dL	-0,127	0,262
Cálcio, mg/dL	-0,134	0,234

SCQ: superfície corporal queimada. * 31 pacientes avaliados.

Na Tabela 6 estão apresentados dados dos pacientes queimados segundo os genótipos do polimorfismo TaqI do receptor da vitamina D. A frequência dos genótipos em nossos pacientes são 51,25% TT, 41,25% TC e 7,50% CC. Essas frequências são consistentes com as esperadas pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os pacientes com alelo recessivo (TC e CC) são mais velhos quando comparados com os pacientes com o genótipo dominante TT. Não houve diferença em relação à mortalidade, surgimento de infecção ou tempo de internação.

Tabela 6: Dados dos pacientes queimados segundo os genótipos do polimorfismo TaqI do receptor da vitamina D.

Variáveis	Genótipos do Taq I		Valor de p
	TT (n=41)	TC/CC (n=39)	
Idade, anos	38,0 (25,0-49,0)	48,0 (34,0-55,0)	0,035
Sexo masculino, % (n)	63,4 (26)	56,4 (22)	0,681
Causa, % (n)			
Fogo	43,9 (18)	51,3 (20)	0,648
Escalado	39,0 (16)	28,2 (11)	
Eletricidade	12,2 (5)	17,9 (7)	
Outras	4,9 (2)	2,6 (1)	
SCQ, %	8,0 (3,0-15,0)	8,0 (3,0-24,0)	0,754
3º grau, % (n)	51,2 (21)	53,8 (21)	0,991
óbito, % (n)	9,8 (4)	23,1 (9)	0,190
Tempo de internação, % (n)	15,0 (11,0-34,0)	16,0 (9,0-26,0)	0,534
Infecção, % (n)	29,3 (12)	43,6 (17)	0,272
Necessidade de UTI, % (n)	43,9 (18)	51,3 (20)	0,662
Procedimento cirúrgico, % (n)	73,2 (30)	82,1 (32)	0,495
IMC, kg/m ²	25,1 (22,1-27,2)	25,5 (23,5-27,2)	0,331
Hemoglobina, g/L	13,0 ± 1,7	12,8 ± 2,1	0,658
Hematócrito, %	38,5 ± 4,7	38,6 ± 6,3	0,929
Leucócitos, cel/mm ³	8620 (6968-12273)	8845 (5635-13533)	0,783
Ureia, mg/dL	29,0 (21,0-35,5)	34,0 (24,0-40,0)	0,122
Creatinina, mg/dL	0,8 (0,7-0,9)	0,8 (0,8-1,0)	0,146
Glicemia, mg/dL	88,0 (80,0-98,0)	90,0 (80,0-99,8)	0,586
Albumina, g/L	3,4 (3,0-3,8)	3,4 (2,7-3,6)	0,370
Sódio, mmol/L	135 (134-136)	135 (134-136)	0,683
Potássio, mmol/L	3,9 (3,5-4,4)	3,8 (3,4-4,4)	0,664
Magnésio, mg/dL	1,6 (1,4-1,8)	1,5 (1,3-1,9)	0,557
Cálcio, mg/dL	8,4 ± 0,7	8,2 ± 0,7	0,241
Vitamina D, ng/ml*	18,0 (13,1-24,4)	22,4 (15,6-27,8)	0,548

SCQ: superfície corporal queimada; UTI: unidade de terapia intensiva; IMC: índice de massa corporal. Dados expressos em média e desvio padrão, proporção e mediana (percentis 25-75).

*13 no grupo TT e 18 no grupo TC/CC.

Na Tabela 7 estão apresentados dados dos pacientes queimados segundo os genótipos do polimorfismo BsmI do receptor da vitamina D. A frequência dos genótipos em nossos pacientes são 51,25% GG, 42,50% GA e

6,25% AA. Essas frequências são consistentes com as esperadas pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg. Não houve diferença em relação à mortalidade, surgimento de infecção ou tempo de internação quando comparados os pacientes com alelo recessivo (GA e AA) com os pacientes com genótipo dominante GG.

Tabela 7: Dados dos pacientes queimados segundo os genótipos do polimorfismo BsmI do receptor da vitamina D.

Variáveis	Genótipos do BsmI		Valor de p
	GG (n=41)	GA/AA (n=39)	
Idade anos	38,0 (28,5-49,0)	43,0 (31,0-55,0)	0,200
Sexo masculino, % (n)	61,0 (25)	59,0 (23)	0,964
Causa, % (n)			
Fogo	46,4 (19)	48,7 (19)	0,672
Escalado	39,0 (16)	28,2 (11)	
Eletricidade	12,2 (5)	17,9 (7)	
Outras	2,4 (1)	5,2 (2)	
SCQ, %	8,0 (2,8-14,8)	8,0 (4,0-22,0)	0,405
3º grau, % (n)	53,7 (22)	51,3 (20)	0,991
óbito, % (n)	12,2 (5)	20,5 (8)	0,481
Tempo de internação, % (n)	15,0 (11,5-34,0)	16,0 (9,0-28,0)	0,563
Infecção, % (n)	29,3 (12)	43,6 (17)	0,272
Necessidade de UTI, % (n)	41,5 (17)	53,8 (21)	0,376
Procedimento cirúrgico, % (n)	75,6 (31)	79,5 (31)	0,883
IMC, kg/m ²	23,8 (21,7-26,9)	25,8 (23,6-27,4)	0,090
Hemoglobina, g/L	12,7 ± 1,7	13,1 ± 2,1	0,330
Hematócrito, %	37,7 ± 4,8	39,5 ± 6,0	0,128
Leucócitos, cel/mm ³	9020 (6968-12430)	8615 (6315-13533)	0,757
Ureia, mg/dL	30,0 (23,5-37,0)	33,0 (21,0-40,0)	0,722
Creatinina, mg/dL	0,8 (0,7-0,9)	0,8 (0,7-1,0)	0,611
Glicemia, mg/dL	90,0 (80,0-100,5)	88,5 (80,0-98,0)	0,768
Albumina, g/L	3,4 (3,0-3,8)	3,4 (2,9-3,6)	0,515
Sódio, mmol/L	135 (134-136)	135 (134-136)	0,526
Potássio, mmol/L	3,9 ± 0,6	4,0 ± 0,7	0,385
Magnésio, mg/dL	1,6 (1,4-1,8)	1,5 (1,3-1,9)	0,503
Cálcio, mg/dL	8,4 ± 0,7	8,3 ± 0,7	0,719
Vitamina D, ng/ml*	19,1 (14,2-28,0)	22,3 (15,2-25,3)	0,937

SCQ: superfície corporal queimada; UTI: unidade de terapia intensiva; IMC: índice de massa corporal. Dados expressos em média e desvio padrão, proporção e mediana (percentis 25-75). *14 no grupo GG e 17 no grupo GA/AA.

Na análise de regressão logística a presença dos alelos recessivos dos polimorfismos Taql e Bsml não estiveram relacionadas à mortalidade, mesmo após ajuste por gênero, idade e superfície corporal queimada (Tabela 8).

Tabela 8: Regressão logística simples e múltipla para predição de mortalidade nos pacientes queimados.

Variáveis	“Odds Ratio”	Intervalo de Confiança 95%	Valor de p
Bsml (GA+AA)	1,858	0,551-6,270	0,318
Taql (TC+CC)	2,775	0,777-9,905	0,116
Bsml (GA+AA)*	1,309	0,128-13,430	0,821
Taql (TC+CC)*	1,575	0,148-16,745	0,706

* Ajustado por gênero, idade e superfície corporal queimada.

Em relação ao surgimento de infecção, na análise de regressão logística, a presença dos alelos recessivos dos polimorfismos Taql e Bsml não esteve associada com esse desfecho, mesmo após correção por gênero, idade e superfície corporal queimada (Tabela 9).

Tabela 9: Regressão logística simples e múltipla para predição de surgimento de infecção nos pacientes queimados.

Variáveis	“Odds Ratio”	Intervalo de Confiança 95%	Valor de p
Bsml (GA+AA)	1,867	0,741-4,703	0,185
Taql (TC+CC)	1,867	0,741-4,703	0,185
Bsml (GA+AA)*	1,562	0,573-4,255	0,383
Taql (TC+CC)*	1,416	0,514-3,904	0,501

* Ajustado por gênero, idade e superfície corporal queimada.

Em relação ao tempo de internação na regressão linear simples e múltipla também ajustada por gênero, idade e superfície corporal queimada, não houve associação entre a presença dos alelos recessivos dos polimorfismos Taql e Bsml e o tempo de internação em pacientes queimados (Tabela 10).

Tabela 10: Regressão linear simples e múltipla para predição do tempo de internação nos pacientes queimados.

Variáveis	Coeficiente beta	Erro padrão	Valor de p
Bsml (GA+AA)	-0,181	0,210	0,391
Taql (TC+CC)	-0,152	0,211	0,472
Bsml (GA+AA)*	-0,205	0,216	0,345
Taql (TC+CC)*	-0,182	0,220	0,409

* Ajustado por gênero, idade e superfície corporal queimada.

Discussão

O objetivo deste estudo foi avaliar a associação dos polimorfismos Taql e Bsml do gene VDR com o tempo de internação, o desenvolvimento de infecção e a mortalidade em pacientes queimados. Nossos resultados sugerem que os polimorfismos Taql e Bsml não se associam com os desfechos tempo de internação, surgimento de infecção e a mortalidade em pacientes queimados.

Queimadura é um evento que atinge grande número de vítimas a cada ano e impõe consequências físicas, psicológicas, mentais, econômicas e sociais insubstituíveis, e pode levar até mesmo à morte.⁴⁴ Cerca de 90% das queimaduras ocorrem em países em desenvolvimento, áreas que são deficientes em meios para reduzir a taxa e intensidade de tais lesões.⁷ Embora os avanços no tratamento de queimaduras têm significativamente alterado o curso clínico dos pacientes e aumentando a chance de sobrevivência, a taxa de mortalidade continua a ser elevada em todo o mundo, podendo chegar até 40%.^{10,11}

Nos estudos de Huebinger et al.¹³ e Khaliq et al.⁹ a idade, lesão inalatória, o fogo como agente causal, %SCQ e grau de queimadura foram significativamente associados com risco aumentado de morte. Em revisão sistemática da literatura, Brusselaers et al.¹⁴ mostraram que a taxa de mortalidade ficou entre 1,4 e 18%, tendo como principais fatores de risco para o óbito, a idade avançada e um percentual total mais elevado de superfície corporal queimada, bem como a presença de doenças crônicas, falência múltipla de órgãos e sepse.

Em nosso estudo, a mortalidade esteve associada à idade mais avançada, maior superfície corporal queimada, maior grau de queimadura, maior frequência de infecção, necessidade de UTI e ao fogo como principal causa de queimadura. Como esperado, os pacientes que morreram durante a internação apresentaram fatores de risco mais graves e necessitaram de tratamento em UTI. A mortalidade dos nossos pacientes foi de 16,3% durante a internação. No entanto, é importante lembrar que os nossos pacientes estavam internados tanto na UTI como na enfermaria, o que pode ter contribuído para uma mortalidade mais baixa quando comparada a outros estudos.

Estudo transversal, prospectivo e observacional que envolveu 1.979 pacientes, durante dois anos, apresenta resultados similares aos nossos. No

entanto, a taxa de mortalidade foi de 36,12%. A mortalidade foi mais alta na faixa etária entre 16-30 anos (55,2%). A maioria das mortes foi acidental (95,8%), sendo o fogo a causa mais comum de queimaduras entre os que morreram (89,3%) e 35% dos pacientes que morreram tiveram mais de 60% da área total da superfície corporal queimada.⁷

No contexto atual de terapia de queimados, os adultos com mais de 40% da superfície corporal queimada e crianças com mais de 60% apresentam alto risco de morbidade e mortalidade, mesmo em centros altamente especializados.¹⁵ Em nosso trabalho os pacientes apresentaram mediana da SCQ de 8%. Apesar desse valor parecer baixo, a maioria dos pacientes apresentou lesões de terceiro grau, o que levou à hospitalização dos mesmos. No entanto, quando observamos a extensão da superfície corporal queimada no grupo que morreu, a mediana foi consideravelmente mais elevada (38,5%).

Em nosso estudo, os pacientes que desenvolveram infecção, apresentaram maior mortalidade. Aproximadamente 31% dos pacientes que desenvolveram infecção morreram durante a internação hospitalar. Além disso, 36,3% de nossos pacientes desenvolveram infecção durante a internação. Segundo a literatura, infecção e sepse estão entre as principais complicações das queimaduras.⁹ Após a lesão tecidual ocorre grande liberação de mediadores inflamatórios, que somada à dificuldade de difusão tecidual dos antimicrobianos favorece o desenvolvimento de sepse e óbito.^{17,45} Avaliar o risco de morte em pacientes com queimaduras é essencial para o seu tratamento clínico.^{12,14} Nesse contexto, o uso de ferramentas prognósticas tem sido aplicadas, como o *Abbreviated Burn Severity Index* (ABSI), e o *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation* (APACHE) II e III. Estes últimos incluem tanto variáveis clínicas quanto laboratoriais. Em relação às variáveis laboratoriais, nossos resultados mostram que maiores concentrações séricas de leucócitos totais, sódio, ureia, creatinina e glicemia estão associadas à mortalidade. Acreditamos que a intensidade do processo inflamatório aumente o metabolismo basal e o catabolismo nesses pacientes. Logo, o aumento de leucócitos totais, da glicemia e da ureia nos pacientes que foram a óbito poderia estar associado a um maior processo inflamatório. Além disso, valores de albumina sérica menores também

estavam associados à maior mortalidade. Essa redução da concentração sérica de albumina, principalmente na fase aguda, pode ser devido à redução da síntese hepática, ao extravasamento para o terceiro espaço devido ao aumento da permeabilidade capilar, e à perda cutânea nas áreas de lesão. No trabalho de Aguayo-Becerra et al.¹⁰, a hipoalbuminemia esteve associada ao aumento de líquido no espaço extravascular, maior susceptibilidade à sepse e maior mortalidade. Pacientes com concentrações de albumina inferiores a 2g/dL apresentaram risco de mortalidade maior que 80%, com sensibilidade de 84% e especificidade de 83%. Os autores sugerem que a concentração de albumina, na admissão, pode ser utilizada como um marcador sensível e específico de gravidade de queimadura e de mortalidade.

Logo, o acentuado processo inflamatório que acompanha as queimaduras é um dos principais responsáveis pela hipoalbuminemia nesses pacientes. Alguns estudos mostraram que pacientes com queimaduras mais graves apresentam maiores concentrações séricas de citocinas pró-inflamatórias. Além disso, a concentração aumentada dessas citocinas na admissão do paciente queimado pode predizer o desenvolvimento de infecção e sepse durante a internação.^{17,19,20}

No intuito de atenuar o processo inflamatório nos pacientes queimados, diversas estratégias têm sido estudadas, entre elas a vitamina D. Além dos efeitos clássicos da vitamina D no metabolismo ósseo, nos últimos anos, tem-se evidenciado sua importância na modulação de processos inflamatórios e imunológicos.²³⁻²⁵ A hipovitaminose D tem sido associada a uma grande variedade de resultados, incluindo fraqueza muscular, doenças infecciosas e mortalidade na população em geral e em pacientes críticos.⁴⁶

Além disso, os pacientes queimados apresentam alto risco de hipovitaminose D.^{19,20,44,47} Acredita-se que o risco de deficiência de vitamina D pode ocorrer durante a fase aguda devido à redução da concentração sérica de sua proteína transportadora, ou ao aumento na utilização dessa vitamina pelo paciente queimado. Essa deficiência vitamínica pode-se estender à fase crônica, principalmente devido aos danos causados à pele, pela queimadura.^{27,29}

Entretanto, o diagnóstico da deficiência de vitamina D é um tema controverso. Esta deficiência é definida de acordo com o Instituto de Medicina, como concentrações séricas de 25(OH) vitamina D₃ <12 ng/mL ou como risco de inadequação com concentrações séricas inferiores a 20 ng/mL.⁴⁸ No entanto, para as pessoas saudáveis, segundo a Sociedade Americana de Endocrinologia, as concentrações séricas de 25(OH) vitamina D₃ devem atingir pelo menos 30 ng/ml para assegurar a suficiência dessa vitamina.⁴⁹ É importante também lembrarmos que essas concentrações mínimas desejadas são recomendadas para um adequado metabolismo ósseo, sendo ainda mais controversos os valores necessários para seus efeitos anti-inflamatórios e imunomoduladores.

Apesar dos valores que definem deficiência de vitamina D serem controversos, diversos estudos sugerem que pacientes queimados apresentam essa deficiência e que sua suplementação seria benéfica. No entanto, ainda não está claro quando a suplementação deve ocorrer, se todos os pacientes teriam benefício com a suplementação e nem mesmo a dose a ser ofertada.

A vitamina D exerce seus efeitos principalmente através de sua ligação com seu receptor nuclear, o VDR. É interessante observarmos que alterações de um único nucleotídeo no gene VDR podem afetar a transcrição gênica e a resposta às diferentes concentrações de vitamina D.^{50,51} A maioria destas alterações de nucleótidos no gene VDR ocorre como polimorfismo de nucleotídeo único (SNP). Os SNPs são definidos como variações da sequência de DNA que afetam somente uma base na sequência genômica. Os SNPs constituem 90% de todas as variações genômicas humanas e aparecem em média a cada 1.300 bases ao longo do genoma humano. Para serem denominadas polimorfismos essas variações necessitam acontecer em pelo menos 1% da população, caso contrário são consideradas mutações.^{52,53}

O gene VDR encontra-se no cromossomo 12, na posição 12q13.1. Este gene apresenta 100kb e consiste basicamente em 9 exons distribuídos entre as regiões 5' promotora e 3' regulatória. As variantes Taql e Bsml estão entre os polimorfismos do VDR mais estudados.⁴⁰ O polimorfismo Bsml (rs1544410) está localizado no intron 8 e resulta da substituição adenina-guanina. O polimorfismo Taql (rs731236), por sua vez, está localizado no exon 9 e é definido pela

substituição de citosina-timina. Nos últimos anos esses polimorfismos têm sido associados com doenças tais como hipertensão arterial, hiperparatireoidismo, queratose solar, doenças degenerativas e neoplasias.^{50,51,54} Apesar disso, não encontramos estudos que avaliaram os polimorfismos do gene VDR em pacientes queimados.

No entanto, em nosso estudo, a concentração sérica de vitamina D e a presença dos polimorfismos TaqI e BsmI não estiveram associadas com a mortalidade ou desenvolvimento de infecção nos pacientes queimados, mesmo quando corrigidos pelo gênero, idade e SCQ.

Em relação ao tempo de internação, a mediana dos nossos pacientes foi de 15,5 (10,3-30,0) dias, bastante semelhante a outros trabalhos da literatura em que a mediana do tempo de internação variou de 3 a 18 dias. Em nosso estudo apenas a SCQ apresentou correlação direta com o tempo de internação. Não houve associação da concentração sérica de vitamina D ou dos polimorfismos TaqI e BsmI com o tempo de internação em nossos pacientes.

Acreditamos que, em nosso estudo, a presença dos polimorfismos TaqI e BsmI não esteve associada com os desfechos, possivelmente, devido à heterogeneidade da população analisada. Nossa amostra era constituída de pacientes internados tanto na enfermaria quanto na UTI. Além disso, analisamos apenas os dois polimorfismos mais estudados do gene do receptor de vitamina D, no entanto, existem outros polimorfismos que poderiam estar associados aos desfechos estudados. Desse modo, outros estudos com pacientes queimados mais graves e outros polimorfismos do gene VDR devem ser realizados.

É importante considerarmos algumas limitações do nosso estudo. Ele foi realizado em apenas 1 centro e contou com tamanho amostral de apenas 80 pacientes. Além disso, por problemas técnicos não conseguimos dosar a vitamina D de parte de nossa amostra.

Em conclusão, os polimorfismos TaqI e BsmI não se associam com os desfechos tempo de internação, desenvolvimento de infecção e a mortalidade em pacientes queimados.

Conclusão

Em conclusão, os polimorfismos TaqI e BsmI não se associam com os desfechos tempo de internação, desenvolvimento de infecção e a mortalidade em pacientes queimados.

Referências

1. Medeiros NI, Schott E, Silva R, Czarnobay SA. Efeitos da terapia nutricional enteral em pacientes queimados atendidos em hospital público de Joinville/SC. *Rev Bras Queimaduras*. 2009;8(3):97-100.
2. Montes SF, Barbosa MH, de Sousa Neto AL. [Clinical and epidemiological aspects of burned patients hospitalized in a teaching hospital]. *Rev Esc Enferm U P*. 2011 Apr;45(2):369-73.
3. Rempel LCT, Tizzot MRA, Vasco JFM. Incidência de infecções bacterianas em pacientes queimados sob tratamento em hospital universitário de Curitiba. *Rev Bras de Queimaduras*. 2011;10(1):3-9.
4. Vale ECS do. Inicial management of burns: approach by dermatologists. *An Bras Dermatol*. 2005 Feb;80(1):9-19.
5. Macedo JLS. Complicações infecciosas e fatores preditivos de infecção em pacientes queimados[tese]. Faculdade de Medicina Núcleo de Medicina Tropical, Brasília; 2006.
6. Chakraborty S, Bisoi S, Chattopadhyay D, Mishra R, Bhattacharya N, Biswas B. A study on demographic and clinical profile of burn patients in an Apex Institute of West Bengal. *Indian J Public Health*. 2010 Mar;54(1):27-9.
7. Al Ibran E, Mirza FH, Memon AA, Farooq MZ, Hassan M. Mortality associated with burn injury - a cross sectional study from Karachi, Pakistan. *BMC Res Notes*. 2013;6:545.
8. Rosa DMC [UNESP. Epidemiologia, lesão inalatória e biomarcadores: relação com prognóstico de adultos queimados internados em uma unidade de referência. Aleph. 2009 Nov 23;153 f. + 1 CD - Rom.
9. Khaliq MF, Noorani MM, Siddiqui UA, Al Ibran E, Rao MH. Factors associated with duration of hospitalization and outcome in burns patients: a cross sectional study from Government Tertiary Care Hospital in Karachi, Pakistan. *Burns J Int Soc Burn Inj*. 2013 Feb;39(1):150-4.

10. Aguayo-Becerra OA, Torres-Garibay C, Macías-Amezcu MD, Fuentes-Orozco C, Chávez-Tostado M de G, Andalon-Dueñas E, et al. Serum albumin level as a risk factor for mortality in burn patients. *Clin São Paulo Braz*. 2013 Jul;68(7):940-5.
11. Johnson BW, Madson AQ, Bong-Thakur S, Tucker D, Hale RG, Chan RK. Combat-related facial burns: analysis of strategic pitfalls. *J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2015 Jan;73(1):106-11.
12. Ryan CM, Lee A, Kazis LE, Schneider JC, Shapiro GD, Sheridan RL, et al. Recovery trajectories after burn injury in young adults: does burn size matter? *J Burn Care Res Off Publ Am Burn Assoc*. 2015 Feb;36(1):118-29.
13. Huebinger RM, Rivera-Chavez F, Chang L-Y, Liu M-M, Minei JP, Purdue GF, et al. IL-10 polymorphism associated with decreased risk for mortality after burn injury. *J Surg Res*. 2010 Nov;164(1):e141-5.
14. Brusselaers N, Monstrey S, Vogelaers D, Hoste E, Blot S. Severe burn injury in Europe: a systematic review of the incidence, etiology, morbidity, and mortality. *Crit Care*. 2010;14(5):R188.
15. Jeschke MG, Pinto R, Kraft R, Nathens AB, Finnerty CC, Gamelli RL, et al. Morbidity and Survival Probability in Burn Patients in Modern Burn Care. *Crit Care Med*. 2014 Dec 31.
16. Barbosa E, Moreira EAM, Faintuch J, Pereima MJL. Antioxidant supplementation: focusing on burned patients. *Rev Nutr*. 2007 Dec;20(6):693-702.
17. Finnerty CC, Przkora R, Herndon DN, Jeschke MG. Cytokine expression profile over time in burned mice. *Cytokine*. 2009 Jan;45(1):20-5.
18. Kraychete DC, Calasans MTAC, Valente CML. Citocinas pró-inflamatórias e dor. *Rev Bras de Reumatol*. 2006 mai/jun, 46(3): 199-206.

19. Hur J, Yang HT, Chun W, Kim J-H, Shin S-H, Kang HJ, et al. Inflammatory cytokines and their prognostic ability in cases of major burn injury. *Ann Lab Med*. 2015 Jan;35(1):105-10.
20. Modi S, Rashid M, Malik A, Shahid M. Study of complement activation, C3 and interleukin-6 levels in burn patients and their role as prognostic markers. *Indian J Med Microbiol*. 2014 Jun;32(2):137-42.
21. Baeke F, Takiishi T, Korf H, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol*. 2010 Aug;10(4):482-96.
22. Guillot X, Semerano L, Saidenberg-Kermanac'h N, Falgarone G, Boissier M-C. Vitamin D and inflammation. *Jt Bone Spine Rev Rhum*. 2010 Dec;77(6):552-7.
23. Borges MC, Martini LA, Rogero MM. Current perspectives on vitamin D, immune system, and chronic diseases. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif*. 2011 Apr;27(4):399-404.
24. Harant H, Wolff B, Lindley IJ. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ decreases DNA binding of nuclear factor-kappaB in human fibroblasts. *FEBS Lett*. 1998 Oct 9;436(3):329-34.
25. Christakos S, DeLuca HF. Minireview: Vitamin D: is there a role in extraskeletal health? *Endocrinology*. 2011 Aug;152(8):2930-6.
26. Gottschlich MM, Mayes T, Khoury J, Warden GD. Hypovitaminosis D in acutely injured pediatric burn patients. *J Am Diet Assoc*. 2004 Jun;104(6):931-41, quiz 1031.
27. Klein GL. Burns: where has all the calcium (and vitamin D) gone? *Adv Nutr Bethesda Md*. 2011 Nov;2(6):457-62.
28. Klein GL, Chen TC, Holick MF, Langman CB, Price H, Celis MM, Herndon DN. Synthesis of vitamin D in skin after burns. *Lancet*. 2004 Jan 24;363(9405):291-2.

29. Rousseau A-F, Damas P, Ledoux D, Lukas P, Carlisi A, Le Goff C, et al. Vitamin D status after a high dose of cholecalciferol in healthy and burn subjects. *Burns J Int Soc Burn Inj*. 2014 Dec 16.
30. Covic A, Voroneanu L, Goldsmith D. The effects of vitamin D therapy on left ventricular structure and function - are these the underlying explanations for improved CKD patient survival? *Nephron Clin Pract*. 2010;116(3):c187-95.
31. Marques CDL, Dantas AT, Fragoso TS, Duarte ÂLBP. The importance of vitamin D levels in autoimmune diseases. *Rev Bras Reumatol*. 2010 Feb;50(1):67-80.
32. Pedrosa MAC, Castro ML. [Role of vitamin D in the neuro-muscular function]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2005 Aug;49(4):495-502.
33. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr*. 2006 Jul;84(1):18-28.
34. Hewison M. Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2010 Jun;39(2):365-79, table of contents.
35. Zwerina K, Baum W, Axmann R, Heiland GR, Distler JH, Smolen J, et al. Vitamin D receptor regulates TNF-mediated arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011 Jun;70(6):1122-9.
36. Bai Y-H, Lu H, Hong D, Lin C-C, Yu Z, Chen B-C. Vitamin D receptor gene polymorphisms and colorectal cancer risk: a systematic meta-analysis. *World J Gastroenterol WJG*. 2012 Apr 14;18(14):1672-9.
37. Zhang J, Li W, Liu J, Wu W, Ouyang H, Zhang Q, et al. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and type 1 diabetes mellitus risk: an update by meta-analysis. *Mol Cell Endocrinol*. 2012 May 15;355(1):135-42.

38. Swapna N, Vamsi UM, Usha G, Padma T. Risk conferred by FokI polymorphism of vitamin D receptor (VDR) gene for essential hypertension. *Indian J Hum Genet*. 2011 Sep;17(3):201-6.
39. Lehmann DJ, Refsum H, Warden DR, Medway C, Wilcock GK, Smith AD. The vitamin D receptor gene is associated with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2011 Oct 24;504(2):79-82.
40. HADDAD S. Vitamin-D receptor (VDR) gene polymorphisms (Taq-I & Apa-I) in Syrian healthy population. *Meta Gene*. 2014 Dec;2:646-50.
41. Fisher LD, Belle GV. *Biostatistics: a methodology for health science*. New York: John Wiley; 1993.
42. Greenhalgh DG, Saffle JR, Holmes JH, Gamelli RL, Palmieri TL, Horton JW, et al. American Burn Association consensus conference to define sepsis and infection in burns.; American Burn Association Consensus Conference on Burn Sepsis and Infection Group. *J Burn Care Res*. 2007; 28(6):776-90.
43. Po ESM, Hoa JW, Gong BY. Simultaneous chromatographic analysis of eight fat-soluble vitamins in plasma. *J Biochem. Biophys. Methods* 1997; 34:99-106.
44. Goodarzi M, Reisi-Dehkordi N, Daryabeigi R, Zargham-Boroujeni A. An epidemiologic study of burns: Standards of care and patients' outcomes. *Iran J Nurs Midwifery Res*. 2014 Jul;19(4):385-9.
45. Farina Jr JA, Almeida CEF, Barros MEPM, Martinez R. Redução da mortalidade em pacientes queimados. *Rev Bras Queimaduras*. 2014;13(1):2-5.
46. Rousseau A-F, Foidart-Desalle M, Ledoux D, Remy C, Croisier J-L, Damas P, et al. Effects of cholecalciferol supplementation and optimized calcium intakes on vitamin D status, muscle strength and bone health: A one-year pilot randomized controlled trial in adults with severe burns. *Burns J Int Soc Burn Inj*. 2014 Sep 16.

47. Rousseau AF, Ledoux D, Damas P, Cavalier E. [Hypovitaminosis D and burn injury]. *Rev Med Liege*. 2013 Nov;68(11):574-8.
48. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:53-8.
49. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1911-30.
50. Carless MA, Kraska T, Lintell N, Neale RE, Green AC, Griffiths LR. Polymorphisms of the VDR gene are associated with presence of solar keratoses on the skin. *Br J Dermatol*. 2008 Sep;159(4):804-10.
51. Pourfarzam M, Nia KM, Atapour A, Sadeghi HMM. The influence of BsmI and TaqI vitamin D receptor gene polymorphisms on the intensity of hyperparathyroidism in Iranian hemodialysis patients. *Adv Biomed Res*. 2014;3:213.
52. Morrison NA, Yeoman R, Kelly PJ, Eisman JA. Contribution of trans-acting factor alleles to normal physiological variability: vitamin D receptor gene polymorphism and circulating osteocalcin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992 Aug 1;89(15):6665-9.
53. Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*. 1994 Jan 20;367(6460):284-7.
54. Acikbas I, Sanlı B, Tepeli E, Ergin S, Aktan S, Bagci H. Vitamin D receptor gene polymorphisms and haplotypes (Apa I, Bsm I, Fok I, Taq I) in Turkish psoriasis patients. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2012 Nov 1;18(11):CR661-6.