

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANA CAROLINA DE MIRANDA

AVALIAÇÃO PROGNÓSTICA DA RESERVA MICROVASCULAR ISQUÊMICA  
PERIFÉRICA NA SEPSE

CURITIBA

2022

ANA CAROLINA DE MIRANDA

AVALIAÇÃO PROGNÓSTICA DA RESERVA MICROVASCULAR ISQUÊMICA  
PERIFÉRICA NA SEPSE

Tese apresentada ao programa de pós-graduação em Medicina Interna, Curso de Pós-graduação em Medicina Interna, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Medicina Interna.

Orientador: Prof. Dr. Igor Alexandre Cortês de Menezes.

CURITIBA

2022

M672 Miranda, Ana Carolina de  
Avaliação prognóstica da reserva microvascular isquêmica periférica na sepse [recurso eletrônico] / Ana Carolina de Miranda -- Curitiba, 2022.

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.  
Orientador: Prof. Dr. Igor Alexandre Cortês de Menezes

1. Sepse. 2. Microcirculação. 3. Índice de perfusão. 4. Peptídeo relacionado com gene de calcitonina. 5. Ácido Láctico. I. Menezes, Igor Alexandre Cortês de. II. Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR  
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, BIBLIOTECÁRIA: RAQUEL PINHEIRO COSTA  
JORDÃO CRB 9/991



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MEDICINA INTERNA E  
CIÊNCIAS DA SAÚDE - 40001016012P1

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação MEDICINA INTERNA E CIÊNCIAS DA SAÚDE da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **ANA CAROLINA DE MIRANDA** intitulada: "**AVALIAÇÃO PROGNÓSTICA DA RESERVA MICROVASCULAR ISQUÊMICA PERIFÉRICA NA SEPSE.**", sob orientação do Prof. Dr. IGOR ALEXANDRE CÔRTEZ DE MENEZES, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de doutora está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 02 de Dezembro de 2022.

Assinatura Eletrônica

02/12/2022 12:45:43.0

IGOR ALEXANDRE CÔRTEZ DE MENEZES

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

02/12/2022 12:11:14.0

GUSTAVO LENCI MARQUES

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

02/12/2022 14:49:15.0

JAMIL ASSREUY FILHO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA)

Assinatura Eletrônica

02/12/2022 15:00:21.0

MAURICIO DE CARVALHO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

07/12/2022 11:15:15.0

MURILLO SANTUCCI CÉSAR DE ASSUNÇÃO

Avaliador Externo (FACULDADE ISRAELITA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
ALBERT EINSTEIN)

---

Rua General Carneiro, 181 - Prédio Central - 11º Andar - Curitiba - Paraná - Brasil

CEP 80060-150 - Tel: (41) 3360-1099 - E-mail: ppgmedicina@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 239668

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>  
e insira o código 239668

Dedico essa tese a minha família que sempre  
me estimulou a estudar e crescer  
profissionalmente.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu marido e filha, que amo de forma incondicional, pelo apoio, compreensão e suporte; e por tornarem meus dias mais leves e especiais.

Aos meus pais, por terem me dado a oportunidade de ser médica, por me apoiarem sempre nos estudos e por me estimularem a sempre correr atrás dos meus sonhos.

A minha irmã e sua família, pelo apoio, atenção e amor.

Ao meu orientador, Dr. Igor Alexandre Cortês Menezes, amigo, parceiro e grande incentivador na realização desse trabalho. Inspira-me seu jeito entusiasmado para realização de pesquisas e aquisição constante de aprendizados. Obrigada pela sua dedicação, paciência e conhecimentos.

As minhas companheiras de equipe Bruna Cassia Dal Vesco, Erika Fernanda Iannoni de Moraes e Fernanda do Carmo de Stefani que me ajudaram na coleta e deram apoio para concretização de tal pesquisa.

Ao Dr Hipólito Carraro Junior, Dr Alain Márcio Luy e equipe da Unidade Intensiva pelo suporte, compreensão e pelas discussões a respeito do conteúdo do trabalho e aplicações clínicas.

Aos pacientes e familiares responsáveis pela participação na pesquisa e pela confiança em meu trabalho.

## RESUMO

Os distúrbios da reatividade microvascular têm sido associados às disfunções orgânicas e a piores desfechos clínicos na sepse. O potencial diagnóstico e prognóstico da avaliação da reserva microvascular isquêmica periférica (RMIP) como forma de monitorização desses distúrbios foi demonstrado recentemente no choque séptico. No entanto, até o momento, não existem evidências claras na literatura confirmando tal achado na sepse e investigando possíveis fatores associados ao seu valor prognóstico. Nesse sentido, o presente trabalho buscou avaliar essa ferramenta de monitorização microcirculatória na sepse e investigar a influência dos níveis de lactato e dos neuropeptídeos no potencial prognóstico da RMIP. Trata-se de um estudo observacional realizado em 4 unidades de terapia intensiva (UTI) de Curitiba-PR, entre novembro de 2020 e maio de 2022. Foram incluídos pacientes adultos com o diagnóstico de sepse. Após o período de ressuscitação volêmica, a RMIP foi avaliada utilizando a associação dos métodos de hiperemia reativa pós oclusão (HRPO) vascular com o índice de perfusão periférica (IPP) por dois dias consecutivos. Adicionalmente, foram coletadas amostras de sangue venoso periférico pré e pós teste nas primeiras 24 horas (h) para avaliação dos níveis de neuropeptídeos, e de sangue arterial pré-teste no 1º e 2º dia de avaliação para análise dos níveis de lactato sérico. Análises realizadas: 1. Comparação dos dados entre grupos com alta e baixa RMIP na sepse; 2. Avaliação prognóstica seriada da RMIP na sepse e seus subgrupos (com e sem choque); 3. Análise das variações dos níveis de lactato entre os grupos (alta e baixa RMIP) ao longo das primeiras 48 h do diagnóstico da sepse no contexto da hiperlactatemia persistente (HP); 4. Correlação entre os níveis de lactato e sua dinâmica temporal (DTL) ao longo das primeiras 48 h com a RMIP; 5. Correlação entre os níveis basais dos neuropeptídeos e suas variações pré e pós teste de HRPO com a RMIP nas primeiras 24 h do diagnóstico da sepse. Foram incluídos no estudo 226 pacientes. Desses, 117 (52%) apresentavam-se com baixa RMIP e 109 (48%) com alta RMIP no 1º dia de avaliação. A presença de uma alta RMIP foi associada a uma maior mortalidade intra-hospitalar em 28 dias na sepse (RR 1,25, IC 95% 1,00-1,55,  $p = 0,04$ ), e manteve-se como preditor independente na análise multivariada. Já quando analisamos tais diferenças nos subgrupos da sepse, essas somente foram significativas no choque séptico, tendo o grupo de alta RMIP um maior risco para mortalidade (RR 2,14, IC 95% 1,49-3,08,  $p = 0,01$ ), quando comparado com o de baixa RMIP. A análise temporal da RMIP não demonstrou manutenção do valor preditivo para mortalidade ao longo das primeiras 48 h em nenhum dos grupos ( $p > 0,05$ ). A avaliação da variação dos níveis do lactato ao longo das primeiras 48 h mostrou uma redução mais efetiva no grupo com baixa RMIP ( $p < 0,01$ ). Adicionalmente foi verificada uma fraca correlação entre RMIP (%) e níveis de lactato (mmol/L) no 1º dia de avaliação ( $r = 0,23$ ;  $p < 0,05$ ). No entanto, não foram observadas correlações significativas ( $p > 0,05$ ) entre essas variáveis no 2º dia, nem entre a RMIP 24 h (%) com os valores da DTL (%). Por fim, o presente estudo não observou correlações significativas entre os níveis basais (pg/ml) ou variações dos níveis de neuropeptídeos pré e pós teste HRPO (%) e a RMIP (%) dentro das primeiras 24 h do diagnóstico ( $p > 0,05$ ). Em conclusão, a presença de uma alta RMIP demonstrou ser um potencial marcador prognóstico na sepse nas primeiras 24 h do diagnóstico, sendo que os valores no choque séptico representaram possíveis mediadores de efeito. Aditivamente, a RMIP parece influenciar positivamente nos níveis de lactato, de tal forma que pacientes com uma baixa RMIP aparentemente reduzem mais eficientemente esse biomarcador no contexto da HP. Por fim, embora os neuropeptídeos possam ter um papel prognóstico na sepse, estes não parecem contribuir para a RMIP.

**Palavras-chave:** sepse; microcirculação; reatividade microvascular; índice de perfusão periférica; peptídeo relacionado ao gene da calcitonina; substância p; lactato.

## ABSTRACT

Disorders of microvascular reactivity have been associated with organ dysfunction and worse clinical outcomes in sepsis. The diagnostic and prognostic potential of ischemic peripheral microvascular reserve (PIMR) assessment to monitor these disturbances was recently demonstrated in septic shock. However, so far, there is no clear evidence in the literature confirming such findings in sepsis and investigating possible factors associated with its prognostic value. In this sense, the present study aimed to validate this new tool for microcirculatory monitoring in sepsis and to investigate the influence of lactate levels and neuropeptides on the prognostic potential of PIMR. This observational study was conducted in four intensive care units in Curitiba-PR between November 2020 and May 2022. Adult patients diagnosed with sepsis were included. After the volume resuscitation period, the PIMR was evaluated using the association of vascular post-occlusion reactive hyperemia (PORH) with the peripheral perfusion index (PPI) methods for two consecutive days. Additionally, pre and post-test peripheral venous blood samples were collected in the first 24 h to assess neuropeptide levels, and pre-test arterial blood samples were collected on the first and second days of evaluation to analyze serum lactate levels. Analyses: 1. Comparison of data between groups with high and low PIMR in sepsis; 2. Serial prognostic evaluation of PIMR in sepsis and its subtypes (with and without shock); 3. Analysis of variations of lactate levels between groups (high and low PIMR) over the first 48 h of sepsis diagnosis in the context of persistent hyperlactatemia (PH); 4. Correlation between lactate levels and their temporal dynamics (TDL) over the first 48 h with PIMR; 5. Correlation between baseline neuropeptide levels and their variations pre and post-PORH test with PIMR over the first 24 h of sepsis diagnosis. Two hundred twenty-six patients were included in the study. 117 (52%) of these had low PIMR, and 109 (48%) had high PIMR on day 1 of evaluation. A high PIMR was associated with higher in-hospital 28-day mortality rates in sepsis (RR 1.25, 95% CI 1.00-1.55,  $p = 0.04$ ), maintaining its value to prognosis in multivariate analysis. When we analyzed such differences in sepsis subgroups, they were only statistically significant in septic shock, and the group with high PIMR had a higher risk for 28-day mortality (RR 2.14, 95% CI 1.49-3.08,  $p = 0.01$ ) when compared to the group with low PIMR. Subsequently, a temporal analysis of PIMR did not demonstrate maintenance of the predictive value for mortality over the first 48 h in either group ( $p > 0.05$ ). Evaluation of the variation in lactate levels between groups over the first 48 h showed a more effective reduction in lactate levels in the group with low PIMR ( $p < 0.01$ ). Furthermore, a weak correlation was found between PIMR (%) and lactate levels (mmol/L) on day 1 of evaluation ( $r = 0.23$ ;  $p < 0.05$ ). However, no significant correlations ( $p > 0.05$ ) were observed between these variables on day 2, nor between 24 h PIMR (%) with TDL values (%). Finally, the present study observed no statistically significant correlations between baseline levels (pg/ml) or variations in pre- and post-test PORH neuropeptide levels (%) and the PIMR (%) within the first 24 h of diagnosis ( $p > 0.05$ ). In conclusion, a high PIMR was shown to be a potential prognostic marker in sepsis within the first 24 h of diagnosis, with values in septic shock representing possible effect mediators. Additively, PIMR appears to positively influence lactate levels, such that patients with a low PIMR apparently reduce these biomarker levels more efficiently in the context of PH. Finally, although neuropeptides may have a prognostic role in sepsis, they do not appear to contribute to PIMR.

**Keywords:** sepsis; microcirculation; microvascular reactivity; peripheral perfusion index; calcitonin gene-related peptide; substance p; lactate.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A1/A2	Receptores Adenosina 1 e 2
AA	Ácido Araquidônico
AC	Adenilato Ciclase
AIQ	Amplitude Interquartil
APACHE II	Acute Physiology and Chronic Health disease Classification System II
AT1	Receptor de Angiotensina II do tipo 1
ATP	Adenosina Trifosfato
AVP	Argina-Vasopressina
ASIC 3	Canal iônico sensível a ácido 3
BH4, 5,6,7,8	5,6,7,8-tetrahidrobiopterina
BKCa	Canais de potássio ativados por cálcio de alta condutância
cAMP	Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
Ca <sup>+2</sup>	Cálcio
Cav	Caveolina
CGRP	Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina
CHC-UFPR	Complexo Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná
CNPq	Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico
CO	Monóxido de Carbono
CoA	Coenzima A
COX-2	Ciclooxigenase 2
CYP	Citocromo P450
DC	Débito Cardíaco
DU	Débito urinário
DP	Desvio Padrão
DTL	Dinâmica Temporal do Lactato
DVA	Droga Vasoativa
EETs	Ácido Epoxyeicosatrienóico
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
eNOS	Óxido Nítrico Sintase Endotelial
Erk	Quinase regulada por sinais extracelulares
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético

FC	Frequência Cardíaca
FCR	Força Centrífuga Relativa
FIO <sub>2</sub>	Fração Inspirada de Oxigênio
GMPc	Guanosina monofosfato cíclico
GTP	Trifosfato de guanosina
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HETE	Ácido hidroxicicosatetraenoico
HRPO	Hiperemia reativa pós-oclusão
HP	Hiperlactatemia persistente
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
IPP	Índice de Perfusão Periférica
K <sup>+</sup>	Potássio
L-Arg	L-arginina
LDH	Lactato Desidrogenase
LOX	Lipoxigenase
MAPK	Proteína Quinase Ativada Por Mitógeno
MEK $\frac{1}{2}$	Quinase ativadora da MAPK $\frac{1}{2}$
NAD <sup>+</sup>	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Oxidado
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Reduzido
NADPH	Fosfato de Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina
NK1	Neurocinina 1
NIRS	Espectroscopia Próxima ao Infravermelho
NO	Óxido Nítrico
O <sub>2</sub>	Oxigênio
ONOO-	Peroxinitrito
PAM	Pressão Arterial Média
PAT	Tonometria Arterial periférica
PCR	Proteína C Reativa
PDH	Piruvato Desidrogenase
PFK	Fosfofructoquinase
PGI-2	Prostaciclina
PKA	Proteína Quinase A
PKG	Proteína Quinase dependente de GMPc
PLA <sub>2</sub>	Fosfolipase A <sub>2</sub>

PO2	Pressão Parcial de Oxigênio
Pv-aCO2	Diferença Venoarterial da Pressão Parcial de Dióxido de Carbono
PVC	Pressão venosa central
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RMIP	Reserva Microvascular Isquêmica Periférica
RNI	Razão Normalizada Internacional
RR	Risco Relativo
SvcO2	Saturação Venosa Central de Oxigênio
sGC	Guanilato Ciclase Solúvel
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
SP	Substância P
SSC	Surviving Sepsis Campaign
TEC	Tempo de Enchimento Capilar
THETA	Ácido Trihidroxi Eicosatrienóico
TRPV1	Receptor de Potencial Transiente Vanilóide 1
TTPA	Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
XO	Xantina Oxidase

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
1.1 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO .....	16
1.2 OBJETIVOS.....	16
1.2.1 OBJETIVOS PRIMÁRIOS .....	16
1.2.2 Objetivos Secundários .....	16
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>17</b>
2.1 SEPSE E CHOQUE SÉPTICO: DEFINIÇÃO .....	17
2.2 SEPSE E CHOQUE SÉPTICO: EPIDEMIOLOGIA .....	19
2.3 MICROCIRCULAÇÃO .....	19
2.4 DISTÚRBIOS MICROVASCULARES NA SEPSE.....	20
2.5 REATIVIDADE MICROVASCULAR NA SEPSE.....	22
2.6 AVALIAÇÃO DA REATIVIDADE MICROVASCULAR.....	23
2.7 PAPEL DO IPP PARA MEDIR A HRPO .....	26
2.8 NEUROPEPTÍDEOS: ATUAÇÃO NA HRPO E NA FISIOPATOLOGIA DA SEPSE .....	27
2.8.1 Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina.....	28
2.8.2 Substância P.....	30
2.9 LACTATO: FISIOPATOLOGIA E VALOR PROGNÓSTICO NA SEPSE.....	32
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>35</b>
3.1 TIPO DE PESQUISA.....	35
3.2 CARACTERIZAÇÃO DA ORGANIZAÇÃO .....	35
3.3 PARTICIPANTES .....	35
3.3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO .....	35
3.3.2 Critérios de exclusão .....	35
3.4 CÁLCULO AMOSTRAL .....	36
3.5 PROTOCOLO DO ESTUDO .....	36
3.6 DADOS COLETADOS.....	37
3.6.1 Avaliação da reserva microvascular isquêmica periférica .....	38
3.6.1.1 Índice de perfusão periférica .....	38
3.6.1.2. Hiperemia reativa pós-oclusão .....	39
3.6.2 Avaliação do tempo de enchimento capilar.....	40

3.6.3 Avaliação dos níveis dos neuropeptídeos e suas variações em resposta ao teste de HRPO .....	41
3.6.4 Avaliação da hiperlactatemia persistente e dinâmica temporal do lactato nas primeiras 48 horas do diagnóstico da sepse.....	42
3.7 SUBGRUPOS DA SEPSE ANALISADOS .....	42
3.8 DESENHOS DO ESTUDO.....	43
3.8.1. Prospectivo .....	43
3.8.2 Retrospectivo longitudinal.....	43
3.8.3 Transversal .....	43
3.9 DESFECHOS .....	43
3.9.1 Desfechos primários .....	43
<b>4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....</b>	<b>45</b>
4.1 ESTATÍSTICA DESCRITIVA E INFERENCIAL .....	45
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>46</b>
5.1 CARACTERÍSTICAS BASAIS POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	46
5.2 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL PROGNÓSTICO DA RMIP NA SEPSE .....	48
5.3 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL PROGNÓSTICO DA RMIP NOS SUBGRUPOS DA SEPSE.....	50
5.4 VARIAÇÕES DA RMIP ENTRE SOBREVIVENTES E NÃO SOBREVIVENTES AO LONGO AS PRIMEIRAS 48 HORAS DO DIAGNÓSTICO NA SEPSE E SEUS SUBGRUPOS.....	51
5.5 HIPERLACTATEMIA PERSISTENTE ASSOCIADA À SEPSE E RMIP .....	53
5.5.1 Análise temporal dos níveis de lactato entre grupos com alta e baixa RMIP .....	54
5.5.3 Correlação entre RMIP e mudanças nos níveis de lactato ao longo do tempo.....	55
5.6 NEUROPEPTÍDEOS E RMIP .....	56
5.6.1 Variação dos níveis dos neuropeptídeos durante o teste de HRPO.....	56
5.6.2 Correlação entre níveis de neuropeptídeos e sua variação pré e pós teste com a RMIP .	57
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>58</b>
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>64</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>66</b>
<b>APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....</b>	<b>77</b>
<b>APÊNDICE B – PROTOCOLO DO ESTUDO.....</b>	<b>80</b>
<b>ANEXO A – FONTES DE FINANCIAMENTO DO ESTUDO.....</b>	<b>84</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A sepse corresponde a um distúrbio que ocorre mediante a entrada de um organismo patogênico no corpo humano no qual as respostas imune-metabólicas acontecem de forma generalizada e desregulada, resultando em disfunções orgânicas potencialmente fatais (SINGER et al., 2016). Apesar dos avanços em relação ao seu entendimento fisiopatológico, esse distúrbio acomete anualmente milhões de pacientes e persiste como uma das principais causas de óbito mundialmente (RUDD et al., 2020).

O ambiente instável da sepse frequentemente induz a uma disfunção macrocirculatória a qual, normalmente, consegue ser contornada com uma ressuscitação hemodinâmica bem-sucedida. Além disso, em grande parte dos pacientes tal medida clínica concomitantemente determina uma otimização do fluxo sanguíneo microcirculatório (OSPINA-TASCON et al., 2010; POTTECHER et al., 2010). No entanto, mesmo com a estabilização dos parâmetros macrohemodinâmicos, uma parcela desses pacientes evolui com uma disfunção progressiva da microcirculação, caracterizando uma perda de coerência entre a macro e microcirculação, a qual está associada ao desenvolvimento das disfunções orgânicas e a piores desfechos clínicos (DE BACKER et al., 2002, 2013; SAKR et al., 2004; OSPINA-TASCON et al., 2010; TRZECIAK et al., 2007). Dentre os mecanismos atribuídos ao acometimento progressivo da microcirculação, ressaltam-se a os distúrbios de reatividade microvascular os quais são caracterizados por uma disfunção na capacidade do vaso em contrair ou relaxar mediante certos estímulos (DE BACKER et al., 2014).

Nos últimos 10 anos, evidências demonstraram o valor e a segurança da avaliação desses distúrbios de reatividade microvascular em órgãos periféricos por meio da associação de métodos não invasivos, realizados a beira de leito, tais como o índice de perfusão periférico (IPP) em associação com um teste dinâmico de oclusão arterial denominado Hiperemia reativa pós-oclusão vascular (HRPO) para avaliar a variação percentual do fluxo sanguíneo em resposta a uma hipóxia tecidual transitória (HE et al., 2013; MENEZES et al., 2018; 2019) e, dessa forma, estimar a reatividade e reserva microvascular isquêmica periférica (RMIP). Interessantemente, o estudo de Menezes e colaboradores (2019) observou que pacientes com choque séptico que não sobreviveram dentro dos primeiros 28 dias do diagnóstico, apresentavam maiores valores de reserva microvascular isquêmica periférica quando comparados aos sobreviventes. Contradizendo tal evidência, outros estudos, utilizando outros métodos, tais como, a espectroscopia próxima do infravermelho (NIRS) e tonometria arterial periférica (PAT) verificaram associações entre uma pior reatividade e a severidade da sepse (DAVIS et al., 2009;

DOERSCHUG et al., 2007). Dessa forma, até o momento, não existem evidências claras na literatura confirmando o potencial prognóstico da RMIP na sepse e elucidando possíveis mecanismos fisiopatológicos que expliquem esse achado.

Uma possível hipótese é baseada no papel das substâncias liberadas por nervos sensoriais denominadas “Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina” (CGRP) e a “Substância P” (SP). Esses neuropeptídeos, além de constituírem parte dos mecanismos responsáveis pela vasodilatação cutânea, interferem na modulação imunológica (SCHLERETH et al., 2016) e apresentam valor prognóstico já evidenciado na sepse (BEER et al., 2002; LORENTE et al., 2015, 2017). Além disso, evidências experimentais sugerem fortemente o envolvimento dos nervos sensoriais cutâneos na resposta pós isquêmica em indivíduos saudáveis (LARKIN; WILLIAMS, 1993; LORENZO; MINSON, 2007). Nesse sentido, é possível hipotetizar que um aumento do nível dos neuropeptídeos na sepse poderia contribuir para alta RMIP e, concomitantemente, induzir a uma resposta imunológica desregulada que explicaria os piores desfechos.

Outra possível hipótese para tal contexto paradoxal seria baseada na dinâmica temporal dos níveis do lactato (DTL) na sepse. Esse representa um biomarcador bem conhecido associado à hipoperfusão tecidual sendo, dessa forma, essencial para o reconhecimento de disfunção cardiocirculatória (EVANS et al., 2021), análise de resposta terapêutica (GU; ZHANG; BAKKER, 2015) e avaliação prognóstica na sepse (CASSERLY et al., 2015). No entanto, uma vez realizada uma ressuscitação hemodinâmica bem-sucedida com fluidos, outros mecanismos devem ser elencados para justificar a persistência de níveis de lactato no organismo do paciente com sepse, tais como: a quantidade de ringer lactato utilizado durante a ressuscitação hemodinâmica (BOYSEN S.R.; DORVAL P., 2014); medicações em uso (JANSEN T.C., VAN BOMMEL J., BAKKER J. 2009); perda da habilidade dos tecidos extraírem o oxigênio secundário aos danos endoteliais microvasculares e edema tecidual, disfunções mitocondriais e enzimáticas, aumento da glicólise excedendo a capacidade de metabolização, estimulação  $\beta_2$  adrenérgica pelas drogas vasoativas, e, por fim, as disfunções orgânicas, reduzindo a capacidade de eliminação desse biomarcador (GARCIA-ALVAREZ; MARIK; BELLOMO, 2014; SUETRONG; WALLEY, 2016). Nesse sentido, a persistência de hiperlactatemia, e sua conhecida associação com piores desfechos (CASSERLY et al., 2015; TANG et al., 2015), poderia corresponder a uma possível variável confundidora na associação entre a alta RMIP e um pior prognóstico na sepse.

Desta maneira, o presente trabalho buscou analisar o valor prognóstico RMIP na sepse e seus subgrupos e investigar os possíveis fatores associados a esse potencial de prever desfechos.

## 1.1 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

A sepse corresponde a um problema de saúde pública global com relevante impacto socioeconômico e na morbimortalidade. Apesar de sua fisiopatologia não ser bem compreendida, os distúrbios de reatividade microvascular parecem contribuir para o desenvolvimento das disfunções orgânicas secundárias à sepse. A dificuldade de visualização desses distúrbios entre órgãos vitais traz consigo a atrativa ideia da avaliação de órgãos não vitais, tais como a pele, por meio de métodos não invasivos, com o objetivo de identificação precoce de preditores mensuráveis e, possivelmente, modificáveis, cujo manejo personalizado possa melhorar os desfechos clínicos dos pacientes com sepse. Nesse sentido, a avaliação do potencial prognóstico da RMIP na sepse e seus subgrupos e investigação fisiopatológica, possivelmente, pode auxiliar no diagnóstico das disfunções microvasculares e contribuir para uma futura validação e orientação de manejo clínico.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 OBJETIVOS PRIMÁRIOS

- Analisar o papel prognóstico da RMIP por meio da associação dos métodos do IPP e HRPO na sepse e seus subgrupos específicos: com e sem choque.

### 1.2.2 Objetivos Secundários

- Analisar as variações da RMIP entre sobreviventes e não sobreviventes ao longo das primeiras 48 horas do diagnóstico na sepse e seus subgrupos.
- Analisar as variações do lactato entre os grupos com alta e baixa RMIP ao longo das primeiras 48 horas do diagnóstico no contexto da hiperlactatemia persistente secundária a sepse.
- Analisar a influência dos neuropeptídeos na RMIP de pacientes com sepse.
- Analisar a RMIP como marcador prognóstico independente.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 SEPSE E CHOQUE SÉPTICO: DEFINIÇÃO

A invasão de microrganismos patogênicos em um tecido previamente estéril, normalmente, resulta em um descontrole da homeostase local (NEVIERE, 2019; RELLO et al., 2017). No entanto, existem casos em que as alterações imunometabólicas acontecem de forma desregulada e disseminada, e culminam em disfunções de diversos órgãos e sistemas, caracterizando a entidade clínica denominada “sepsis” (SINGER et al., 2016).

Até o momento, os mecanismos fisiopatológicos da sepsis não são totalmente compreendidos. Estudos de revisão demonstraram que esse processo parece englobar uma interação desequilibrada e intensificada entre as respostas pró-inflamatórias e imunossupressoras do sistema imune inato e adaptativo, ativação do complemento e da coagulação, associada às alterações metabólicas, disfunções mitocondriais, endoteliais e de microcirculação (DELANO; WARD, 2016; VAN DER POLL et al., 2017). Tais fatores induzem modificações estruturais e funcionais em diversos órgãos e sistemas, tais como, o cardiovascular, respiratório, neuronal, hematológico, hepático e renal (NEVIERE; ROMANOVA, 2019).

O estímulo para o desenvolvimento de tal síndrome pode ser estabelecido por qualquer organismo infeccioso (CECCONI et al., 2018). No entanto, por muitas vezes esses não são identificados por meio das culturas (GUPTA et al., 2016). Dentre os focos infecciosos mais comumente acometidos estão os pulmões (64%), o abdômen (20%), a corrente sanguínea (15%) e o trato geniturinário (14%) (KARLSSON et al., 2007; VINCENT et al., 2009).

Em 2016, o 3º Consenso internacional para definição de sepsis e choque séptico (SEPSIS-3) estabeleceu uma redefinição da sepsis como “uma resposta desregulada do hospedeiro à uma infecção associada a disfunções orgânicas com risco à vida”(SINGER et al., 2016), sendo necessário para o seu diagnóstico a presença de uma infecção, suspeita ou confirmada, combinada com uma pontuação  $\geq 02$  no escore “*Sequential Organ Failure Assessment*” (SOFA) (SINGER et al., 2016). Esse escore utiliza parâmetros clínicos cotidianos para identificar as principais disfunções orgânicas associadas a um processo infeccioso (LELUBRE; VINCENT, 2018) e estabelece, por meio de sua pontuação, uma estimativa de gravidade do quadro (Tabela 1). As principais alterações orgânicas são caracterizadas por hipotensão, hipoxemia, disfunção renal, disfunção hepática, trombocitopenia e redução do nível de consciência (SINGER et al., 2016).

TABELA 1 - SEQUENTIAL ORGAN FAILURE ASSESSMENT SCORE (SOFA)

SISTEMA	ESCORE				
	0	1	2	3	4
<b>RESPIRATÓRIO</b>					
PO2/FIO2	≥400	<400	<300	<200 com suporte ventilatório	<100 com suporte ventilatório
<b>COAGULAÇÃO</b>					
Plaquetas (x10 <sup>3</sup> )	≥150	<150	<100	<50	<20
<b>HEPÁTICO</b>					
Bilirrubinas (mg/dl)	<1.2	1.2-1.9	2.0-5.9	6.0-11.9	>12.0
<b>CARDIOVASCULAR</b>					
PAM (mmHg)	≥ 70	< 70			
Catecolaminas (ug/kg/min) por pelo menos 1 hora			Dopamina < 5 ou Dobutamina (qualquer dose)	Dopamina 5.1-15 ou Epinefrina ≤ 0.1 ou Norepinefrina ≤ 0.1	Dopamina > 15 ou Epinefrina > 0.1 ou Norepinefrina > 0.1
<b>SISTEMA NERVOSO CENTRAL</b>					
Escala de coma de Glasgow	15	13-14	10-12	6-9	<6
<b>RENAL</b>					
Creatinina (mg/dl)	<1.2	1.2-1.9	2.0-3.4	3.5-4.9	>5.0
Débito Urinário (ml/24h)				< 500	200

FONTE: Adaptada de SINGER et al. (2016).

LEGENDA: PAM: pressão arterial média; PO2: pressão parcial de oxigênio; FIO2: fração inspirada de oxigênio.

Alguns casos de sepse progridem com falência cardiocirculatória, anormalidades metabólicas e celulares intensas, que resultam em altos índices de mortalidade. Esse é um subgrupo de sepse denominado choque séptico, cujo diagnóstico é estabelecido por: A) uma hipotensão refratária à adequada reposição volêmica com fluidos (cristaloides); e B) sinais de hipoperfusão tecidual identificados por valores de lactato sérico  $\geq 2$  mmol/L (>18 mg/dl), sendo necessário o início de droga vasoativa (noradrenalina) para manter índices de pressão arterial média (PAM)  $\geq 65$  mmHg (SINGER et al., 2016).

Por não existir tratamento específico anti-sepse, o controle de tal distúrbio consiste em uma detecção precoce, seguida de controle imediato do foco de infecção por meio de fármacos (antibióticos, antifúngicos ou antivirais) e uma estabilização hemodinâmica com administração de fluidos endovenosos (cristaloides) e, quando necessário, o uso de drogas vasoativas (BRACHT; HAFNER; WEISS, 2019).

## 2.2 SEPSE E CHOQUE SÉPTICO: EPIDEMIOLOGIA

A sepse representa um problema de saúde pública global com relevante impacto socioeconômico e na morbimortalidade (REINHART et al., 2017). Evidências recentes estimam uma incidência de sepse global em torno de 48.9 milhões com uma mortalidade de 11 milhões anualmente (RUDD et al., 2020).

Estudos epidemiológicos provenientes de países desenvolvidos demonstram uma redução na incidência de sepse nos últimos anos (FLEISCHMANN-STRUZEK et al., 2020). No entanto, essa síndrome persiste como uma das maiores causas de óbito em todo mundo. (RUDD et al., 2020). Já quando o tema é abordado em países de baixo e médio poder econômico esse representa um grande desafio, visto que o diagnóstico é tardio, existe uma deficiência de leitos em unidades de terapia intensiva e a coleta de dados é subestimada (STEPHEN; MONTOYA; ALUISIO, 2020).

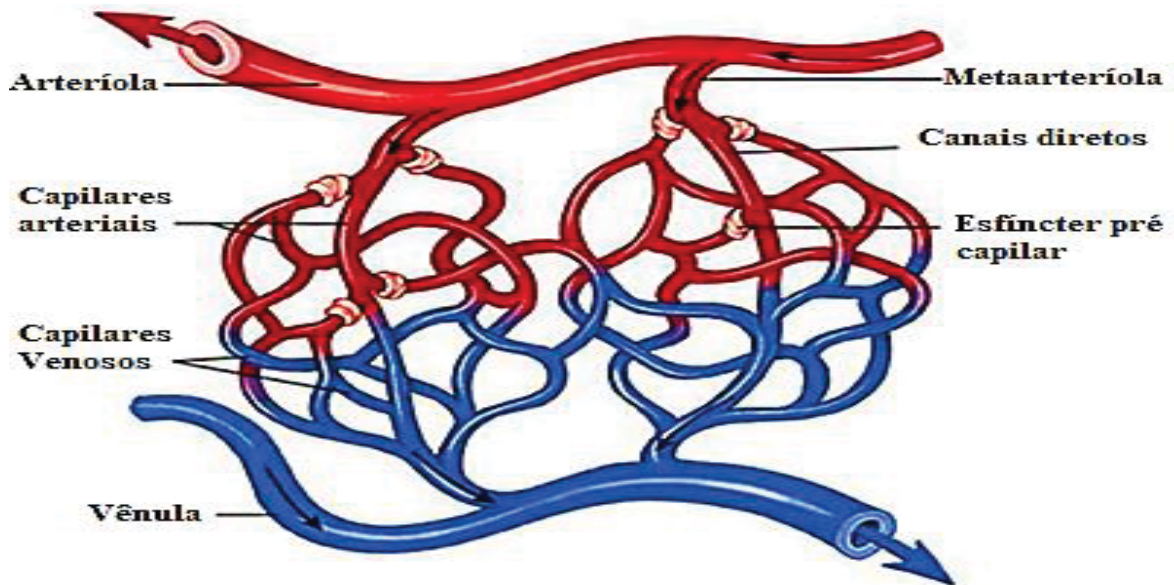
Dados recentes de estudos multicêntricos realizados no Brasil demonstram alta prevalência e incidência de sepse associadas a taxas de mortalidade, girando em torno de 45-65% (MACHADO et al., 2017; NEIRA; HAMACHER; JAPIASSU, 2018). Além disso, existe uma alarmante desigualdade de letalidade entre os setores públicos (55%) e privados (37%) (NEIRA; HAMACHER; JAPIASSU, 2018). E, quando comparados com países desenvolvidos, o Brasil aumentou a incidência de sepse nos últimos 20 anos (31.5/100.000 para 47.4/100.000 pessoas) e apresentou piores desfechos clínicos (NEIRA; HAMACHER; JAPIASSU, 2018).

## 2.3 MICROCIRCULAÇÃO

A microcirculação compreende pequenos vasos cujo diâmetro é menor que 100  $\mu\text{m}$ , representados pelas arteríolas, metarteríolas, capilares e vênulas (Figura 1) (MASSEY; SHAPIRO, 2016). A base dessa malha vascular é composta por células endoteliais, células musculares lisas (principalmente nas arteríolas), hemácias, leucócitos e componentes do plasma

sanguíneo (INCE, 2005). Apesar dessa base ser expressa em todos os tecidos do corpo humano, sua estrutura e função é distinta entre os órgãos (COBERT; SCHMIDT, 2016; INCE, 2005).

FIGURA 1 - MICROCIRCULAÇÃO



FONTE: Adaptada de TAFNER et al. (2017).

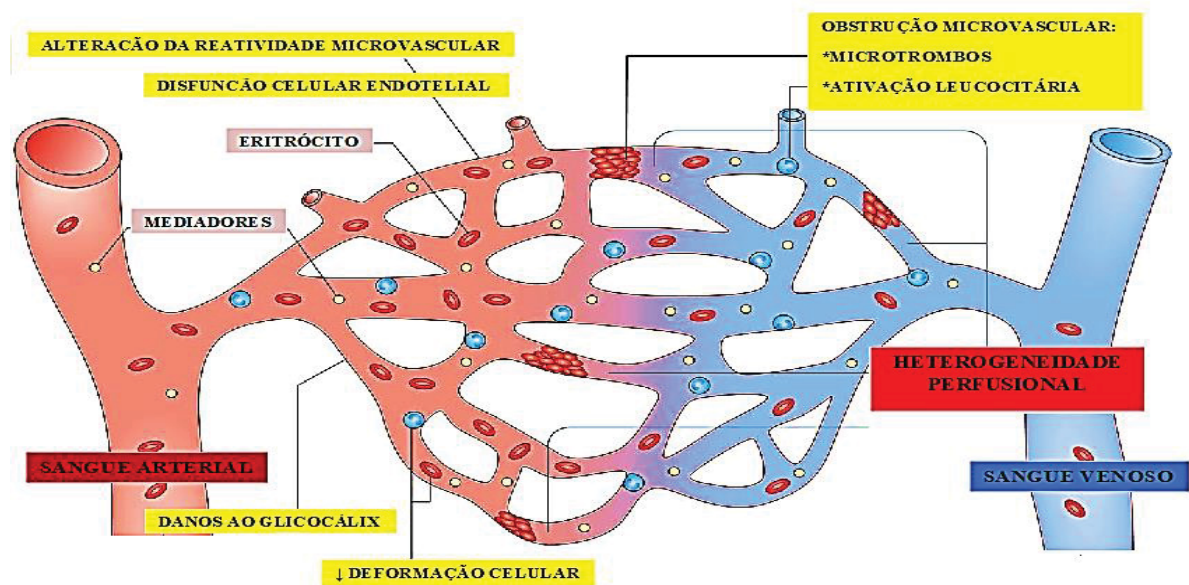
No que concerne a sua atividade funcional, as arteríolas, por meio da tonicidade vascular, controlam do fluxo sanguíneo conforme a demanda metabólica local (INCE, 2005). Essas estão conectadas por meio das metarteríolas aos capilares, cuja função remete às trocas de gases e nutrientes entre a corrente sanguínea e o tecido subjacente, e eliminação de produtos residuais (DE BACKER et al., 2010). A funcionalidade desses microvasos está condicionada ao grau de estabilidade homeostática local. Normalmente, funcionam com 20 a 30% de sua capacidade. No entanto, situações de estresse, tais como hipóxia tecidual, estimulam o desenvolvimento de um recrutamento capilar com o propósito de manutenção da homeostase sanguínea (TAFNER et al., 2017). E, por fim, fechando essa trama vascular, encontram-se as vênulas, as quais, por sua capacidade de distensibilidade, mobilizam e estocam grande quantidade de sangue (BERLIN; BAKKER, 2014).

#### 2.4 DISTÚRBIOS MICROVASCULARES NA SEPSE

A invasão de um organismo patogênico no corpo humano determina alterações microcirculatórias, tais como: variações no fluxo sanguíneo, aumento da permeabilidade vascular, migração e ativação de leucócitos e do sistema de coagulação (COBERT; SCHMIDT, 2016). Na sepse estas respostas passam a ocorrer de forma sistêmica, desregulada e exacerbada

(SINGER et al., 2016), induzindo ao desenvolvimento de células endoteliais, musculares lisas e do intravascular disfuncionais, degradação do glicocálix, adesão leucocitária inapropriada, microtrombozes e descontrole da reatividade microvascular, as quais determinam um desequilíbrio perfusional microvascular, associado a uma redução da atividade funcional vascular e do fluxo sanguíneo capilar em vários órgãos e sistemas (CHARLTON et al., 2017; COBERT; SCHMIDT, 2016; JOFFRE et al., 2020; POOL; GOMEZ; KELLUM, 2018). Esse acometimento microvascular determina uma heterogeneidade perfusional, a qual dificulta a oferta de oxigênio e nutrientes aos tecidos, e corresponde a parte dos mecanismos associados ao desenvolvimento das disfunções orgânicas secundárias à sepse (DE BACKER et al., 2014; LELUBRE; VINCENT, 2018; POOL; GOMEZ; KELLUM, 2018). A Figura 2 ilustra as alterações microvasculares secundárias à sepse.

FIGURA 2 -ALTERAÇÕES MICROVASCULARES NA SEPSE



FONTE: Adaptado de LELUBRE; VINCENT (2018).

Durante as fases iniciais da sepse, uma cuidadosa e otimizada ressuscitação hemodinâmica com fluidos representa uma medida clínica essencial para otimização macro e microhemodinâmica (EVANS et al., 2021). No entanto, em uma parcela dos pacientes as alterações microvasculares intrínsecas persistem, apesar da normalização de parâmetros macro hemodinâmicos, tais como o débito cardíaco (DC), pressão arterial média (PAM), pressão venosa central (PVC) e débito urinário (DU), correspondendo a uma perda de coerência entre a micro e macro hemodinâmica (INCE, 2015), a qual está associada a piores desfechos clínicos (DE

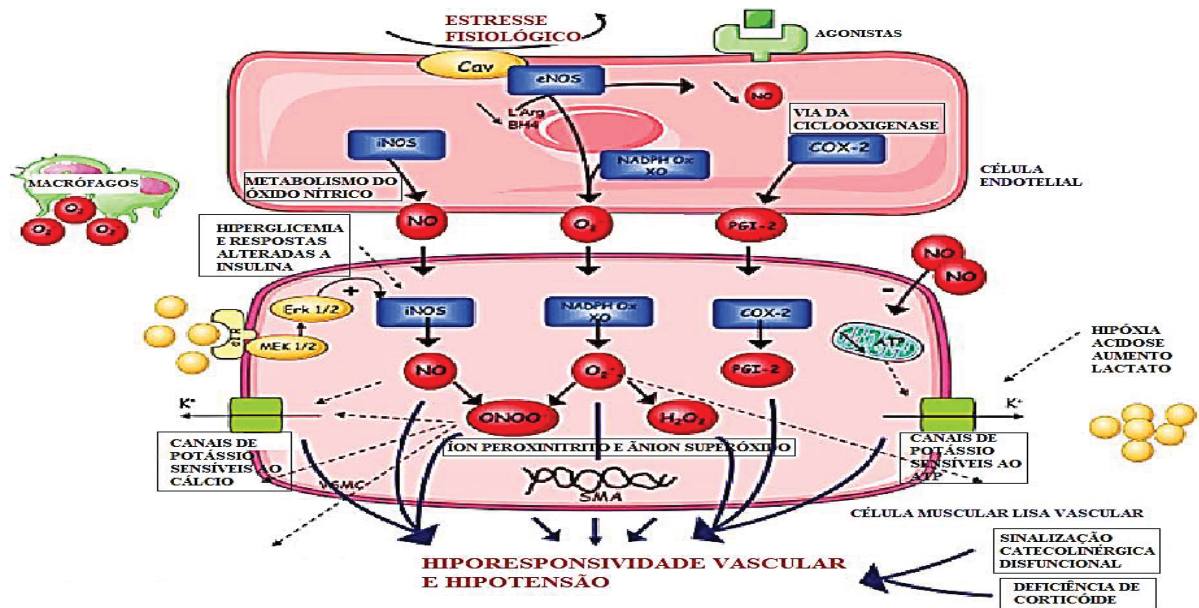
BACKER et al., 2002, 2011, 2013; SAKR et al., 2004; OSPINA-TASCON et al., 2010; TRZECIAK et al., 2007).

## 2.5 REATIVIDADE MICROVASCULAR NA SEPSE

A homeostase sanguínea depende, entre outros fatores, da capacidade dos vasos contraírem ou relaxarem mediante os diversos estímulos vasoativos exógenos e endógenos. Normalmente, na microcirculação esse processo é determinado de forma direta ou indireta por substâncias liberadas pelos nervos perivasculares associadas às secretadas pelas células endoteliais (DE BACKER et al., 2014). Dentre os mecanismos envolvidos nessa resposta vasomotora estão a vasodilatação induzida pelo fluxo sanguíneo, a regulação metabólica local e a resposta neuronal (ROUSTIT; CRACOWSKI, 2013).

Durante a sepse, a entrada de microrganismos patogênicos associada a exposição de substâncias derivadas, tanto dos patógenos quanto das células de defesa, induzem alterações estruturais e funcionais no endotélio, as quais contribuem diretamente para o desenvolvimento das disfunções vasomotoras (AIT-OUFELLA et al., 2010). Tal fato é corroborado por evidências robustas, as quais demonstraram uma associação positiva entre os danos endoteliais e a hiporesponsividade vascular (KAZUNE et al., 2019; LEVY et al., 2010). Nesse contexto, é importante ressaltar que distúrbios na produção de vasodilatadores endógenos, tais como o óxido nítrico (NO) e a prostaciclina (PGI-2), representam elementos essenciais para disfunção vasomotora (JOFFRE et al., 2020). Adicionalmente, outros fatores, tais como a redução de vasoconstrictores endógenos como por exemplo a endotelina e da expressão sensibilidade de receptores  $\alpha$ -adrenérgicos (BURGDORFF; BUCHER; SCHUMANN, 2018; LEVY et al., 2010), devem ser elencados como contribuidores do desenvolvimento de distúrbios motores microvasculares na sepse. A Figura 3 demonstra as diferentes vias metabólicas envolvidas na origem e progressão das disfunções motoras microvasculares secundárias à sepse.

FIGURA 3 - MECANISMOS DA DISFUNÇÃO MOTORA MICROVASCULAR NA SEPSE



FONTE: Adaptado de LEVY et al. (2010).

LEGENDA: AVP; Argina-Vasopressina; BH4, 5,6,7,8-tetrahidrobiopterina; Cav, Caveolina; COX-2, Ciclooxigenase-2; eNOS, Óxido Nítrico Sintase Endotelial; Erk, Quinase regulada por sinais extracelulares; H2O2, Peróxido de Hidrogênio; iNOS, Óxido Nítrico Sintase induzível; L-Arg, L-arginina; MAPK, Proteína Quinase Ativada por Mitógeno; MEK ½, quinase ativadora da MAPK ½; NADPH, Fosfato de Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina; NO, óxido nítrico; O2, oxigênio; ONOO-, Peroxinitrito; PGI-2, Prostaciclina; XO, Xantina Oxidase.

As alterações vasomotoras atribuídas à sepse conseguem ser identificadas a beira de leito nos casos em que, mesmo após o manejo clínico através ressuscitação hemodinâmica com fluidos associada a elevados níveis de catecolaminas (endógenas e exógenas), e da ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona), os pacientes apresentam uma hipotensão refratária (BURGDORFF; BUCHER; SCHUMANN, 2018; LEVY et al., 2010). Apesar de, conceitualmente, os defeitos da responsividade vascular na sepse estarem correlacionados negativamente aos estímulos vasoconstritores, essa pode ser observada em casos de inadequada resposta vasodilatadora fluxo-dependente secundária aos danos endoteliais (BECKER et al., 2012) e à acetilcolina (KUBLI et al., 2003).

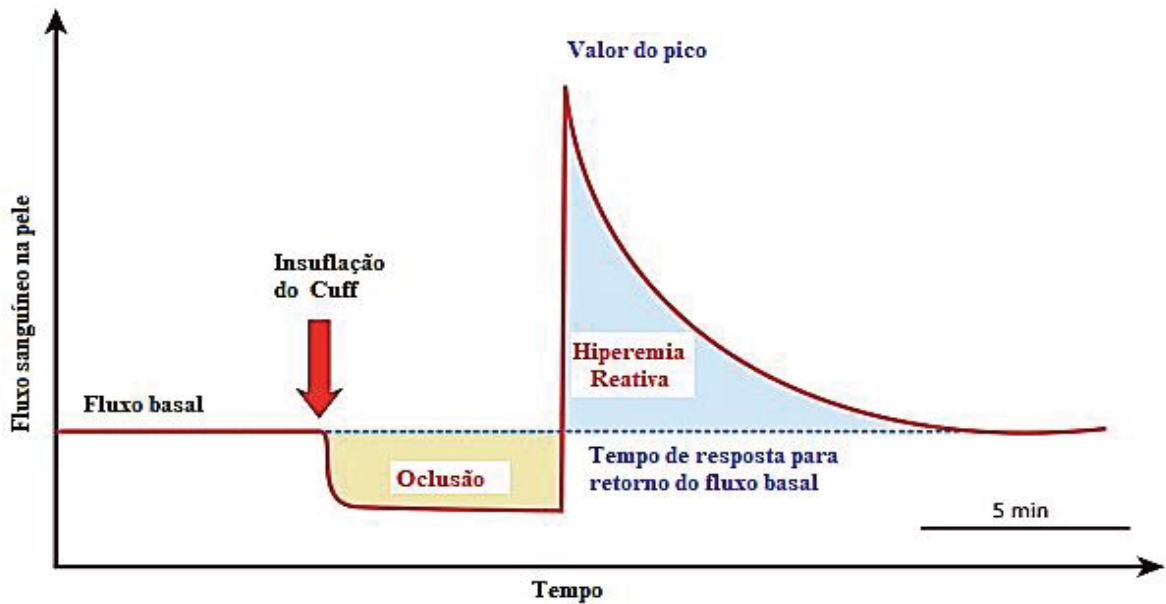
## 2.6 AVALIAÇÃO DA REATIVIDADE MICROVASCULAR

Levando em conta a relevância dos distúrbios motores vasculares como parte dos mecanismos atribuídos no desenvolvimento das disfunções orgânicas na sepse, sua monitorização é importante para um melhor entendimento fisiopatológico e desenvolvimento de propósitos terapêuticos que melhorem o desfecho desses pacientes.

As últimas duas décadas demonstraram avanços no entendimento fisiopatológico dos distúrbios motores microcirculatórios associados à sepse através de técnicas não invasivas, tais como o Doppler ultrassom (KNOTZER et al., 2007; MARTIN; OLANDER; NORMAN, 2001; WEXLER et al., 2012), tonometria da artéria periférica (DAVIS et al., 2009; MALHEIRO et al., 2020), espectroscopia no infravermelho próximo (DOERSCHUG et al., 2007) e a oximetria de pulso (MENEZES et al., 2018). Apesar de tais metodologias identificarem os defeitos na reatividade microvascular na sepse, demonstraram padrões divergentes em relação ao seu valor em prever desfechos clínicos, tais como as disfunções orgânicas e mortalidade (DOERSCHUG et al., 2007; KNOTZER et al., 2007; MENEZES et al., 2019; WEXLER et al., 2012).

A pele possui uma rica microcirculação periférica passível da observação da reatividade microvascular. Esse órgão possui algumas vantagens perante aos demais visto que, além de ser facilmente acessível, representa um dos primeiros locais a serem privados de fluxo sanguíneo nas fases iniciais da sepse (LIMA; BAKKER, 2014). Nesse local, estudos recentes (MENEZES et al., 2018; 2019) buscaram avaliar a reatividade microvascular e estimar a RMIP através da associação entre um teste caracterizado por uma isquemia tecidual seguida de rápida reperfusão tecidual denominado Hiperemia reativa pós-oclusão (HRPO), e um parâmetro da oximetria de pulso, que estima indiretamente o fluxo sanguíneo tecidual, chamado Índice de Perfusão Periférico (IPP). O teste de HRPO é executado através do insuflar de um manguito do esfigmomanômetro, acomodado na parte distal do braço, em torno de 50 mmHg acima da pressão sistólica basal do paciente. Após uma breve oclusão do leito arterial (em torno de 3 a 5 minutos) observa-se por meio dos métodos não-invasivos o aumento do fluxo tecidual dos dedos, o qual caracteriza a hiperemia reativa (CRACOWSKI et al., 2006). Como demonstrado na Figura 4, vários parâmetros conseguem ser obtidos com a realização do teste. Dentre os parâmetros mais comumente utilizados estão o valor do pico, a área abaixo da curva, valor de pico menos o basal e o cálculo de variação percentual  $\Delta \% = \frac{\text{Valor do pico} - \text{Valor basal}}{\text{Valor basal}} \times 100\%$  (ROUSTIT; CRACOWSKI, 2012).

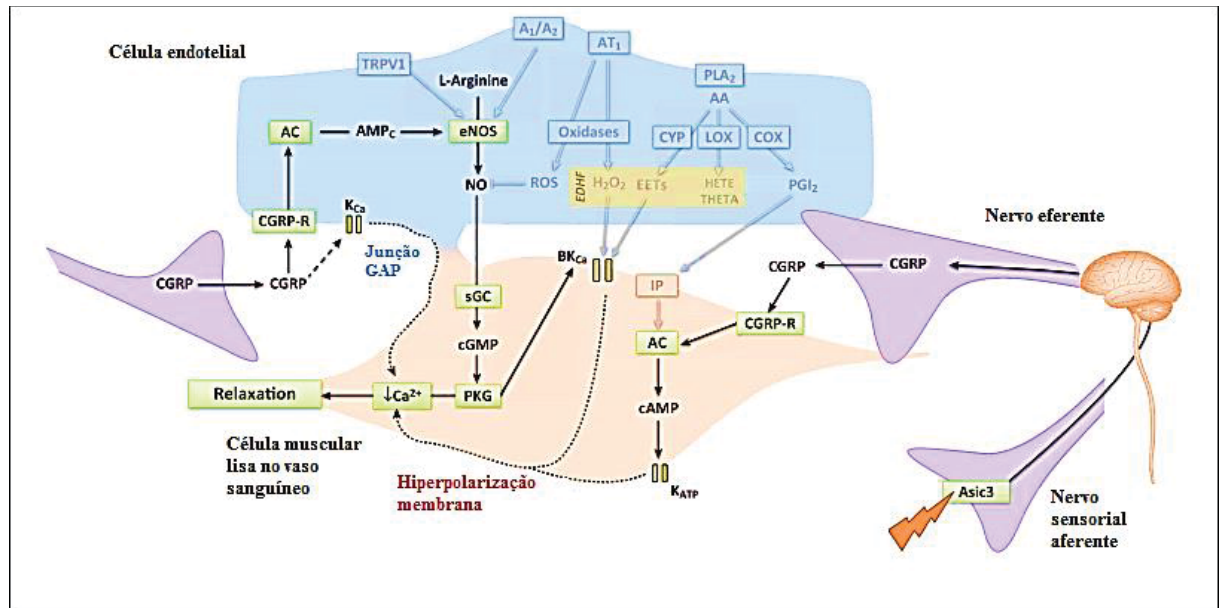
FIGURA 4 - HIPEREMIA REATIVA PÓS-OCCLUSÃO



FONTE: Adaptado de ROUSTIT; CRACOWSKI (2013).

Apesar de não serem totalmente compreendidos os mecanismos fisiopatológicos da HRPO na pele de pacientes com sepse, evidências prévias demonstraram que a expressão e liberação de neuropeptídeos via fibras nervosas sensoriais e substâncias derivadas do citocromo P450 (CYP) epoxigenase parecem ter um papel importante para pico e tempo da hiperemia em indivíduos saudáveis (CRACOWSKI; LORENZO; MINSON, 2007; CRACOWSKI et al., 2013; LARKIN; WILLIAMS, 1993; LORENZO; MINSON, 2007). Além dessas substâncias, outros mediadores locais como, por exemplo, os canais de potássio ativados por cálcio de alta condutância (BKCa) parecem estar envolvidos no processo (LORENZO; MINSON, 2007). Curiosamente, Wong et al. (2003) demonstraram que o óxido nítrico (NO), aparentemente, não media diretamente a hiperemia reativa pós isquêmica quando analisada no antebraço através dos parâmetros fluxométricos da Ultrassonografia doppler. Contradizendo tal evidência, Nohria e colaboradores (2006) observaram que tal vasodilatador endógeno parece contribuir para hiperemia analisada na ponta dos dedos através amplitude de volume de pulso digital (NOHRIA et al., 2006) (NOHRIA et al., 2006) (NOHRIA et al., 2006), demonstrando, dessa maneira, que novos estudos são necessários para elucidar tal assunto. Já em relação ao papel dos prostanoídes, evidências recentes sugerem que esses não representam mecanismos envolvidos na HRPO cutânea (HELLMANN et al., 2015). Como demonstrado na Figura 5, a ativação dos nervos periféricos e metabólitos do citocromo epoxigenases representam os principais mecanismos atribuídos ao processo de vasodilatação em resposta ao teste HRPO (ROUSTIT; CRACOWSKI, 2013).

FIGURA 5 - MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DA HIPEREMIA REATIVA DA PELE



FONTE: Adaptado de ROUSTIT; CRACOWSKI (2013).

LEGENDA: Setas cinzas: vias não envolvidas; Abreviaturas: A1/A2, receptores Adenosina 1 e 2; AA, Ácido Araquidônico; AC, Adenilato Ciclase; AT1, Receptor de Angiotensina II do Tipo 1; ASIC 3: Canal iônico sensível a Ácido 3; BKCa, Canais de Potássio Ativados por Cálcio de Alta Condutância; CGRP, Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina; COX, ciclooxigenase; CYP, Citocromo P450; EETs, Ácido Epoxieicosatrienóico; eNOS, NO sintase endotelial; HETE, Ácido Hidroxieicosatetraenóico; LOX, Lipoxigenase; NO, Óxido Nítrico; PGI<sub>2</sub>, Prostaciclina; PKG, Proteína Quinase dependente de GMPc; PLA<sub>2</sub>, Fosfolipase A<sub>2</sub>; ROS, Espécies Reativas de Oxigênio; sGC, Guanilase Ciclase Solúvel; THETA, Ácido Trihidroxi Eicosatrienóico; TRPV1, Receptor de Potencial Transiente Vanilóide 1.

Como pode ser visualizado na figura 5, outra possível via de interação durante a hiperemia reativa seria através do contato físico entre as células endoteliais e musculares, na qual as diversas vias metabólicas contribuem como parte dos mecanismos indutores da vasodilatação (ROUSTIT; CRACOWSKI, 2013).

## 2.7 PAPEL DO IPP PARA MEDIR A HRPO

A oximetria de pulso representa um método de uso rotineiro em ambientes hospitalares, em especial nas unidades de terapia intensiva para monitorização de pacientes críticos. Além dos dados de saturação de oxigênio e frequência cardíaca, novos oxímetros fornecem o dado “IPP”, cujo cálculo é estabelecido pela taxa de absorção luminosa entre os componentes pulsáteis (sangue arterial) e não pulsáteis (sangue venoso, tecidos e ossos) do dedo, estimando indiretamente o fluxo sanguíneo no local (LIMA; BAKKER, 2005).

Poucos estudos avaliaram a reatividade microvascular isquêmica periférica por meio do método do IPP em unidades de terapia intensiva. O estudo de Lima e Bakker (2004) observou pacientes criticamente enfermos após a realização do teste de oclusão vascular e verificou um aumento do fluxo sanguíneo observado pelos valores do IPP. Em 2013, um estudo que comparou 21 pacientes com sepse, 21 pacientes no pós operatório e 18 pacientes saudáveis, verificou que os pacientes sépticos apresentavam menores valores de hiperemia reativa quando comparados aos demais grupos (HE et al., 2013). Contradizendo tal evidência, um estudo recente, comparando 35 indivíduos saudáveis com 47 pacientes com choque séptico, observou uma expressiva diferença na RMIP entre os grupos, sendo superior no grupo da sepse (MENEZES et al., 2018). Curiosamente, esse mesmo grupo de estudo verificou que grande parte dos não sobreviventes, em 28 dias de avaliação, apresentavam valores da RMIP (%) após ressuscitação hemodinâmica, dentro das primeiras 24 horas do diagnóstico do choque séptico, mais elevados quando comparados aos sobreviventes (MENEZES et al., 2019).

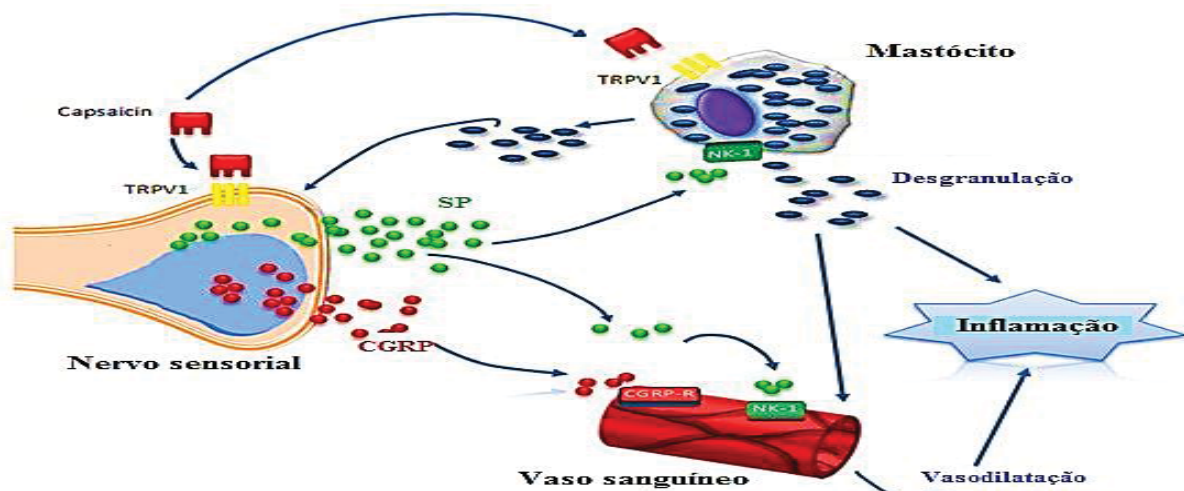
Apesar do provável papel prognóstico da RMIP no choque séptico, a confirmação de tal potencial em prever desfechos clínicos e investigação fisiopatológica na sepse ainda não foi realizada. Nesse sentido, novos estudos com foco na análise da RMIP associada a monitorização dinâmica de metabólitos vasoativos atuantes na pele e outros marcadores prognósticos bem estabelecidos na sepse, tais como o lactato, possivelmente podem auxiliar em um melhor entendimento desse processo.

## 2.8 NEUROPEPTÍDEOS: ATUAÇÃO NA HRPO E NA FISIOPATOLOGIA DA SEPSE

A ativação de nervos sensoriais corresponde a um dos principais contribuintes para a HRPO (ROUSTIT; CRACOWSKI, 2013). Esses nervos possuem a capacidade de detectar e reagir a estímulos nociceptivos (FERNANDES; FERNANDES; KEEBLE, 2012). Apesar da atuação desses nervos ser exercida em diversos órgãos e sistemas (BEER et al., 2002; BRAIN; COX, 2006), sua relevância na hiperemia reativa foi sugerida em robustos estudos analisando a pele (HODGES; CHEUNG, 2018; LARKIN; WILLIAMS, 1993; LORENZO; MINSON, 2007). Esse processo envolve a necessidade de um estímulo externo como, por exemplo, uma inflamação, seguido da ativação de um arco reflexo através do nervo sensorial, que culmina na liberação de neuropeptídeos, tais como o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) e a substância P (SP), os quais atuam como mediadores de vasodilatação (BRAIN; COX, 2006; KODJI; AUBDOOL; BRAIN, 2016; ROOSTERMAN et al., 2006). O extravasamento desses na pele, além de induzir a vasodilatação local, atua na modulação imunológica (GRANSTEIN et al., 2015; ROOSTERMAN et al., 2006). Além disso, evidências robustas demonstraram um

potencial desses mediadores vasoativos em prever desfechos clínicos de mortalidade na sepse (BEER et al., 2002; LORENTE et al., 2015, 2017). Por meio da Figura 6, observamos a ativação dos nervos sensoriais periféricos, com subsequente liberação dos neuropeptídeos e, por fim, sua atuação nos vasos e modulação inflamatória.

FIGURA 6 - ATUAÇÃO FISIOPATOLÓGICA DOS NEUROPEPTÍDEOS



FONTE: Adaptado de GEORGESCU et al., (2017).

LEGENDA: CGRP, Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina; NK1: Neurocinina 1; TRPV1: Receptor de Potencial Transiente Vanilóide 1; SP, Substância P.

### 2.8.1 Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina

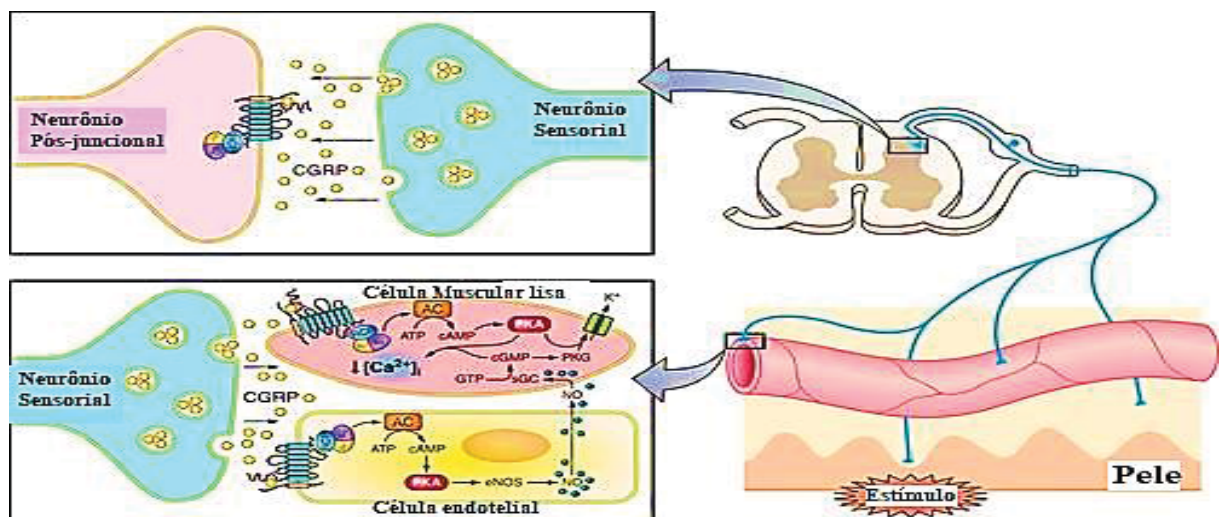
O CGRP corresponde a um neuropeptídeo composto por 37 aminoácidos, estocado em fibras nervosas sensoriais tipo C e  $\delta$  difusamente distribuídas pelo corpo humano (RUSSELL et al., 2014). Esse neuropeptídeo está normalmente colocalizado junto a SP (BRAIN; COX, 2006). Essas fibras nervosas são localizadas próximo a vasos sanguíneos e apresentam funções sensoriais (nociceptivas) e efectoras (MAGGI, 1995). No sistema nervoso periférico, o CGRP é encontrado, principalmente, sob sua forma  $\alpha$  (BRAIN; GRANT, 2004) onde, além de atuar como um potente vasodilatador, interage com o sistema nervoso simpático local (CRACOWSKI; ROUSTIT, 2020). Apesar dos nervos serem as principais fontes de CGRP, evidências demonstram que alguns tipos de células imunes (BRACCI-LAUDIERO et al., 2002; LINSCHIED et al., 2004), endoteliais (LUO et al., 2008) e queratinócitos (HOU et al., 2011) apresentam a capacidade de produção de tal neuropeptídeo.

Evidências pré-clínicas demonstram que mecanismos, tais como os processos inflamatórios (DONNERER; STEIN, 1992), o aumento de temperatura ( $>43^\circ$ ) (CATERINA et al., 1997), o baixo pH (VRIENS; APPENDINO; NILIUS, 2009) e o aumento da pressão arterial

induzida pela angiotensina II em pacientes normotensos (PORTALUPPI et al., 1993), induzem a liberação dos neuropeptídeos. Adicionalmente, estudos observaram a atividade desse neuropeptídeo tanto em condições patológicas, como, por exemplo, a migrânea (JANG et al., 2011), artrite (LARSSON et al., 1991), fases iniciais da hipertensão (SMILLIE; BRAIN, 2011) e nas disfunções vasculares (BRAIN; GRANT, 2004), quanto em algumas situações não patológicas, tais como a gestação (STEVENSON et al., 1986), pós-menopausa (GUPTA et al., 2008) e síndromes de rubor facial (HAY; POYNER, 2009).

Uma vez liberado nos terminais nervosos localizados na pele, esse neuropeptídeo atua na microcirculação como um potente vasodilatador (CRACOWSKI; ROUSTIT, 2020; RUSSELL et al., 2014). O processo ocorre após a estimulação nervosa dos nervos sensoriais que resulta em um impulso elétrico até a medula espinal, seguido de arco reflexo com consequente liberação de CGRP nos terminais nervosos (BRAIN; COX, 2006). Como demonstrado na Figura 7, a vasodilatação estimulada pelo CGRP é estabelecida diretamente pela ligação desse a receptores localizados nas células musculares lisas de arteríolas e indiretamente através do estímulo de células endoteliais com consequente liberação de NO (RUSSELL et al., 2014).

FIGURA 7 -VASODILATAÇÃO MICROVASCULAR PERIFÉRICA MEDIADA POR CGRP



FONTE: Adaptado de RUSSELL et al. (2014)

LEGENDA: AC, Adenilato Ciclase; ATP, Trifosfato de Adenosina;  $Ca^{2+}$ , Cálcio; cAMP, Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico; CGRP, Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina; eNOS, Óxido Nítrico Sintase endotelial;  $K^{+}$ , Potássio; sGC, Guanilato Ciclase solúvel; GTP, Trifosfato de Guanosina; NO, Óxido Nítrico; PKA, Proteína Quinase A; PKG, Proteína Quinase dependente de GMPC.

Além do seu efeito vasodilatador, esse neuropeptídeo corresponde a parte dos mecanismos moduladores da resposta imune (HOLZMANN, 2013). Durante processos inflamatórios/infecciosos ocorre um aumento nos níveis de CGRP local e sistêmico

(HOLZMANN, 2013). Após sua liberação, através dos terminais nervosos sensoriais, esse neuropeptídeo interage com células do sistema imune que, por sua vez, também aumentam os níveis teciduais de CGRP (HOLZMANN, 2013). A modulação imunológica mediada pelo CGRP é estabelecida através de mecanismos anti-inflamatórios, tais como a inibição da produção e liberação de mediadores inflamatórios (FOX et al., 1997; HARZENETTER et al., 2007), a interferência na resposta imune adaptativa (CARUCCI et al., 2000; HOSOI et al., 1993), e na reprogramação metabólica (DUNZENDORFER et al., 2001). Desse modo, sua atuação em diversos processos inflamatórios, como, por exemplo, na sepse, vem sendo foco de estudos com intuito de auxiliar no manejo terapêutico e melhorar o prognóstico dos pacientes.

As respostas desreguladas e disseminadas presentes durante a sepse resultam em níveis comumente aumentados de CGRP entre pacientes sépticos (ARNALICH et al., 1995; JOYCE et al., 1990). Nesse sentido, suas funções fisiológicas ao mesmo tempo que são importantes para um controle de resposta inflamatória e, conseqüentemente, dos danos orgânicos secundários a sepse, podem levar a uma resposta inflamatória ineficiente e conseqüente comprometimento da resposta do hospedeiro (HOLZMANN, 2013). Além disso, seu potencial vasodilatador pode resultar em hipotensão e deterioração hemodinâmica (ARDEN et al., 1994; ARNALICH et al., 1996; HUTTEMEIER; RITTER; BENVENISTE, 1993). Dessa forma, estudos translacionais buscaram avaliar o potencial prognóstico desse biomarcador na sepse em seres humanos. Arnalich e colaboradores (1995) ao comparar as concentrações plasmáticas dos neuropeptídeos entre pacientes saudáveis e pacientes sépticos, observaram níveis mais elevados na sepse. Além disso verificaram que as concentrações plasmáticas de CGRP se correlacionaram positivamente com o índice cardíaco e negativamente com o índice de resistência vascular sistêmica. E, por fim, encontram uma associação entre os níveis desse neuropeptídeo com a severidade da síndrome. Corroborando tais dados, Beer e colaboradores (2002) observaram que níveis aumentados de CGRP no diagnóstico da sepse resultaram em elevados índices de mortalidade quando comparados aos sobreviventes.

### 2.8.2 Substância P

A SP corresponde a um neuropeptídeo composto por 11 aminoácidos, da família das taquicininas, cuja codificação é estabelecida pelo cromossomo 7 (SEVERINI et al., 2002). Apesar de grande parte desse neuropeptídeo ser produzido nos neurônios, esse também é liberado por uma diversidade de células, tais como astrócitos, células tronco, epiteliais, endoteliais e do sistema imune (MASHAGHI et al., 2016). Ao ser viabilizada no espaço extracelular, a SP se

liga, preferencialmente, a receptores neurocinina 1 (NK1) expressos em diversos órgãos e sistemas (HUANG; KORLIPARA, 2010; SUVAS, 2017). Haja vista sua ampla distribuição no corpo humano, a SP atua em diversos processos biológicos, em especial na resposta inflamatória de diferentes doenças (DUFFY, 2004; HUANG; KORLIPARA, 2010) e na sinalização da nocicepção (BARANAUSKAS; NISTRI, 1998).

Na pele, esse neuropeptídeo colocaliza-se junto ao CGRP nos terminais nervosos sensoriais (BRAIN; COX, 2006). A ocorrência de estímulos (térmico, mecânico ou químico) resulta na liberação desses neuropeptídeos, os quais determinam um processo inflamatório de origem neurogênica (DE BACKER et al., 2014). Esse processo foi visualizado na prática através infusão desses na pele por meio de microdiálise, a qual observou uma vasodilatação, sendo potente e duradoura no caso do CGRP, enquanto que, com a SP foi mais leve associada a um extravasamento plasmático (WEIDNER et al., 2000). A interação desses neuropeptídeos é complexa, visto que ao mesmo tempo que altas concentrações de CGRP podem inibir a vasodilatação determinada pela SP, facilita o extravasamento plasmático de proteínas (SCHLERETH et al., 2016).

Semelhantemente ao neuropeptídeo CGRP, a SP também representa parte dos mecanismos envolvidos no controle da resposta imune em processos inflamatórios (MASHAGHI et al., 2016; SUVAS, 2017). Várias evidências pré-clínicas demonstraram sua atuação pró-inflamatória (LOTZ; VAUGHAN; CARSON, 1988; MAGGI, 1997; YAMAGUCHI et al., 2004), caracterizada por um aumento de citocinas, espécies reativas de oxigênio, estímulo para proliferação de células imunológicas e quimiotaxia (MASHAGHI et al., 2016). Adicionalmente, outros estudos descreveram um potencial em modular o sistema imune, reparar o tecido lesado (JIANG et al., 2012) e reduzir a inflamação secundária a morte celular (JIANG et al., 2013). Por fim, existem evidências demonstrando seu possível papel no controle da capacidade fagocitária e consequente eliminação de microrganismos no hospedeiro (VERDRENGH; TARKOWSKI, 2008; YANG et al., 2014).

Visto sua importância fisiopatológica, surgiu nos últimos 20 anos um crescente interesse na investigação desse neuropeptídeo na sepse em seres humanos. Em 2002, um estudo observou altos níveis de SP em pacientes sépticos no pós-operatório quando comparados ao grupo controle. Além disso, verificou que níveis elevados desse neuropeptídeo conseguiu prever tardiamente a mortalidade (BEER et al., 2002). Corroborando tal estudo, Gaddam e colegas (2017) observaram altos níveis de SP entre pacientes sépticos quando comparados aos não-sépticos, sendo esses níveis elevados associados a um aumento da resposta inflamatória. No entanto, contradizendo tal

evidência, estudos mais robustos observaram níveis menores de SP entre pacientes sépticos e seu valor prognóstico. Em 2015, um estudo multicêntrico com 238 pacientes sépticos evidenciou concentrações mais elevadas da SP entre sobreviventes (LORENTE et al., 2015). Além disso, esse mesmo grupo de estudo demonstrou, recentemente, a persistência de níveis mais elevados do neuropeptídeo entre sobreviventes durante os primeiros 7 dias do diagnóstico da sepse (LORENTE et al., 2017).

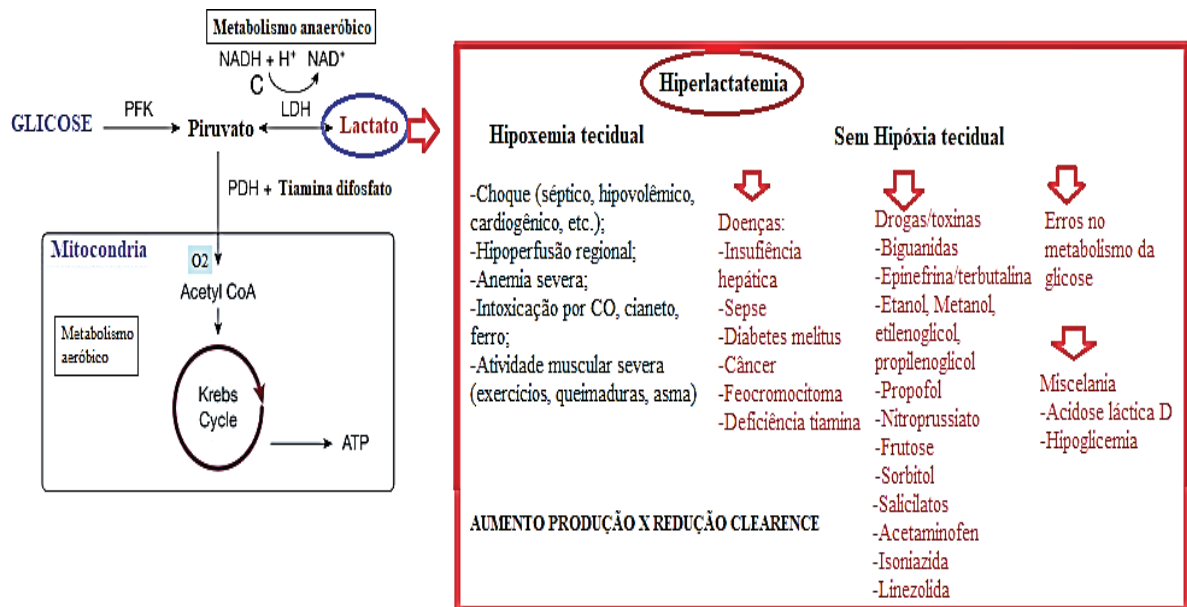
## 2.9 LACTATO: FISIOPATOLOGIA E VALOR PROGNÓSTICO NA SEPSE

O lactato corresponde a um marcador derivado do metabolismo anaeróbico da glicose, frequentemente utilizado para a detecção de distúrbios perfusionais microcirculatórios na sepse (SUETRONG; WALLEY, 2016). A causa base do seu desenvolvimento é tradicionalmente atribuída à hipóxia tecidual (HUCKABEE, 1961). Por esse motivo, o início rápido de antibioticoterapia, associado a um manejo hemodinâmico efetivo, consegue, nas fases iniciais da sepse, reduzir os níveis séricos do lactato e, conseqüentemente, melhorar o prognóstico de grande parte dos pacientes sépticos (DE BACKER et al., 2014; PAN et al., 2019). Desse modo, atualmente a mensuração desse biomarcador ao longo do tempo vem sendo proposta na avaliação da resposta terapêutica e prognóstica na sepse (VINCENT; BAKKER, 2021; EVANS et al., 2021). No entanto, apesar da redução dos níveis de lactato ser usualmente denominada “*clearance* de lactato”, as mudanças dos seus níveis após otimização hemodinâmica não comprovam que houve uma redução na sua produção (HERNANDEZ; BELLOMO; BAKKER, 2019). Além disso, é importante ressaltar que a persistência de níveis elevados desse biomarcador decorre mais do aumento da sua produção, do que pela redução da sua eliminação (LEVITT; LEVITT; LEVITT, 2020).

Uma vez estabelecida a ressuscitação hemodinâmica, uma parcela dos pacientes persiste com níveis elevados de lactato. Nesses casos, outras hipóteses devem ser levantadas para explicar os altos níveis desse biomarcador, tais como: a perda da habilidade dos tecidos extraírem o oxigênio secundária aos danos endoteliais microvasculares e edema tecidual; disfunções mitocondriais e enzimáticas; aumento da glicólise excedendo a capacidade de metabolização; estimulação  $\beta_2$  adrenérgica pelas drogas vasoativas; e por fim as disfunções orgânicas reduzindo sua eliminação (GARCIA-ALVAREZ; MARIK; BELLOMO, 2014; SUETRONG; WALLEY, 2016). Adicionalmente, outro fator que interfere nos níveis do lactato é o tipo de fluido utilizado durante a ressuscitação hemodinâmica, visto que, quando o Ringer lactato é administrado em excesso ( $> 180$  ml/kg/h) os níveis desse biomarcador aumentam significativamente (BOYSEN; DORVAL, 2014). E, por fim, algumas medicações e intoxicações devem ser lembradas como

possíveis mecanismos da persistência de hiperlactatemia (GARCIA-ALVAREZ; MARIK; BELLOMO, 2014; JANSEN; VAN BOMMEL; BAKKER, 2009) A Figura 8 descreve os principais fatores associados à persistência de níveis elevados de lactato em pacientes críticos.

FIGURA 8 - MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DA PRODUÇÃO DO LACTATO



FONTE: Adaptado de SUETRONG; WALLEY (2016).

LEGENDA: ATP: Adenosina Trifosfato; CoA: Coenzima A; CO: Monóxido de Carbono; LDH: Lactato Desidrogenase; NADH: Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo reduzido; NAD<sup>+</sup>: Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo oxidado; PDH: Piruvato Desidrogenase; PFK: Fosfofructoquinase.

Evidências prévias demonstraram que a persistência de hiperlactatemia, a despeito do manejo clínico inicial da sepse, está associada a piores desfechos clínicos. Em 2015, Tang e colaboradores demonstraram a associação entre níveis  $\geq 2$  mmol/L e pior prognóstico clínico no choque séptico quando comparados aos pacientes normolactatêmicos. No mesmo ano, um estudo observou que, mesmo em pacientes normotensos, o achado de níveis  $\geq 4$  mmol/L correspondeu a um fator independente pra mortalidade na sepse (CASSERLY et al., 2015). Recentemente, o estudo prospectivo “ARISE” demonstrou que pacientes com hiperlactatemia persistente, identificada por níveis de lactato  $\geq 4$  mmol/l sem sinais de hipotensão, apresentaram um pior desfecho clínico em 90 dias quando comparados aos pacientes com hipotensão refratária isolada (GOTMAKER et al., 2017)

Em contraste com esses estudos que associaram os níveis de lactato a um pior prognóstico, outras evidencias demonstraram que pacientes responsivos ao tratamento os quais reduziram os níveis desse biomarcador resultaram em um melhor prognóstico (JANSEN et al., 2010; PAN et al., 2019; ARNOLD et al., 2009). Nesse contexto, recentemente, um estudo

multicêntrico de Hernandez e colaboradores (2019) buscou comparar duas estratégias de ressuscitação hemodinâmica: uma visando a normalização do tempo de enchimento capilar (TEC), e a outra visando os níveis séricos de lactato. Tal estudo verificou que, apesar dos benefícios da estratégia baseada na perfusão periférica a respeito da otimização das disfunções orgânicas (reduziu significativamente a pontuação no escore de SOFA) e menor administração de fluidos, essa não demonstrou superioridade em relação a estratégia baseada nos níveis de lactato em reduzir a mortalidade por todas as causas em 28 dias. No entanto, apesar do lactato ser utilizado como forma de acompanhamento de resposta terapêutica, em decorrência dos diversos mecanismos envolvidos nas alterações dos níveis do lactato, tem sido proposto, atualmente, a associação desse biomarcador com outros parâmetros, tais como a saturação venosa central de oxigênio (SvcO<sub>2</sub>), Diferença Venoarterial da Pressão Parcial de Dióxido de Carbono (Pv-aCO<sub>2</sub>) e parâmetros de perfusão periférica (métodos: tempo de enchimento capilar, IPP, temperatura e moteamento da pele), com o objetivo de avaliar os sinais de hipoperfusão no contexto da hiperlactatemia (ALEGRIA et al., 2017; AIT-OUFELLA; BAKKER, 2016).

Nesse sentido, é possível sugerir a hipótese que a persistência de hiperlactatemia após manejo clínico inicial da sepse associada a piores desfechos (CASSERLY et al., 2015; CHERTOFF et al., 2016; TANG et al., 2015) poderia corresponder a uma possível variável de confusão na associação entre a alta RMIP e um pior prognóstico no choque séptico. Adicionalmente, é relevante questionar se os níveis da RMIP poderiam interferir de alguma forma nos níveis de lactato ao longo do tempo.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 TIPO DE PESQUISA

Observacional

#### 3.2 CARACTERIZAÇÃO DA ORGANIZAÇÃO

Esse estudo observacional foi realizado em 4 unidades de terapia intensiva (UTIs) do Complexo Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná (CHC-UFPR) (Semi intensiva com 57 pacientes, UTI geral com 114 pacientes, e UTI cirúrgica com 6 pacientes), e 1 UTI do Hospital Sugisawa (49 pacientes), no período entre novembro de 2020 e maio de 2022. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do CHC-UFPR (Número do protocolo: 3.913.982/2020) e o termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado por todos os participantes ou responsáveis legais, sendo isenta a necessidade de assinatura no caso de óbito do paciente.

Essa pesquisa foi financiada pelo Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq), edital 15/2019.

Registro Brasileiro do ensaio clínico: RBR-35tv9ft.

#### 3.3 PARTICIPANTES

##### 3.3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Pacientes adultos com idade  $\geq 18$  anos, admitidos de forma consecutiva nas UTIs com o diagnóstico de sepse, ou pacientes previamente admitidos por outras causas, em até 24 horas do início do quadro.

A sepse foi definida, de acordo com os critérios estabelecidos em 2016 pelo 3º Consenso internacional de definição para sepse e choque séptico, como “a presença de infecção suspeita ou confirmada associada a uma ou mais disfunções orgânicas” (SINGER et al., 2016). Essas foram identificadas por meio do escore de SOFA, cuja pontuação expressa gravidade progressiva, e foi considerada anormal, para a determinação do diagnóstico, uma pontuação maior ou igual a 2 (SINGER et al., 2016).

##### 3.3.2 Critérios de exclusão

Com intuito de minimizar possíveis fatores de confusão ou de risco para complicações secundárias à isquemia tecidual, os critérios de exclusão selecionados foram:

- Hepatopatia grave (Child Pugh classe C);
- Coagulopatia importante (Plaquetas < 20.000 e/ou Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada [TTPA] > 70 segundos e/ou Razão Normalizada Internacional [RNI] > 2);
- Presença de sangramento ativo de grande monta;
- Endocardite infecciosa;
- Avaliação perfusional inacessível (grave hipotermia; síndrome de Raynaud, doença arterial oclusiva periférica);
- Gravidez;
- Recusa do paciente a participar do estudo.

### 3.4 CÁLCULO AMOSTRAL

O tamanho da amostra foi estabelecido com base em dados epidemiológicos locais (DE MIRANDA et al., 2020; MENEZES et al., 2019) e dados do estudo piloto. Assumindo uma mortalidade intra-hospitalar em 28 dias em torno de 41% dos casos, e considerando o ponto de corte de 62% para o  $\Delta$ IPP pico (%), estimamos uma amostra com 226 pacientes para encontrarmos um risco relativo (RR) 1,7 maior para mortalidade no grupo de maior RMIP, e obtermos um poder de amostra de 90% sob um erro alfa de 0.05.

Em relação ao estudo dos níveis de neuropeptídeos e sua correlação com os valores da RMIP (%), o cálculo amostral foi baseado em um estudo piloto. Foi estimada uma amostra inicial de 38 pacientes para encontrarmos ao menos uma correlação moderada ( $r = 0,5$ ) entre as variáveis, com um poder de amostra de 90%. Considerando o fato dos níveis dos neuropeptídeos serem variáveis não paramétricas, um acréscimo de 15% no total da amostra foi realizado (FUJII et al., 2020) e, dessa forma, a amostra final totalizou 46 pacientes. O erro alfa escolhido foi de 0.05. Os valores de “p” foram corrigidos para múltiplas comparações *a posteriori*.

Por fim, a avaliação do papel da RMIP na variação dos níveis de lactato foi realizada no grupo de pacientes com persistência de hiperlactatemia (análise “*post-hoc*”).

### 3.5 PROTOCOLO DO ESTUDO

Todos os pacientes elegíveis foram manejados com base em um protocolo local cujas recomendações foram adaptadas das diretrizes do “*Surviving Sepsis Campaign*” (SSC) (EVANS et al., 2021). O manejo clínico foi iniciado assim que a suspeita clínica para sepse foi feita. Inicialmente, nos casos de alta suspeição, antibióticos de amplo espectro foram administrados dentro da primeira hora do reconhecimento da síndrome, após a coleta de hemoculturas e culturas

do foco suspeito. Em seguida, pacientes com sinais de hipoperfusão ou choque séptico receberam uma reposição volêmica de 30 ml/kg endovenosa com cristaloides (Soro fisiológico 0,9%, ringer lactato ou balanceada a critério do médico assistente), a qual foi realizada nas primeiras 3 horas do diagnóstico. Além disso, de forma individualizada, a critério do médico intensivista assistente, essa reposição volêmica foi mantida até não ter resposta a elevação passiva dos membros (o ponto de corte para discriminação respondedores a fluidos foi um aumento de 13% no DC) (DOUGLAS et al., 2020) ou ausência de variação respiratória no diâmetro da veia cava (o ponto de corte foi 18%) (LEE; KORY; ARNTFIELD, 2016), parâmetros estimados através do Ultrassom Samsung Medison. Nos casos que mantinham uma PAM < 65 mmHg, mesmo após reposição volêmica com fluidos, a droga vasoativa norepinefrina era titulada até manutenção de PAM  $\geq$  65 mmHg. Em casos de refratariedade (doses de noradrenalina superiores a 0,5  $\mu$ g/kg/h), vasopressina foi a droga de escolha para associação com a noradrenalina. E, por fim, nos casos que mantinham instabilidade hemodinâmica a despeito da ressuscitação hemodinâmica com fluidos e uso de drogas vasoativas, o uso de corticoides era indicado (Hidrocortisona 200 mg/dia intravenoso).

### 3.6 DADOS COLETADOS

O acesso aos pacientes ocorreu nas primeiras 24 horas da admissão na UTI ou do início do quadro de sepse em pacientes previamente admitidos por outras causas, após devida ressuscitação hemodinâmica. As informações coletadas incluíram características demográficas, diagnóstico de admissão, foco de infecção e comorbidades. Dados clínicos e laboratoriais foram utilizados para o cálculo de escores de gravidade tais como “*Acute Physiology and Chronic Health Evolution II*” (APACHE II) e para evolução das disfunções orgânicas, de acordo com o “*Sequential Organ Failure Assessment*” (SOFA), nas primeiras 24 horas da admissão na UTI. Parâmetros hemodinâmicos (quando disponíveis), metabólitos e valores de IPP foram coletados em torno de 6 a 24 horas do diagnóstico da sepse. Para concretização dos objetivos do estudo foram anotados os valores de IPP pré e pós teste de HRPO por 2 dias consecutivos. Adicionalmente, foram coletadas amostras de sangue venoso periférico (5 ml) do antebraço do paciente para dosagem de neuropeptídeos (SP e CGRP), antes e após o teste de oclusão vascular, dentro das primeiras 24 horas do diagnóstico da sepse. E, por fim, foram coletadas amostras de sangue arterial (2 ml da artéria radial) para análise dos níveis de lactato pré-teste de isquemia nos 2 primeiros dias do diagnóstico da síndrome.

Os pacientes tiveram um seguimento intra-hospitalar por um período de 28 dias do diagnóstico da sepse ou até sua alta hospitalar.

### 3.6.1 Avaliação da reserva microvascular isquêmica periférica

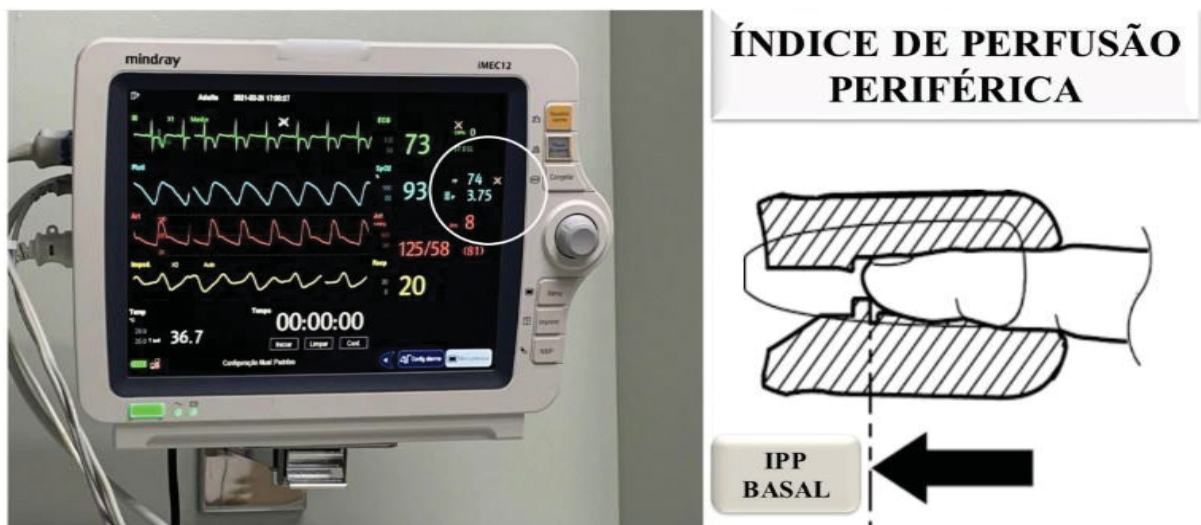
A RMIP foi estimada através da associação dos métodos IPP e HRPO. Essa estimativa foi realizada em dois momentos: dentro das primeiras 24 horas após ressuscitação hemodinâmica inicial; e entre 24 e 48 horas do diagnóstico da sepse.

A coleta desses dados foi realizada por três médicas treinadas, com o paciente em decúbito dorsal, posição supina, e em membro sem o acesso intra-arterial para medição de PAM. A temperatura ambiente era mantida em 22°C.

#### 3.6.1.1 Índice de perfusão periférica

O IPP é um dado derivado do sinal plestimográfico fotoelétrico da oximetria de pulso, cujo valor numérico varia entre 0 e 20. Este valor é obtido a partir do cálculo da taxa de absorção luminosa entre componentes pulsáteis (sangue arterial) e não pulsáteis (sangue venoso, capilar, outros tecidos e ossos) do leito ungueal a partir da emissão de duas fontes, com dois diferentes comprimentos de onda (660 e 940 nm), o qual estima indiretamente o fluxo sanguíneo tecidual (LIMA; BAKKER, 2005). Esse foi avaliado por meio do oxímetro de pulso, conectado aos monitores da marca MINDRAY (Shenzen, China) ou da marca MASIMO SET Radical 7 (Califórnia, EUA), como demonstrado na Figura 9.

FIGURA 9 – MENSURAÇÃO DO IPP ATRAVÉS DA OXIMETRIA DE PULSO



FONTE: O autor (2022).

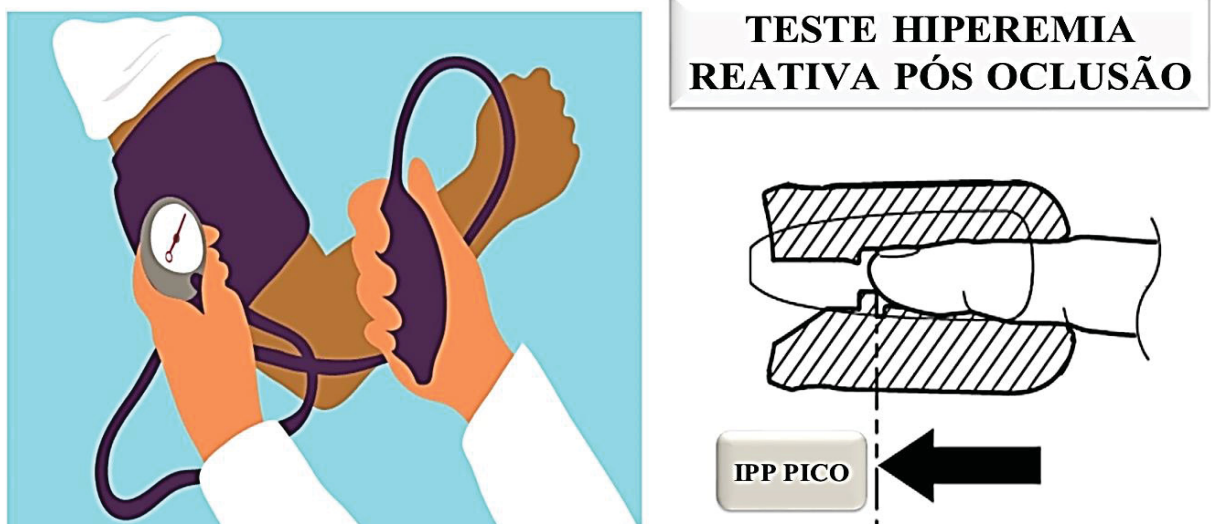
LEGENDA: IPP basal: Índice de perfusão periférica basal.

Inicialmente, o oxímetro foi colocado no dedo indicador do paciente. Após um período de estabilização do sinal, os valores de IPP foram anotados a cada 30 segundos por um período de 5 minutos, e a média desses valores determinou o “IPP basal” (Figura 9). Em seguida, foi realizado o teste de HRPO.

### 3.6.1.2. Hiperemia reativa pós-oclusão

A HRPO representa uma técnica bem estabelecida, caracterizada pela oclusão da artéria braquial por um período curto, seguida da desobstrução do fluxo, a qual determina uma vasodilatação e aumento transitório do fluxo sanguíneo local (CRACOWSKI et al., 2006). No presente estudo, esse teste foi executado após o estabelecimento da IPP basal. Inicialmente, o manguito de um esfigmomanômetro foi insuflado ao redor do membro superior homolateral com pressão 50 mmHg acima da pressão sistólica, por um período de 3 minutos, ocluindo dessa maneira a artéria braquial. Em seguida, o fluxo sanguíneo foi desobstruído com consequente aumento do fluxo sanguíneo no leito capilar periférico (hiperemia reativa), e os valores do IPP foram novamente anotados a cada 30 segundos por 5 minutos, sendo que o valor mais alto correspondeu ao “IPP pico” (Figura 10).

FIGURA 10 – ASSOCIAÇÃO DOS MÉTODOS HRPO E IPP



Fonte: O autor (2022)

LEGENDA: IPP pico: Índice de perfusão periférica de pico.

E, por fim, a estimativa da variação máxima do fluxo sanguíneo em resposta ao teste de isquemia (Reserva Microvascular Isquêmica Periférica) foi estabelecida através da seguinte fórmula:

$$\Delta \text{IPP pico} = \frac{\text{IPP pico} - \text{IPP basal}}{\text{IPP basal}} \times 100\%$$

Os pacientes com sepse e seus subgrupos foram divididos em 2 grupos, levando em consideração os valores da RMIP:

- Grupo baixa RMIP =  $\Delta\text{IPP pico \%} \leq 62\%$
- Grupo alta RMIP =  $\Delta\text{IPP pico \%} > 62\%$ .

A base para determinação do ponto de corte de 62% utilizado no presente trabalho foi a curva ROC *a posteriori* de estudo prévio do nosso grupo com pacientes com choque séptico (MENEZES et al., 2019). Apesar da evidência-base ter focado na entidade clínica “choque séptico”, pela mediana dos valores da RMIP dos pacientes com sepse ter sido de 61,8%, o ponto de corte de 62% foi aceito para diferenciar os grupos com alta e baixa RMIP na sepse.

### 3.6.2 Avaliação do tempo de enchimento capilar

A avaliação perfusional avaliada pelo tempo de enchimento capilar (TEC) foi mensurada através da aplicação de uma leve pressão na superfície ventral da falange distal do 2º quirodáctilo, com intensidade aumentada até completo branqueamento local, a qual foi mantida por 10 segundos. O tempo de retorno para cor normal da pele foi registrado por meio de um cronômetro, sendo considerado anormal o tempo  $\geq 3$  segundos (AIT-OUFELLA et al., 2014; HERNÁNDEZ et al., 2019), como exemplificado na figura 2. Esse parâmetro foi mensurado dentro das primeiras 24 horas após a ressuscitação volêmica.

Figura 11 - Tempo de enchimento capilar



FONTE: Monitorização não invasiva da perfusão (2016).

### 3.6.3 Avaliação dos níveis dos neuropeptídeos e suas variações em resposta ao teste de HRPO

Dentro das primeiras 24 horas do diagnóstico da sepse, em torno de 5 ml de sangue venoso periférico foram coletados do antebraço dos pacientes incluídos no estudo antes e imediatamente o teste HRPO, para determinação das concentrações séricas dos neuropeptídeos CGRP e SP. Com intuito de evitar vieses, somente uma médica treinada (pesquisadora principal) realizou tais coletas. Essas amostras foram depositadas em tubos de ensaio contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). Posteriormente, o sangue foi centrifugado a uma força centrífuga relativa (FCR) de 1200 g, a uma temperatura de 4°C, por um período de 10 minutos. Em seguida, aproximadamente 1 ml de plasma foi congelado a -80°C. Por fim, as amostras foram transportadas entre o CHC-UFPR, PR para o laboratório de inflamação e imunologia da Universidade Guarulhos, SP em caixas refrigeradas contendo gelo seco.

Os níveis séricos dos neuropeptídeos foram mensurados por meio do Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) específico, de acordo com instruções do fabricante (Substância P: R&D systems, Minneapolis, MN, EUA e, CGRP: Mybiosource, San Diego, CA, EUA).

Inicialmente, para determinação da concentração da SP, foi utilizado um ELISA de ligação competitiva. Em resumo, foram adicionados 50 µl das amostras em placa de 96 poços e incubados com anticorpos monoclonais para a SP, e SP conjugados com peroxidase do rato silvestre. As placas foram incubadas durante 3 horas, permitindo a ligação entre o anticorpo monoclonal e o anticorpo de cabra anti-rato revestido sobre a microplaca. Subsequentemente, as placas foram lavadas, e a solução do substrato foi adicionada aos poços para determinar a atividade enzimática ligada. Por fim, a absorbância foi medida por meio de um leitor de microplaca, fixado em 405 nm de comprimento de onda, com correção do comprimento de onda fixado em 570 nm. Dessa maneira, a concentração de SP foi estabelecida e expressa em pg/ml.

As análises CGRP foram realizadas utilizando a técnica do “sanduíche de duplo anticorpo”. Em resumo, inicialmente 100 µL das amostras foram adicionados em 96 poços e incubados com anticorpo monoclonal CGRP durante 90 min. Na sequência, as placas foram lavadas, e 100 µL de anticorpo CGRP biotilado foram adicionados a cada poço. Em seguida, as placas foram incubadas durante 60 minutos. Por fim, foi adicionada a avidina-peroxidase, e a absorvância foi medida em um leitor de microplacas fixado em 450 nm (correção do comprimento de onda de 630 nm). Dessa forma, por meio de uma correlação entre os dados de absorvância e a curva de calibração, foi estabelecida a concentração de CGRP nas amostras expressa em pg/ml.

Para avaliar a variação percentual dos níveis de neuropeptídeos entre o pré e pós teste de HRPO utilizou-se as seguintes fórmulas:

$$\Delta \text{ CGRP} = \frac{\text{CGRP pós teste} - \text{CGRP pré teste}}{\text{CGRP pré teste}} \times 100\%$$

$$\Delta \text{ SP} = \frac{\text{SP pós teste} - \text{SP pré teste}}{\text{SP pré teste}} \times 100\%$$

#### 3.6.4 Avaliação da hiperlactatemia persistente e dinâmica temporal do lactato nas primeiras 48 horas do diagnóstico da sepse

Uma vez estabelecida a ressuscitação hemodinâmica, em torno de 2 ml de sangue arterial periférico foi coletado e armazenado em seringas heparinizadas para determinação dos níveis de lactato sérico. Essas amostras foram coletadas e analisadas por 2 dias consecutivos, através de um gasômetro (RAPID Point 500, Siemens Healthcare Diagnostics Inc., NY, USA), sendo a detecção de HP estabelecida através níveis de lactato  $\geq 2$  mmol/l (DÜNSER et al., 2013).

A variação percentual dos níveis de lactato entre a primeira (após ressuscitação com fluidos, entre 6 e 24 horas de diagnóstico de sepse) e a segunda medição (entre 24 e 48 horas de diagnóstico de sepse) foi escolhida para estabelecer DTL nas primeiras 48 horas. Essa foi estabelecida através da seguinte fórmula:

$$\Delta \text{ lactato} = \frac{\text{Lactato dia 2} - \text{Lactato dia 1}}{\text{Lactato dia 1}} \times 100\%$$

### 3.7 SUBGRUPOS DA SEPSE ANALISADOS

- Pacientes sem choque (níveis de lactato  $< 2$  mmol/L após ressuscitação hemodinâmica com fluidos e sem necessidade de drogas vasoativas para manutenção de PAM  $\geq 65$  mmhg);
- Pacientes com choque (níveis de lactato  $\geq 2$  mmol/L após ressuscitação hemodinâmica com fluidos e com necessidade de drogas vasoativas para manutenção de PAM  $\geq 65$  mmhg);
- Pacientes com hiperlactatemia persistente (níveis de lactato  $\geq 2$  mmol/L após ressuscitação hemodinâmica com fluidos e sem necessidade de drogas vasoativas para manutenção de PAM  $\geq 65$  mmhg).

### 3.8 DESENHOS DO ESTUDO

#### 3.8.1. Prospectivo

- Avaliar se pacientes com alta RMIP apresentam uma maior mortalidade intra-hospitalar em 28 dias quando comparados aos pacientes com baixa RMIP no contexto da sepse e seus subgrupos (com e sem choque).

#### 3.8.2 Retrospectivo longitudinal

- Avaliação prognóstica seriada da RMIP ao longo das primeiras 48 horas do diagnóstico na sepse e seus subgrupos (com e sem choque).
- Avaliar a variação dos níveis de lactato entre os grupos com alta e baixa RMIP ao longo das primeiras 48 horas do diagnóstico no contexto da hiperlactatemia persistente secundária a sepse.

#### 3.8.3 Transversal

Por meio desse desenho buscou-se:

- Correlacionar os valores da  $\Delta$  IPP pico (%) com a  $\Delta$  dos níveis de CGRP e SP (%) pré e pós teste de HRPO nas primeiras 24 horas do diagnóstico de sepse.
- Correlacionar os valores da  $\Delta$  IPP pico (%) com os níveis basais de CGRP e SP (pg/ml) nas primeiras 24 horas do diagnóstico de sepse.
- Correlacionar os valores da  $\Delta$  IPP pico (%) com os níveis de lactato arterial (mmol/L) das primeiras 24 horas e, entre 24 e 48 horas do diagnóstico de sepse.
- Correlacionar os valores de  $\Delta$  IPP pico (%) das primeiras 24 horas com os valores de  $\Delta$  lactato (%) ao longo das primeiras 48 horas do diagnóstico da sepse.

### 3.9 DESFECHOS

#### 3.9.1 Desfechos primários

- Avaliação das diferenças das taxas de mortalidade intra-hospitalar, observadas no período de 28 dias entre os grupos com alta ou baixa RMIP na sepse e seus subgrupos (com e sem choque).

#### • 3.9.2 Desfechos secundários

- Avaliar se RMIP mantém seu potencial prognóstico ao longo das primeiras 48 horas do diagnóstico no contexto da sepse e seus subgrupos (com e sem choque).
- Analisar se a RMIP das primeiras 24 horas interfere nos níveis de lactato ao longo das primeiras 48 horas do diagnóstico no contexto da HP secundária a sepse.
- Avaliar a existência de uma possível associação entre os valores da RMIP com os níveis e/ou dinâmica do lactato dentro das primeiras 48 horas do diagnóstico da sepse no contexto da HP.
- Avaliar a existência de uma possível associação entre os valores da RMIP com os níveis basais e/ou variação percentual dos neuropeptídeos após teste de HRPO nas primeiras 24 horas do diagnóstico da sepse.
- Avaliar se a alta RMIP representa um preditor independente para mortalidade na sepse.

## 4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

### 4.1 ESTATÍSTICA DESCRITIVA E INFERENCIAL

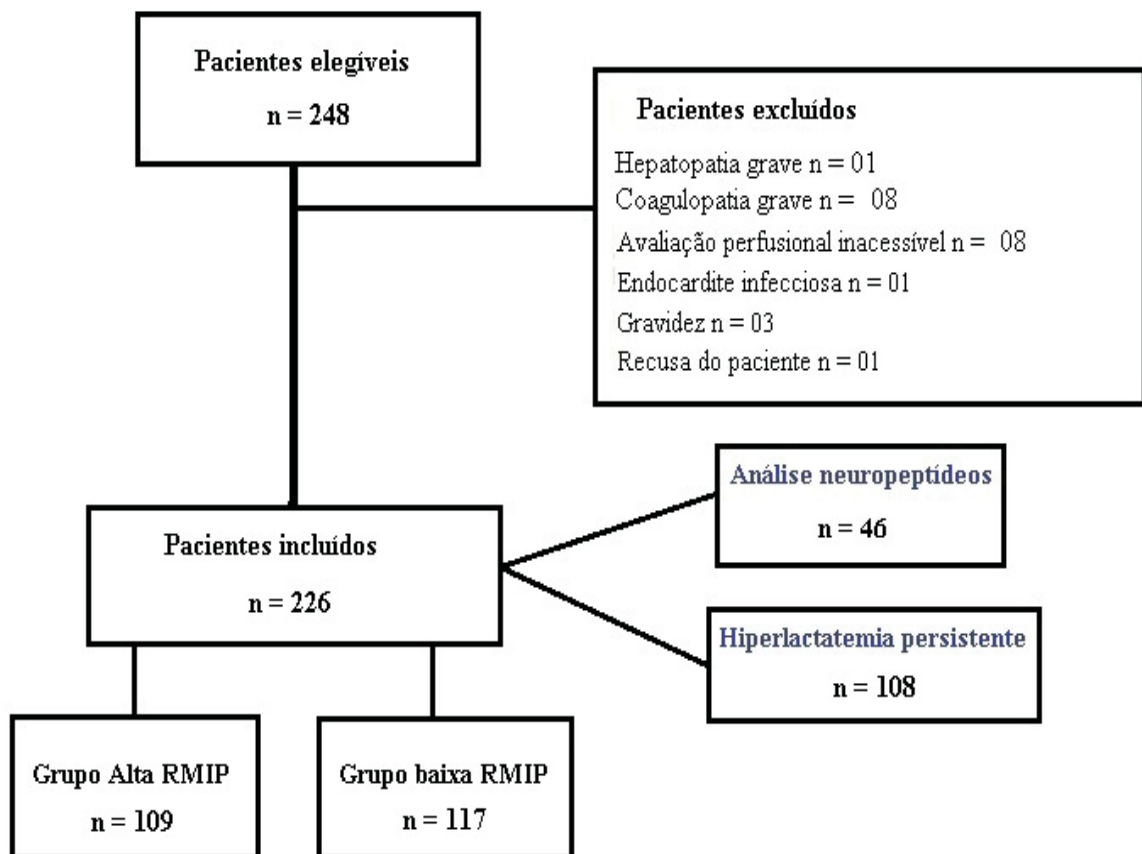
Os dados do estudo (DE MIRANDA et al., 2022) foram analisados estatisticamente pelo programa “IBM SPSS Statistics 23” e os gráficos elaborados no “GraphPad Prism” 6. Inicialmente, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk para a avaliação da normalidade da amostra. Os dados paramétricos foram descritos por meio de média  $\pm$  desvio-padrão (DP) e nos grupos independentes comparados utilizando o teste t de Student. Os dados não-paramétricos foram descritos na forma de mediana e amplitude interquartil (AIQ), e nos grupos independentes comparados através do teste Mann-Whitney. Os dados qualitativos foram descritos em frequências e porcentagens, e nos grupos independentes comparados através do teste de Fisher ou teste Chi-quadrado. Em seguida, para concretização dos objetivos do trabalho, para avaliação das diferenças das taxas de mortalidade intra-hospitalar, observadas no período de 28 dias, entre os grupos com alta ou baixa RMIP foi utilizado o teste de Fisher. Para avaliação da variação da RMIP entre sobreviventes e não sobreviventes na sepse e seus subgrupos ao longo das primeiras 48 horas de acompanhamento, e para análise da variância dos níveis de lactato entre os grupos com alta e baixa RMIP ao longo das primeiras 48 horas do diagnóstico no contexto da HP secundária a sepse, foi realizado o teste de Mann-Whitney para avaliação intergrupo, associado ao teste de Wilcoxon para avaliação intragrupo. Em seguida, foi realizado um teste de Bonferroni pós-hoc para análise das múltiplas comparações. Para correlação entre variáveis contínuas [níveis de lactato 1º e 2º dia (mmol/L); níveis de neuropeptídeos pré-teste (pg/ng),  $\Delta$ lactato (%) e  $\Delta$ neuropeptídeos (%) com  $\Delta$ IPP pico (%)] foi utilizado o teste de Spearman. Para a análise multivariada da RMIP como um preditor independente foi utilizado um modelo de regressão logística. Para tal análise foi selecionada 1 variável para cada 10 desfechos, sendo que a seleção dessas teve por base sua significância na análise univariada entre sobreviventes e não sobreviventes de pacientes com sepse. Após a seleção, foram descartadas as variáveis colineares. A adequação do modelo final de regressão logística foi avaliada usando o teste de Hosmer-Lemeshow. O teste de Wilcoxon foi utilizado para avaliar a variação dos níveis de neuropeptídeos entre a primeira e a segunda medição. Os testes Bland Altman e de Spearman foram utilizados para testar a concordância dos monitores utilizados no estudo. Um p valor  $< 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo. Um p  $< 0,01$  foi considerado altamente significativo

## 5 RESULTADOS

### 5.1 CARACTERÍSTICAS BASAIS POPULAÇÃO DO ESTUDO

No período entre novembro de 2020 e maio de 2022, um total de 226 pacientes com sepse foram incluídos no estudo, após ressuscitação hemodinâmica com fluidos, e, subsequentemente, tiveram a RMIP estimada, conforme demonstrado na Figura 11. As características demográficas, laboratoriais e clínicas estão descritas na Tabela 2.

FIGURA 12- FLUXOGRAMA DO ESTUDO



FONTE: O autor (2022).

TABELA 2- PARÂMETROS DEMOGRÁFICOS, LABORATORIAIS E CLÍNICOS PÓS RESSUSCITAÇÃO VOLÊMICA ENTRE OS GRUPOS COM ALTA E BAIXA RMIP ASSOCIADA A SEPS

Parâmetros	Todos os pacientes n = 226	Grupo baixa RMIP n =117	Grupo alta RMIP 109	Valor p
<b>Clínicos</b>				
Idade (anos), média (DP)	60 (16)	59 (16)	62 (15)	0,21
Gênero, n (%)				0,10
Masculino	129 (57,1)	73 (62,4)	56 (51,4)	
Feminino	97 (42,9)	44 (37,6)	53 (48,6)	
<b>Comorbidades, No. (%)</b>				
Diabetes mellitus	72 (31,9)	38 (32,5)	34 (31,2)	0,88
Hipertensão	126 (55,8)	66 (56,4)	60 (55)	0,89
Doença renal crônica	30 (13,3)	16 (13,7)	14 (12,8)	1,00
Falência cardíaca	39 (17,3)	19 (16,2)	20 (18,3)	0,72
Falência hepática	10 (4,4)	5 (4,3)	5 (4,6)	1,00
<b>Doença cerebral vascular</b>	21 (9,3)	5 (4,3)	16 (14,7)	<b>0,01*</b>
Doença pulmonar crônica	36 (15,9)	23 (19,7)	13 (11,9)	0,14
<b>Câncer</b>	32 (14,2)	11 (9,4)	21 (19,3)	<b>0,03*</b>
Imunossupressão	45 (19,9)	18 (15,4)	27 (24,8)	0,09
<b>Foco da infecção, No. (%)</b>				
Pulmonar	118 (52,2)	65 (55,6)	53 (48,6)	0,28
Abdominal	42 (18,6)	21 (17,9)	21 (19,3)	0,86
Urinário	27 (11,9)	12 (10,3)	15 (13,8)	0,32
Outros	39 (17,3)	19 (16,2)	20 (18,3)	0,61
<b>Cultura positiva, No. (%)</b>	156 (69)	85 (72,6)	71 (65)	0,25
<b>Hemocultura positiva, No. (%)</b>	69 (30,7)	34 (29,3)	35 (32,1)	0,66
<b>Covid-19 confirmado, No. (%)</b>	34 (15)	22 (18,8)	12 (11)	0,13
<b>Escores e biomarcadores</b>				
SOFA escore, média (DP) <sup>a</sup>	9 (4)	9 (4)	8 (4)	0,27
APACHE II escore, média (DP) <sup>b</sup>	23 (8)	23 (9)	23 (8)	0,88
Proteína C reativa (mg/dl), média (DP)	17,5 (11,4)	17,9(11,7)	16,6 (8,5)	0,34
Procalcitonina (ng/ml), No. / mediana (AIQ)	169/ 1,4 (0,4-6,8)	89 / 1,3 (0,3-6,6)	80 / 2 (0,5-7,1)	0,51
<b>Dados hemodinâmicos pós ressuscitação</b>				
PAM (mmHg), mediana (AIQ)	83 (75-94)	83 (75-96)	85 (74-94)	0,84
Frequência cardíaca (/min), média (DP)	93 (22)	93 (23)	93 (21)	0,91
SevO <sub>2</sub> (%), No. / média (DP)	75 / 74 (9)	40 / 75 (10)	35 / 73 (9)	0,39
Pv-aCO <sub>2</sub> (mmHg), No. / mediana (AIQ)	74 / 6,9 (2,9-9)	41 / 4,9 (2,3-8,7)	33 / 5,9 (3,4-10,3)	0,53
Lactato arterial (mmol/L), No. / mediana (AIQ)	220/ 1,9 (1,4-2,7)	114 /1,9 (1,4-2,5)	106/ 2 (1,5-3,2)	0,08
Diurese (ml/kg/h), No. / mediana (AIQ)	210/ 0,5 (0,2-0,8)	108 / 0,5 (0,3-0,8)	102 / 0,5 (0,2-0,8)	0,96
Creatinina, Mediana (AIQ), mg/dl	222/1,4 (0,9-2,7)	115/1,4 (0,8-2,4)	107/1,5 (0,9-2,9)	0,788
<b>Uso de drogas vasoativas, No. (%)</b>	116 (51,3)	63 (53,8)	53 (48,6)	0,50
<b>Dose noradrenalina, No. /mediana (AIQ), µg/kg/min</b>	114 / 0,2 (0,1-0,5)	62 / 0,2 (0,1 -0,5)	52 / 0,3 (0,1-0,5)	0,09
<b>Uso de Vasopressina, No. (%)</b>	30 (13,3)	13 (11,1)	17 (15,6)	0,33
<b>Perfusão periférica anormal</b>				
<b>TEC &gt;3 s, No. (%)</b>	82 (36,3)	26 (22,2)	56 (51,4)	<b>&lt; 0,01**</b>
<b>IPP &lt; 1.4, No. (%)</b>	84 (37,2)	14 (12)	70 (64,2)	<b>&lt; 0,01**</b>

FONTE: O autor (2022).

NOTAS:

<sup>a</sup> Faixa de 0 a 24: pontuações mais altas estão associadas à intensidade da disfunção orgânica e a um maior risco de morte hospitalar (DE BACKER et al., 2011)

<sup>b</sup> Faixa de 0 a 71: pontuações mais altas estão associadas à intensidade da doença e a um maior risco de morte hospitalar (DE BACKER et al., 2011).

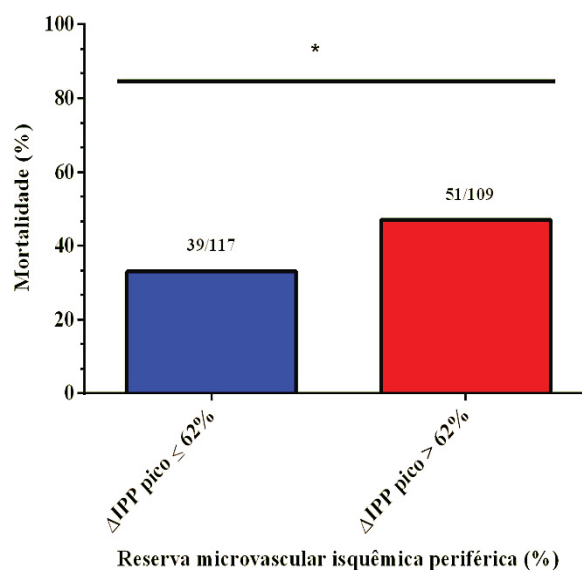
Em vermelho, variáveis com diferenças significativas entre os grupos com alta e baixa RMIP. p < 0,05\*; p < 0.01\*\*

Coletivamente, os dados caracterizam uma heterogeneidade de pacientes críticos, típico quadro secundário a sepse. Como pode ser visualizado na Tabela 2, não houve diferenças significativas entre os grupos (alta e baixa RMIP) em relação a idade, gênero, foco de infecção, detecção do agente infeccioso, Covid-19 confirmado, escores de gravidade, biomarcadores, níveis de lactato, creatinina e uso/dose de medicações vasopressoras. Adicionalmente, ambos os grupos tinham atingido as metas macro hemodinâmicas (PAM,  $S_{cv}O_2$  e diurese) no momento da avaliação da reserva microvascular isquêmica periférica. No entanto, o grupo de alta RMIP foi composto por uma maior parcela de pacientes com história prévia de acidente vascular cerebral e câncer, os quais apresentavam-se com parâmetros alterados de perfusão periférica (IPP e TEC) no momento da realização do teste quando comparados aos de baixa RMIP.

## 5.2 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL PROGNÓSTICO DA RMIP NA SEPSE

A mortalidade intra-hospitalar em ambiente intensivo, observada nos primeiros 28 dias do diagnóstico da sepse, correspondeu a 40% dos casos (90/226), cujas causas foram choque refratário (45%), admissão em cuidados paliativos (23%), disfunção múltipla de órgãos (21%) e piora da doença de base (11%). Como pode ser visualizado na Figura 12, comparamos os índices de mortalidade em 28 dias entre os grupos na sepse. Através da análise univariada dessas variáveis, observamos diferenças significativas nas taxas de óbito entre os grupos ( $p = 0,04$ ) sendo mais elevada no grupo com alta RMIP (RR 1,25, IC 95% 1.00-1,55) quando comparado ao grupo de baixa RMIP.

FIGURA 13 - AVALIAÇÃO PROGNÓSTICA DA RMIP NA SEPSE



FONTE: O autor (2022).

NOTA: \*  $p < 0.05$ .

As características demográficas, laboratoriais e clínicas dos sobreviventes e não sobreviventes dos pacientes com sepse estão descritas na Tabela 3.

TABELA 3 - PARÂMETROS DEMOGRÁFICOS, LABORATORIAIS E CLÍNICOS PÓS RESSUSCITAÇÃO VOLÊMICA ENTRE SOBREVIVENTES E NÃO SOBREVIVENTES NA SEPSE

Parâmetros	Todos os pacientes n = 226	Sobreviventes n = 136	Não sobreviventes n = 90	Valor p
<b>Clínicos</b>				
<b>Idade (anos), média (DP)</b>	60 (16)	58 (16)	63 (15)	<b>0,01*</b>
Gênero, n (%)				1,00
Masculino	129 (57,1)	78 (57,4)	51 (56,7)	
Feminino	97 (42,9)	58 (42,6)	39 (43,3)	
Comorbidades, No. (%)				
Diabetes mellitus	72 (31,9)	42 (30,9)	30 (33,3)	0,77
Hipertensão	126 (55,8)	72 (52,9)	54 (60)	0,33
Doença renal crônica	30 (13,3)	15 (11)	15 (16,7)	0,23
Falência cardíaca	39 (17,3)	20 (14,7)	19 (21,1)	0,21
Falência hepática	10 (4,4)	4 (2,9)	6 (6,7)	0,20
Doença cerebral vascular	21 (9,3)	11 (8,1)	10 (11,1)	0,48
Doença pulmonar crônica	36 (15,9)	19 (14)	17 (18,9)	0,35
Câncer	32 (14,2)	17 (12,5)	15 (16,7)	0,43
<b>Imunossupressão</b>	45 (19,9)	20 (14,7)	25 (27,8)	<b>0,01*</b>
<b>Foco da infecção, No. (%)</b>				
Pulmonar	118 (52,2)	65 (47,8)	53 (58,9)	0,07
Abdominal	42 (18,6)	26 (19,1)	16 (17,8)	0,86
Urinário	27 (11,9)	20 (14,7)	7 (7,8)	0,10
Outros	39 (17,3)	25 (18,4)	14 (15,6)	0,52
<b>Cultura positiva, No. (%)</b>	156 (69)	93 (68,4)	63 (70)	0,88
<b>Hemocultura positiva, No. (%)</b>	69 (30,7)	41 (30,1)	28 (31,5)	0,88
<b>Escores e biomarcadores</b>				
<b>SOFA escore, média (DP)</b>	9 (4)	7 (4)	10 (4)	<b>&lt; 0,01**</b>
<b>APACHE II escore, média (DP)</b>	23 (8)	21 (7)	27 (8)	<b>&lt; 0,01**</b>
Proteína C reativa (mg/dl), média (DP)	17,5 (11,4)	17 (12)	18,6 (9,9)	0,25
<b>Procalcitonina (ng/ml), No. / mediana (AIQ)</b>	169 / 1,4 (0,4-6,8)	93 / 1,1 (0,3-3,8)	76 / 3,5 (0,7-10,5)	<b>&lt; 0,01**</b>
<b>Dados hemodinâmicos pós ressuscitação</b>				
PAM (mmHg), mediana (AIQ)	83 (75-94)	83 (74-97)	84 (75-92)	0,87
<b>Frequência cardíaca (/min), média (DP)</b>	93 (22)	85 (16)	101 (21)	<b>&lt; 0,01**</b>
ScvO <sub>2</sub> (%), No. / média (DP)	75 / 74 (9)	37 / 75 (9)	38 / 73 (10)	0,36
Pv-aCO <sub>2</sub> (mmHg), No. / mediana (AIQ)	74 / 6,9 (2,9-9)	35 / 4,9 (3,9-9)	39 / 5,2 (2,4-10,9)	0,82
<b>Lactato (mmol/L), No. / mediana (AIQ)</b>	220 / 1,9 (1,4-2,7)	132 / 1,7 (1,3-2,5)	88 / 2,3 (1,7-3,5)	<b>&lt; 0,01**</b>
<b>Diurese (ml/kg/h), No. / mediana (AIQ)</b>	210 / 0,5 (0,2-0,8)	123 / 0,6 (0,4-0,9)	87 / 0,4 (0,1-0,7)	<b>&lt; 0,01**</b>
<b>Uso de drogas vasoativas, No. (%)</b>	116 (51,3)	53 (39)	63 (70)	<b>&lt; 0,01**</b>
<b>Dose noradrenalina, No. / mediana (AIQ), µg/kg/min</b>	114 / 0,2 (0,1-0,5)	52 / 0,2 (0,1-0,4)	63 / 0,3 (0,1-0,6)	<b>&lt; 0,01**</b>
<b>Uso de Vasopressina, No. (%)</b>	30 (13,3)	10 (7,4)	20 (22,2)	<b>&lt; 0,01**</b>
<b>Perfusão periférica anormal</b>				
<b>TEC prolongado (&gt;3 segundos), No. (%)</b>	82 (36,3)	41 (30,1)	41 (45,6)	<b>0,02*</b>
<b>IPP alterado (&lt;1,4), No. (%)</b>	84 (37,2)	35 (25,7)	49 (54,4)	<b>&lt; 0,01**</b>
<b>Neuropeptídeos</b>				
SP, No. / mediana (AIQ), pg/ml	46 / 15 (9,3-31,7)	27 / 132,3 (21,6-364)	20 / 151,6 (6,8-419,9)	0,66
CGRP, No. / mediana (AIQ), pg/ml	46 / 153 (20,7-375,7)	29 / 15,2 (10,1-29,7)	21 / 14,6 (8,7-44,6)	0,81
<b>RMIP, mediana (AIQ), %</b>	60 (17-133)	51 (12-97)	78 (25-202)	<b>&lt; 0,01**</b>

FONTE: O autor (2022).

NOTA: Em vermelho, variáveis com diferenças significativas entre os sobreviventes e não sobreviventes. p < 0,05\*; p < 0,01\*\*

Como pode ser observado, não houve diferença estatisticamente relevante entre sobreviventes e não sobreviventes na sepse em relação ao sexo, comorbidades, foco de infecção, detecção do agente infeccioso, níveis de proteína C reativa (PCR), dados hemodinâmicos pós ressuscitação (PAM, ScvO<sub>2</sub>, Pv-aCO<sub>2</sub>) e níveis dos neuropeptídeos. Contudo, pode-se verificar que o grupo dos pacientes não sobreviventes foi composto por uma maior parcela de pacientes com idade mais avançada, história de imunossupressão, pontuações elevadas nos escores de gravidade (APACHE II e SOFA), níveis mais altos de procalcitonina e lactato, frequência cardíaca estava mais elevada, uma menor diurese, parâmetros de perfusão periféricas anormais no momento do teste (TEC e IPP), e que necessitaram de maiores doses de noradrenalina e maior uso de vasopressina quando comparados ao grupo dos sobreviventes. Adicionalmente, foram observados valores mais elevados da RMIP no grupo dos não sobreviventes.

Após ajuste para as demais variáveis na análise multivariada, a alta RMIP ( $\Delta$ IPP pico > 62%) manteve-se como um fator de risco independente para predição de mortalidade intra-hospitalar em 28 dias, sendo que esse grupo se apresentou com, aproximadamente, 2,1 vezes mais risco para mortalidade quando comparado ao grupo com baixa RMIP, conforme demonstrado na Tabela 4.

Tabela 4 -ANÁLISE MULTIVARIADA PROGNÓSTICA COM A RMIP

	Bivariada			Multivariada		
	Odds Ratio	IC 95%	Valor p	Odds Ratio	IC 95%	Valor p
$\Delta$ IPP pico > 62%	1,759	1,027-3,011	<b>0,04*</b>	2,156	1,131-4,111	<b>0,02*</b>
Idade	1,022	1,004-1,040	<b>0,01*</b>	1,040	1,017-1,064	<b>&lt; 0,01**</b>
SOFA	1,214	1,123-1,312	<b>&lt; 0,01**</b>	1,199	1,099-1,309	<b>&lt; 0,01**</b>
Frequência cardíaca	1,031	1,017-1,045	<b>&lt; 0,01**</b>	1,032	1,016-1,049	<b>&lt; 0,01**</b>
Lactato	1,508	1,202-1,892	<b>&lt; 0,01**</b>	1,239	0,981-1,565	0,07

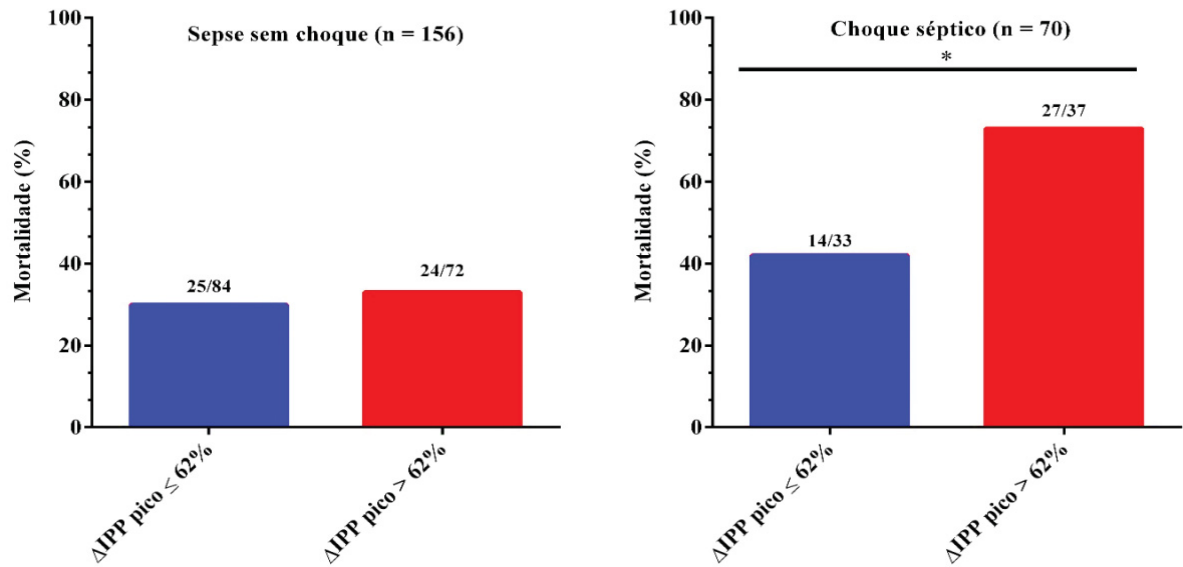
FONTE: O autor (2022).

NOTA: Em vermelho, variáveis com diferenças significativas entre sobreviventes e não sobreviventes. p < 0,05\*; p < 0.01\*\*

### 5.3 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL PROGNÓSTICO DA RMIP NOS SUBGRUPOS DA SEPSE

Subsequentemente, esse potencial prognóstico da RMIP foi analisado nos subgrupos específicos da sepse (com e sem choque). Como ilustrado da Figura 13, pacientes do grupo de alta RMIP apresentaram maiores índices de mortalidade intra-hospitalar em 28 dias quando comparado ao grupo de baixa RMIP no choque séptico (RR 2,14, IC 95% 1,49-3,08, p = 0,01). No entanto, tais diferenças não foram demonstradas nos casos de sepse sem choque (p = 0,73).

FIGURA 14 - AVALIAÇÃO PROGNÓSTICA DA RMIP NOS SUBGRUPOS DA SEPSE



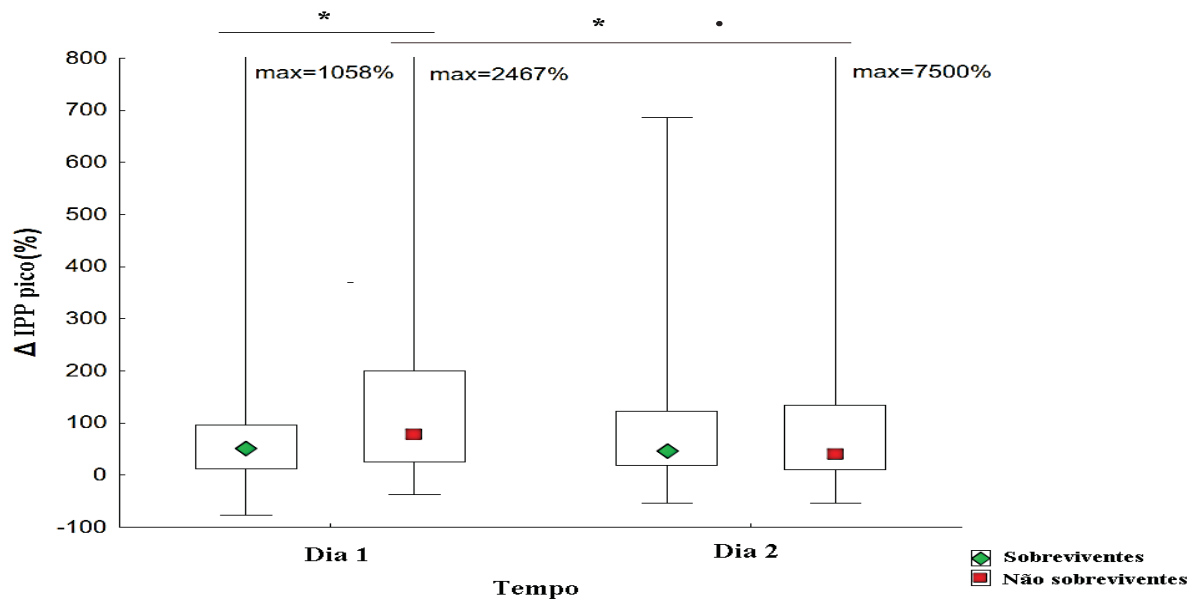
FONTE: O autor (2022).

NOTA: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ .

#### 5.4 VARIAÇÕES DA RMIP ENTRE SOBREVIVENTES E NÃO SOBREVIVENTES AO LONGO AS PRIMEIRAS 48 HORAS DO DIAGNÓSTICO NA SEPSE E SEUS SUBGRUPOS

Conforme demonstrado na Figura 14, uma análise seriada dos valores da RMIP (%) foi realizada durante as primeiras 48 horas do diagnóstico entre sobreviventes e não sobreviventes na sepse. A análise intergrupo (Sobreviventes vs. Não sobreviventes) demonstrou diferenças significativas nos valores do  $\Delta$  IPP pico (%) nas primeiras 24 horas da avaliação ( $p = 0,01$ ), sendo que os não sobreviventes apresentaram uma mediana mais elevada ( $\Delta$  IPP pico 78%, AIQ 26-200%) quando comparados aos sobreviventes ( $\Delta$  IPP pico 51,5%, AIQ 12-95%). No entanto, tais diferenças não foram observadas no segundo dia de avaliação ( $p = 0,31$ ). Já quando analisamos os grupos separadamente, observamos que a mediana reduziu significativamente ( $p = 0,02$ ) ao longo das 48 horas de observação entre os não sobreviventes (Dia 1 78%, AIQ 26-200%; Dia 2 40%, AIQ 11-135%). Entretanto, tais variações significativas não foram observadas nos sobreviventes ( $p = 0,52$ ).

Figura 15 - AVALIAÇÃO SERIADA DA RMIP NAS PRIMEIRAS 48 HORAS DO DIAGNÓSTICO DE SEPSE

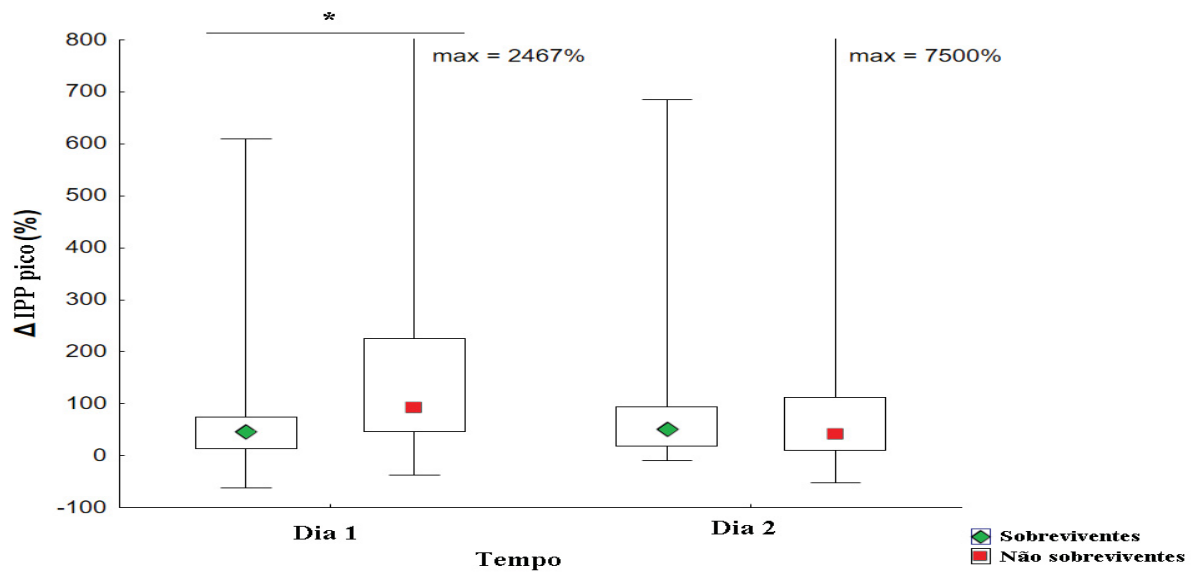


FONTE: O autor (2022).

NOTA: (A) Análise intergrupo (Sobreviventes vs. Não sobreviventes): Dia 1\*  $p < 0,05$ , Dia 2 ns; (B) Análise intragrupo ao longo das 48 h: Sobreviventes ns; Não sobreviventes \*  $p < 0,05$ .

Adicionalmente, a mesma análise seriada dos valores da RMIP (%) foi realizada durante as primeiras 48 horas do diagnóstico entre sobreviventes e não sobreviventes no subgrupo da sepse, o choque séptico (Figura 15). Semelhante ao grupo total dos pacientes com sepse, a análise intergrupo (Sobreviventes vs. Não sobreviventes) mostrou diferenças significativas nos valores do  $\Delta$  IPP pico (%) nas primeiras 24 horas da avaliação ( $p = 0,03$ ), sendo que os não sobreviventes apresentaram uma mediana mais elevada ( $\Delta$  IPP pico 93%, AIQ 46-220%) quando comparados aos sobreviventes ( $\Delta$  IPP pico 47%, AIQ 13-74%), as quais não foram observadas no segundo dia de avaliação ( $p = 0,56$ ). Já quando analisamos os grupos separadamente, observamos que nenhum apresentou alterações significativas nos valores da RMIP (%) ao longo do tempo (Sobreviventes  $p = 0,72$ ; Não sobreviventes  $p = 0,12$ ).

Figura 16 - AVALIAÇÃO SERIADA DA RMIP NAS PRIMEIRAS 48 HORAS DO DIAGNÓSTICO NO CHOQUE SÉPTICO



FONTE: O autor (2022).

NOTA: (A) Análise intergrupo (sobreviventes vs. Não sobreviventes): Dia 1\*  $p < 0.05$ , Dia 2 ns; (B) Análise intragrupo ao longo das 48 h: Sobreviventes ns; Não sobreviventes ns.

## 5.5 HIPERLACTATEMIA PERSISTENTE ASSOCIADA À SEPSE E RMIP

Dentre os pacientes incluídos no estudo, 108 persistiram com níveis elevados de lactato ( $\geq 2$  mmol/L), a despeito da ressuscitação hemodinâmica com fluidos. Os dados clínicos e demográficos dos pacientes com HP secundária a sepse comparando os grupos com alta e baixa RMIP estão descritos na Tabela 5. Como pode ser verificado, não houve diferenças significativas entre os grupos (alta e baixa RMIP) em relação a idade, gênero, foco de infecção, detecção do agente infeccioso, escores de gravidade, biomarcadores e uso/dose de medicações vasopressoras. Adicionalmente, ambos os grupos tinham atingido as metas macro hemodinâmicas (PAM,  $S_{cv}O_2$  e diurese) no momento da avaliação da reserva microvascular isquêmica periférica. No entanto, o grupo de alta RMIP foi composto por uma maior parcela de pacientes com história prévia de acidente vascular cerebral, os quais apresentavam-se com parâmetros alterados de perfusão periférica (IPP e TEC) quando comparados aos de baixa RMIP no momento da avaliação do teste. Além disso, houve diferenças significativas nas taxas de mortalidade em 28 dias entre grupos ( $p < 0,01$ ), que foram maiores no grupo com alta RMIP.

TABELA 5 - PARÂMETROS DEMOGRÁFICOS, LABORATORIAIS E CLÍNICOS PÓS RESSUSCITAÇÃO VOLÊMICA ENTRE OS GRUPOS COM ALTA E BAIXA RMIP EM PACIENTES COM HP

Parâmetros	Todos os pacientes n = 108	Grupo Baixa RMIP n = 52	Grupo Alta RMIP n = 56	Valor p
<b>Clínicos</b>				
<b>Idade (anos), média (DP)</b>	62 (16)	60 (16)	63 (15)	0,21
<b>Gênero, n (%)</b>				0,25
Masculino	56 (51,9)	30 (57,7)	26 (46,4)	
Feminino	52 (48,1)	22 (42,3)	30 (53,6)	
<b>Comorbidades, No. (%)</b>				
Diabetes mellitus	38 (35,2)	18 (34,6)	20 (35,7)	1,00
Hipertensão	60 (55,6)	28 (53,8)	32 (57,1)	0,84
Doença renal crônica	7 (6,5)	3 (5,8)	4 (7,1)	1,00
Falência cardíaca	14 (13)	6 (11,5)	8 (14,3)	0,77
Falência hepática	7 (6,5)	4 (7,7)	3 (5,4)	0,70
<b>Doença cerebral vascular</b>	10 (9,3)	1 (1,9)	9 (16,1)	< 0,01**
Doença pulmonar crônica	14 (13)	7 (13,5)	7 (12,5)	1,00
Câncer	15 (13,9)	6 (11,5)	9 (16,1)	0,58
Imunossupressão	23 (21,3)	8 (15,4)	15 (26,8)	0,16
<b>Foco da infecção, No. (%)</b>				
Pulmonar	48 (44,4)	22 (42,3)	26 (46,4)	0,70
Abdominal	29 (26,9)	14 (26,9)	15 (26,8)	1,00
Urinário	14 (13)	9 (17,3)	5 (8,9)	0,40
Outros	17 (15,7)	7 (13,5)	10 (17,9)	0,79
<b>Cultura positiva, No. (%)</b>	71 (65,7)	37 (71,2)	34 (60,7)	0,31
<b>Hemocultura positiva, No. (%)</b>	31 (28,7)	16 (30,8)	15 (26,8)	0,67
<b>Escores e biomarcadores</b>				
SOFA escore, média (DP) <sup>a</sup>	9 (4)	9 (4)	10 (4)	0,36
APACHE II escore, média (DP) <sup>b</sup>	24 (9)	23 (10)	25 (8)	0,30
PCR (mg/dl), mediana (AIQ)	16 (10,6-20,8)	17 (8-21,1)	16 (12-20)	0,95
Procalcitonina (ng/ml), No. / mediana (AIQ)	81 / 3 (0,6-11,5)	37 / 3,3 (0,3-12,7)	44 / 2,2 (0,9-10,2)	0,78
<b>Dados hemodinâmicos pós ressuscitação</b>				
PAM (mmHg), mediana (AIQ)	82 (74-92)	81 (71-88)	85 (75-92)	0,38
Frequência cardíaca (/min), média (DP)	98 (22)	98 (23)	98 (20)	0,96
ScvO <sub>2</sub> , No. / média (DP), %	40 / 73 (10)	18 / 73 (11)	22 / 73 (9)	0,96
Pv-aCO <sub>2</sub> (mmHg), No. / mediana (AIQ),	40 / 7,1 (6,9)	18 / 6,9 (6,6)	22 / 7,3 (7,3)	0,85
Diurese (ml/kg/h), No. / mediana (AIQ)	105 / 0,5 (0,2-0,9)	50 / 0,5 (0,4-0,9)	55 / 0,5 (0,2-0,9)	0,45
<b>Uso de drogas vasoativas, No. (%)</b>	70 (64,8)	33 (63,5)	37 (66,1)	0,84
<b>Dose noradrenalina, No. /mediana (AIQ), µg/kg/min</b>	69 / 0,3 (0,2-0,5)	32 / 0,2 (0,1-0,5)	37 / 0,3 (0,2-0,6)	0,06
<b>Uso de Vasopressina, No. (%)</b>	21 (19,4)	8 (15,4)	13 (23,2)	0,34
<b>Perfusão periférica anormal</b>				
<b>TEC prolongado (&gt;3 segundos), No. (%)</b>	45 (41,7)	14 (26,9)	31 (55,4)	< 0,01**
<b>IPP alterado (&lt;1.4), No. (%)</b>	51 (47,2)	10 (19,2)	41 (73,2)	< 0,01**
<b>Mortalidade, No. (%)</b>	57 (52,8)	20 (38,5)	37 (66,1)	< 0,01**

FONTE: O autor (2022).

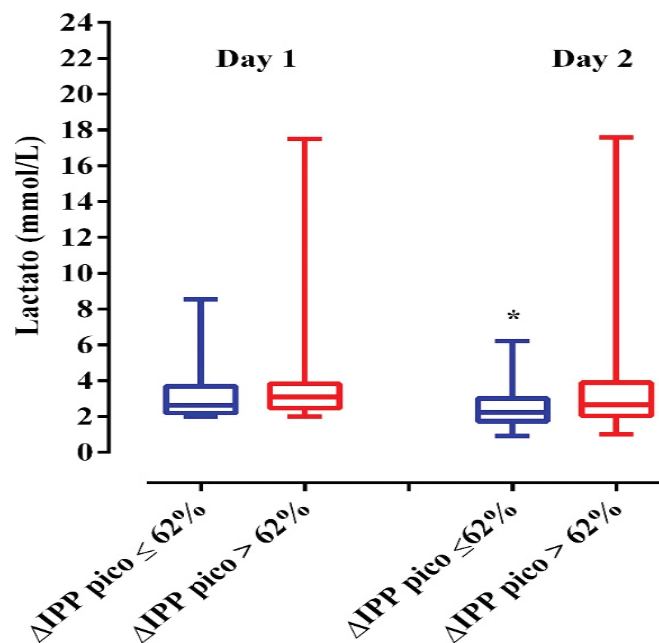
NOTA: Em vermelho, variáveis com diferenças significativas entre os grupos com alta e baixa RMIP. p < 0,05\*; p < 0,01\*\*

### 5.5.1 Análise temporal dos níveis de lactato entre grupos com alta e baixa RMIP

Como ilustrado na Figura 16, foi realizada uma avaliação seriada dos níveis de lactato no contexto da HP associada a sepse nos dois primeiros dias após a ressuscitação hemodinâmica com fluidos (n = 108) e comparada entre os grupos com alta (n=56) e baixa (n=52) RMIP. Não

foram observadas diferenças significativas nos níveis de lactato entre os grupos (alta versus baixa RMIP) nas primeiras 24 ( $p = 0,15$ ) e 48 horas ( $p = 0,05$ ). Já quando analisamos os grupos separadamente ao longo do tempo (alta e baixa RMIP), encontramos mudanças significativas nos níveis de lactato tanto para o grupo com alta RMIP ( $p = 0,01$ ) quanto para o grupo com baixa RMIP ( $p=0,00$ ). Entretanto, somente o grupo com baixa RMIP demonstrou uma redução efetiva nos níveis de lactato ao longo do tempo, após correção para múltiplas comparações ( $p < 0,05$ ).

FIGURA 17 - VARIAÇÃO DOS NÍVEIS DE LACTATO ENTRE OS GRUPOS COM ALTA E BAIXA RMIP NO CONTEXTO DA HP



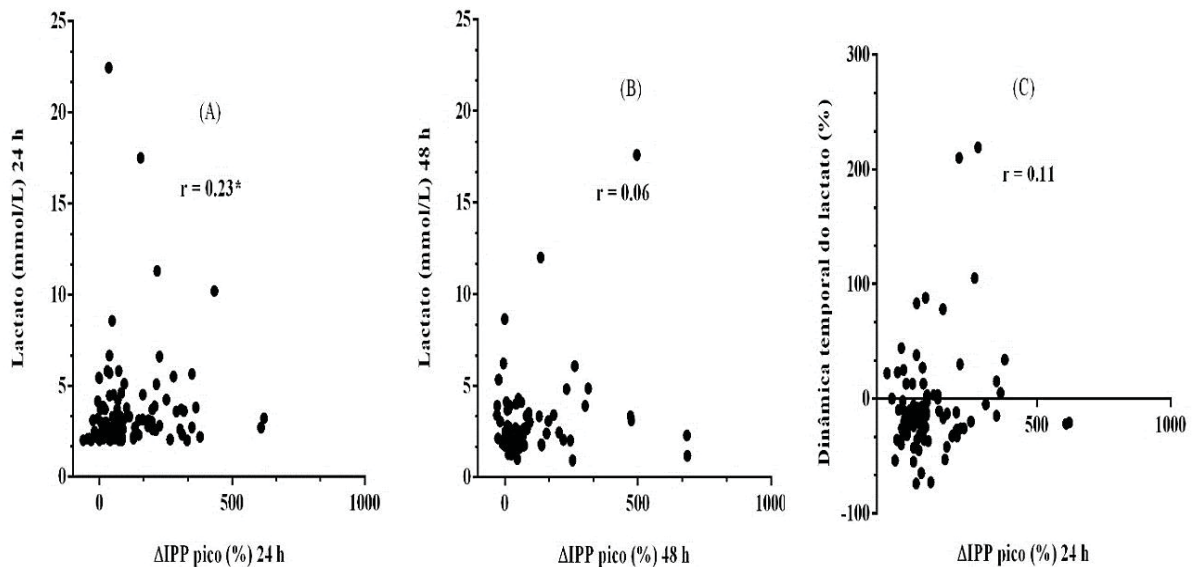
FONTE: O autor (2022).

NOTA:(A) Análises intergrupos (alta RMIP vs. baixa RMIP) ns. (B) Análises intragrupos: alta RMIP ns; baixa RMIP\* $p < 0,05$ .

### 5.5.3 Correlação entre RMIP e mudanças nos níveis de lactato ao longo do tempo

Como mostrado na Figura 17A, o estudo observou uma fraca, mas estatisticamente significativa correlação positiva entre o  $\Delta\text{IPP pico}$  (%) e os níveis de lactato (mmol/L) dentro das primeiras 24 h do diagnóstico de sepse após ressuscitação hemodinâmica com fluidos ( $p = 0,01$ ). Entretanto, não foram encontradas correlações significativas ( $p = 0,55$ ) entre estas variáveis no segundo dia de avaliação (Figura 17B). Adicionalmente, como demonstrado na Figura 17C, o estudo não observou correlações significativas ( $p = 0,31$ ) entre a  $\Delta\text{IPP pico}$  (%) das primeiras 24 horas com DTL (%).

Figura 18 - CORRELAÇÃO ENTRE A RESERVA MICROVASCULAR ISQUÊMICA PERIFÉRICA E OS NÍVEIS DE LACTATO NA HIPERLACTATEMIA PERSISTENTE ASSOCIADA A SEPSE.



FONTE: O autor (2022).

NOTA: \*\* $p < 0,05$ .

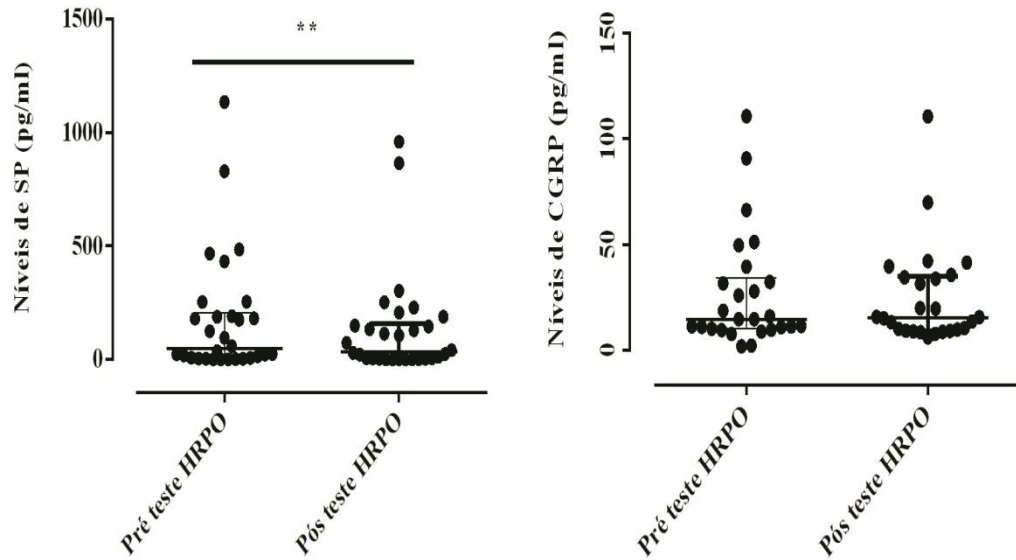
## 5.6 NEUROPEPTÍDEOS E RMIP

O presente trabalho investigou uma possível atuação fisiopatológica dos neuropeptídeos SP e CGRP na RMIP em 46 pacientes.

### 5.6.1 Variação dos níveis dos neuropeptídeos durante o teste de HRPO

Conforme ilustrado na Figura 18, foram analisados os níveis de neuropeptídeos pré e pós o teste HRPO. Variações estatisticamente significativas foram observadas em relação aos níveis da SP ( $p < 0,01$ ), cujo valor da mediana pré-teste foi maior (46,7, AIQ 13,7-180,6) quando comparado ao pós-teste (35, AIQ 4,9-133,5). No entanto, essas não foram significativas nas análises dos níveis do CGRP ( $p = 0,86$ ) pré (14,6, AIQ 10,8-31,5) e pós teste (15,2, AIQ, 9,7-33,8).

FIGURA 19 - VARIAÇÕES DAS CONCENTRAÇÕES DOS NEUROPEPTÍDEOS PRÉ E PÓS TESTE DE HRPO EM PACIENTES COM SEPSE.



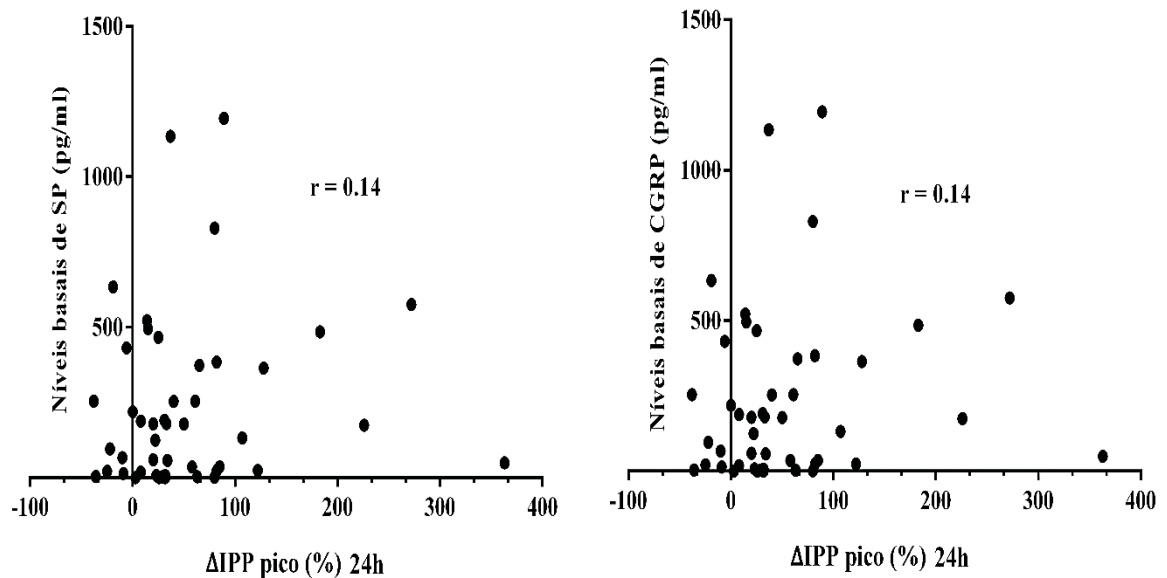
FONTE: O autor (2022).

NOTA: (A) SP \*\*  $p < 0.01$ ; (B) CGRP ns.

### 5.6.2 Correlação entre níveis de neuropeptídeos e sua variação pré e pós teste com a RMIP

Como pode ser observado na Figura 19, este estudo não encontrou correlações significativas entre a RMIP (%) e os níveis basais dos neuropeptídeos CGRP ( $p = 0,71$ ) e SP ( $p = 0,33$ ).

FIGURA 20 - CORRELAÇÃO ENTRE NÍVEIS BASAIS DOS NEUROPEPTÍDEOS COM A RMIP NA SEPSE

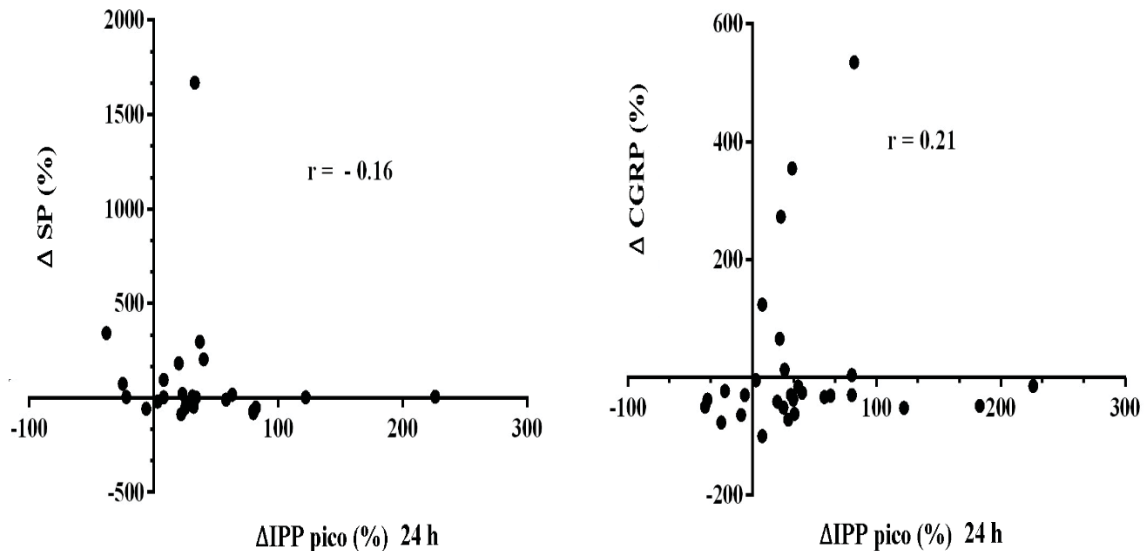


FONTE: O autor (2022).

NOTA: (A) SP vs.  $\Delta$ IPP pico (%) ns; (B) CGRP vs.  $\Delta$ IPP pico (%) ns.

Adicionalmente, não foram observadas correlações significativas entre os valores da RMIP ( $\Delta$  IPP pico, %) e da  $\Delta$  neuropeptídeos pré e pós teste, CGRP ( $p = 0,41$ ) e SP ( $p = 0,26$ ), como pode ser visualizado na Figura 20.

FIGURA 21 - CORRELAÇÃO ENTRE VARIAÇÕES DOS NEUROPEPTÍDEOS COM A RMIP NA SEPSE



FONTE: O autor (2022).

NOTA:(A)  $\Delta$ SP (%) vs.  $\Delta$ IPP pico (%) ns; (B)  $\Delta$ CGRP (%) vs.  $\Delta$ IPP pico (%) ns.

## 6 DISCUSSÃO

Os distúrbios microvasculares, além de apresentarem um papel importante na fisiopatologia da sepse, estão associados ao desenvolvimento das disfunções orgânicas e piores desfechos clínicos (DE BACKER et al., 2013; LELUBRE; VINCENT, 2018; POOL; GOMEZ; KELLUM, 2018). Dentre os mecanismos atribuídos a esse acometimento microvascular, uma particular atenção tem sido dada aos distúrbios de reatividade microvascular, visto que evidências recentes destacaram seu potencial prognóstico utilizando a associação dos métodos de HRPO e IPP nos pacientes com choque séptico (MENEZES et al., 2018; 2019). Corroborando tais achados, o presente trabalho demonstrou o potencial da RMIP como uma ferramenta de enriquecimento prognóstico para sepse e choque séptico, e forneceu mais informações sobre o melhor momento de uso e sua interpretação fisiopatológica. Além disso, em relação à reprodutibilidade futura dos resultados, este estudo visou a robustez, por ter sido realizado em quatro UTIs diferentes e, baseado em pensamento Bayesiano, elaborou uma hipótese pré-teste coerentemente possível para uma amostra pré-calculada ligada a dados consistentes de estudos *a priori*. Portanto, o presente estudo traz várias novas evidências que podem contribuir para o

amplo uso clínico da RMIP, tanto para a detecção precoce de pelo menos dois subgrupos com diferentes riscos de mortalidade, quanto para o desenvolvimento de futuras terapias guiadas.

Nos últimos anos, alguns estudos robustos demonstraram a relevância da hipoperfusão microcirculatória periférica para a mortalidade na sepse (DE BACKER et al., 2013; SANTOS et al., 2019). Entretanto, o papel da hiporesponsividade vascular nesta hipoperfusão ainda não é totalmente compreendido, visto que, quando avaliada na microcirculação do músculo esquelético (DOERSCHUG et al., 2007) e dos vasos dependentes de NO (DAVIS et al., 2009), foi identificado uma relação direta entre os distúrbios da reatividade microvascular e o prognóstico o que levou aos autores a atribuir uma possível causalidade devido ao conhecido dano estrutural endotelial-vascular gerado pela sepse. Entretanto, a descoberta surpreendente da associação de uma alta RMIP evidenciada na ponta dos dedos de pacientes com choque séptico e sua associação com mau prognóstico (MENEZES et al., 2019), agora confirmada em um estudo mais extenso, exige uma nova interpretação clínica da reatividade vascular na sepse.

A pele corresponde a um dos órgãos mais acessíveis do corpo humano, cuja rica microcirculação é passível de observação da reatividade microvascular através de parâmetros não invasivos à beira do leito. Dentre os testes bem estabelecidos atualmente encontra-se a HRPO, técnica caracterizada por uma isquemia transitória do tecido seguida pela rápida reperusão tecidual, a qual tem sido proposta para avaliar a reatividade microvascular e a função endotelial (ROSENBERRY; NELSON, 2020). No entanto, para devida compreensão dos seus resultados, algumas questões devem ser consideradas: 1. sua magnitude representa um fenômeno aparentemente órgão-dependente (DAVIS et al., 2009; DOERSCHUG et al., 2007; ROUSTIT; CRACOWSKI, 2013) sendo, portanto, dependente de diferentes vias metabólicas nos diversos tecidos; e 2. a interpretação do teste também depende da fase da avaliação da hiperemia reativa, visto que as respostas de fluxo precoce parecem ser derivadas principalmente por mecanismos mecanossensíveis, enquanto o estresse de cisalhamento e fatores metabólicos afetam a resposta de fluxo tardia (KOLLER; BAGI, 2002).

Uma das possíveis interpretações do teste de HRPO é baseada em um componente microhemodinâmico no qual a RMIP refletiria a proporção de microvasos, tais como os capilares e arteríolas recrutáveis após o estímulo isquêmico transitório (DOERSCHUG et al., 2007). Comprovadamente, os pacientes sépticos com maior risco de óbito são aqueles que possuem menor fluxo microcirculatório tecidual (SAKR et al., 2004). Nossos resultados sugerem, seguindo essa perspectiva, que os pacientes mais graves (como aqueles com choque, por exemplo) teriam uma reserva microvascular não utilizada, apesar da hipóxia dependente de

hipofluxo sanguíneo. Ou seja, a maior reserva constatada indicaria um desacoplamento entre demanda e oferta de fluxo tecidual. Por outro lado, os pacientes com melhor prognóstico seriam aqueles que conseguiriam acoplar melhor o fluxo sanguíneo às demandas teciduais e, assim, gerariam uma menor reserva isquêmica mensurada pelo teste. Tal hipótese corrobora a literatura ao demonstrar que os distúrbios microcirculatórios podem ter um aspecto mais funcional do que estrutural na sepse (DOERSCHUG et al., 2007; KOLLER; BAGI, 2002).

Outra possível interpretação do teste da HRPO seria de origem farmacológica, no qual a RMIP representaria indiretamente a biodisponibilidade de mediadores locais. Embora os mecanismos fisiopatológicos de HRPO na pele não sejam totalmente compreendidos, evidências prévias identificaram que a expressão e liberação de neuropeptídeos via fibras nervosas sensoriais e substâncias derivadas do citocromo P450 epoxigenases parecem desempenhar um papel essencial no pico da hiperemia reativa em indivíduos saudáveis (CRACOWSKI et al., 2013; CRACOWSKI; LORENZO; MINSON, 2007). Dessa forma, uma das motivações do presente trabalho foi investigar se os neuropeptídeos tais como a SP e CGRP aumentariam seus níveis após teste de isquemia, explicando, teoricamente, o mecanismo funcional que ligaria uma alta RMIP a uma maior mortalidade, visto que tais mediadores possuem propriedades vasodilatadoras (SCHLERETH et al., 2016), imunomoduladoras e estão associadas a piores desfechos (BEER et al., 2002; LORENTE et al., 2015, 2017). Infelizmente, nossas descobertas não corroboraram esta hipótese. Ao contrário das expectativas, após o teste da HRPO os níveis da SP reduziram e os níveis de CGRP plasmático não sofreram alterações significativas. Outra questão levantada por este trabalho foi se a presença desses mediadores nos tecidos periféricos poderia influenciar na RMIP dos pacientes com sepse, porém tal hipótese não foi confirmada através das correlações entre as variáveis. Apesar do presente estudo não ter encontrado associações entre a RMIP com neuropeptídeos, outros mediadores peptídicos (Endotelina); não-peptídicos (NO, p.ex.) e/ou canais iônicos (BKCa, por exemplo) por suas ações na vasoreatividade (BURGDORFF; BUCHER; SCHUMANN, 2018; JOFFRE et al., 2020; LEVY et al., 2010; LORENZO; MINSON, 2007) poderiam explicar as variações da IPP quando feita a HRPO. Entretanto, outros estudos serão necessários para confirmar esta afirmação.

Outra possível explicação para o potencial prognóstico da RMIP investigada no presente trabalho foi baseada na DTL. No ambiente crítico estabelecido durante a sepse, as perturbações do fluxo sanguíneo microcirculatório estimulam o metabolismo anaeróbico da glicose e, dessa forma, correspondem a parte dos mecanismos atribuídos ao aumento dos níveis de lactato sanguíneo (SUETRONG; WALLEY, 2016). Nesse sentido, algumas etapas no manejo da sepse,

tais como a antibioticoterapia precoce e a administração de fluidos, são importantes para redução dos seus níveis e melhorar o prognóstico (EVANS et al., 2021). Entretanto, uma vez estabelecida a ressuscitação hemodinâmica (momento da avaliação RMIP escolhido neste estudo), é questionável se a hipóxia tecidual dependente do fluxo continuaria sendo a causa primária dos níveis persistentemente altos de lactato e seu pior valor prognóstico. Corroborando tal hipótese, o presente trabalho verificou que, apesar dos parâmetros macro hemodinâmicos estáveis no momento escolhido para realização dos testes, aproximadamente metade da população com sepse estudada (n = 108) persistiu com níveis elevados de hiperlactatemia.

Durante a sepse, as mudanças nos níveis do lactato refletem uma associação desproporcional entre o que é produzido (por um aumento do metabolismo da glicose ou dedução do metabolismo do piruvato) e o que é eliminado do organismo (através da excreção [urina ou suor por exemplo]; [frase fora de contexto (HERNANDEZ; BELLOMO; BAKKER, 2019)]. Dessa forma, visto a complexidade desse biomarcador, o nosso trabalho buscou avaliar se, além dos distúrbios metabólicos atualmente reconhecidos no desenvolvimento da hiperlactatemia persistente, tais como, a perda da habilidade dos tecidos extraírem o oxigênio secundária aos danos endoteliais microvasculares e edema tecidual, disfunções mitocondriais e enzimáticas, aumento da glicólise excedendo a capacidade de metabolização, estimulação  $\beta_2$  adrenérgica pelas drogas vasoativas e redução da sua eliminação atribuída às disfunções orgânicas associadas a sepse (SUETRONG; WALLEY, 2016), a RMIP teria alguma influência nas mudanças dos níveis do lactato ao longo do tempo. Curiosamente, foi verificado que o grupo com uma menor RMIP reduziu mais eficientemente os níveis do lactato ao longo das 48 horas de acompanhamento, e que não foram observadas variações significativas desse biomarcador no grupo com alta RMIP ao longo do tempo. Diante desse resultado, o presente trabalho buscou investigar qual a força da associação entre tais variáveis através de correlações ao longo do tempo. Verificou-se uma correlação positiva fraca entre as variáveis nas primeiras 24 horas sugerindo que os valores da RMIP (após a ressuscitação hemodinâmica) possivelmente interfira nos níveis do lactato nesse período. No entanto, quando correlacionadas, tais variáveis (níveis de lactato versus valores de RMIP), nas 48 horas, não foram observadas associações significativas. Uma possível interpretação para tal achado seria baseada na atividade adrenérgica (endógena e exógena) a qual, além de aumentar o metabolismo da glicose, sobrecarregando o sistema e, conseqüentemente, contribuir para a persistência de hiperlactatemia na sepse (SUETRONG; WALLEY, 2016), os níveis das catecolaminas (norepinefrina) se correlacionam positivamente com os valores da RMIP no choque séptico, como demonstrado no estudo de Menezes e colaboradores (2019). Portanto, a

estimulação dos receptores  $\alpha$  adrenérgicos por mediadores vasoativos, utilizados por grande parte dos pacientes com HP (64,8%), além de interferir na reatividade vascular, também poderia explicar as variações dos níveis de lactato neste subgrupo (baixa RMIP) somente nesse período. A provável relação da RMIP com o efeito adrenérgico (MENEZES et al., 2019) também poderia contribuir para a queda mais lenta do lactato no grupo com alta RMIP, denotando a persistência da hiperestimulação simpática nesses pacientes por efeitos compensatórios ou por disfunção autonômica. Entretanto, são necessárias mais investigações para confirmar tal hipótese.

Outra questão levantada foi se o lactato poderia ser uma variável de confusão na associação entre a alta RMIP e os piores desfechos clínicos na sepse. Essa hipótese foi levantada baseada na literatura, visto que estudos prévios demonstraram o valor prognóstico do lactato na sepse (CASSERLY et al., 2015; CHERTOFF et al., 2016; TANG et al., 2015) e a importância da redução deste biomarcador para melhora dos resultados clínicos de pacientes críticos (DING et al., 2018; GU; ZHANG; BAKKER, 2015). Tal hipótese não foi confirmada pelo presente estudo, o qual demonstrou que mesmo após ajuste para o lactato na análise multivariada, a alta RMIP manteve-se como um fator de risco independente para mortalidade na sepse.

Independente das questões de causalidade, é importante ressaltar que a sepse é uma síndrome heterogênea, induzida pela variabilidade de agentes etiológicos, e afeta hospedeiros com características genéticas e comorbidades específicas, cujo tempo para diagnóstico e tratamento é diferente. Estes fatores resultam em respostas evolutivas e terapêuticas distintas entre os pacientes. Dessa forma, um tema recente que vem sendo discutido é a respeito do enriquecimento prognóstico, ou seja, selecionar pacientes com maior probabilidade de ter o desfecho mortalidade com intuito de individualizar o manejo clínico desse grupo específico e, dessa forma, melhorar os desfechos (STANSKI; WONG, 2020). Com intuito de obter uma abordagem de medicina de precisão, este estudo analisou as taxas de mortalidade intra-hospitalar em 28 dias nos subgrupos de sepse e verificou que os pacientes do grupo com alta RMIP apresentaram taxas de mortalidade duas vezes maiores do que o grupo com baixa RMIP no subgrupo de choque séptico. Em contraste, tais diferenças não foram observadas em casos de sepse sem choque, sugerindo que os valores de RMIP do choque séptico eram possíveis mediadores de efeito nos resultados da análise de mortalidade intergrupo da sepse. Entretanto, outras análises formais precisam estimar com precisão a magnitude desta mediação.

O ambiente instável estabelecido por tal síndrome determina alterações na reatividade macro e microvascular relacionadas a diversos mediadores que são dinâmicos e dependentes do tempo (FERNANDES; ASSREUY, 2008). Portanto, também poderia ser argumentado que estas

alterações circulatórias dinâmicas poderiam resultar em diferentes significados clínicos relacionados ao tempo dos valores da RMIP. Devido a esta questão, a RMIP foi avaliada em dois tempos diferentes (24 e 48 horas), para verificar possíveis diferenças diárias no valor prognóstico do teste. Nossos resultados mostraram que a RMIP diferenciou os sobreviventes de não sobreviventes apenas nas primeiras 24 horas de avaliação, perdendo sua capacidade de previsão no segundo dia após o início do choque. Curiosamente, o período do valor preditivo mais significativo da RMIP para mortalidade em choque coincide com o período em que os pacientes mais graves apresentam um índice cardíaco mais alto e menor resistência vascular periférica (PARKER et al., 1987). Entretanto, estudos adicionais, comparando diretamente estes parâmetros, devem ser realizados para confirmar esta suposta associação entre macro e micro hemodinâmica.

Coletivamente, os resultados do presente estudo proporcionam novas perspectivas para o diagnóstico dos distúrbios microvasculares, a respeito do enriquecimento prognóstico na sepse e para um manejo clínico orientado para o futuro, visando a melhora dos desfechos clínicos, visto que, independentemente da interpretação fisiopatológica deste fenômeno, os valores de RMIP poderiam, teoricamente, apontar para o subgrupo onde a ressuscitação de fluidos e drogas vasoativas poderiam ser usadas de forma mais agressiva e, em contraponto, evitando a sobrecarga de fluidos e o excesso de catecolaminas - fatores conhecidos por sua associação com agravamento clínico (ASFAR et al., 2014; MESSMER et al., 2020) - naqueles pacientes de menor risco. Além disso, um dos principais achados deste trabalho foi o benefício da associação de testes não invasivos realizados de beira de leito, de baixo custo, que demonstraram potencial em prever o desfecho de mortalidade nos subgrupos da sepse exatamente nos tempos iniciais após o diagnóstico (dentro das primeiras 24 horas), a despeito da estabilização de outros parâmetros clínicos/hemodinâmicos, estimulando, dessa forma, a disseminação desses métodos como prática clínica rotineira. Por fim, os resultados abrem novas perspectivas para investigar as possíveis causas de mau prognóstico no grupo com alta RMIP, tais como ressuscitação insuficiente, disfunção autonômica, ou disfunção mitocondrial sendo necessários novos estudos para elucidar tais questionamentos.

Este estudo apresenta limitações que devem ser reconhecidas. Em primeiro lugar, em decorrência da pandemia de Covid 19, necessidade de recálculo amostral por uma mortalidade intra-hospitalar em 28 dias menor do que a prevista no início do estudo (estimada 47%, final de 41%) e considerando que a velocidade de entrada no estudo divergiu entre os centros estudados, a amostragem final acabou não tendo a mesma proporção de pacientes. Em segundo lugar, o

desenho proposto foi não-intervencional. Desta forma, a associação entre uma alta RMIP com a mortalidade não prova sua relação causal. Em terceiro lugar, o tempo incerto do início da sepse antes da admissão na UTI limita a extrapolação dos nossos achados para outros ambientes fora das unidades de terapia intensiva. Em quarto lugar, por até o momento não existir uma metodologia padrão-ouro de estabelecimento da RMIP, nossos resultados podem apenas contribuir para uma futura validação. Em quinto lugar, nosso trabalho não comparou os resultados com um grupo controle (por exemplo pacientes saudáveis) e, dessa forma, limita que as inferências causais sejam elencadas somente para sepse. Em sexto lugar, em relação a investigação da atuação dos neuropeptídeos na RMIP durante a sepse, fatores, tais como o período da avaliação desses mediadores, podem ter sido equivocados, visto que esses podem ter sido liberados previamente ou posteriormente ao tempo escolhido. Além disso, não foram coletadas diferentes dosagens ao longo do tempo para acessar a curva resposta e comparar com a curva reserva. Adicionalmente, sua mensuração em sangue venoso pode não representar sua mensuração em capilares. Por fim, em relação a esses mediadores, a avaliação da reserva microvascular isquêmica periférica, associada à dosagem dos neuropeptídeos em pacientes sépticos, não foi comparada com pacientes saudáveis, limitando assim as conclusões. Em sétimo lugar, não se pode afirmar que o mesmo comportamento tecidual em órgãos não vitais ocorrerá em órgãos vitais. Embora estudos anteriores sugiram que isso possa ocorrer (BRUNAUER et al., 2016). Finalmente, em oitavo lugar, nenhum tamanho de amostra foi calculado com base nas taxas de mortalidade de pacientes com hiperlactatemia persistente e alta RMIP. Neste sentido, novos estudos são necessários para confirmar nossas conclusões.

## 7 CONCLUSÕES

1. A presença de uma alta RMIP demonstrou ser um potencial marcador prognóstico na sepse nas primeiras 24 horas do diagnóstico, sendo que os valores no choque séptico representaram possíveis mediadores de efeito.
2. A avaliação da RMIP demonstrou potencial em discriminar sobreviventes e não sobreviventes na sepse e choque séptico somente nas primeiras 24 horas do diagnóstico.
3. A RMIP parece influenciar positivamente nos níveis de lactato, de tal forma que pacientes com uma baixa RMIP, aparentemente, reduzem mais eficientemente os níveis quando comparado ao grupo de alta RMIP no contexto da HP nas primeiras 24 horas do diagnóstico.
4. Embora os neuropeptídeos possam ter um papel prognóstico na sepse, estes neuropeptídeos não parecem contribuir para a RMIP.

5. Nossos resultados, somados aos dados da literatura, suportam a utilização da RMIP para avaliação prognóstica na sepse e choque séptico.

## REFERÊNCIAS

- AIT-OUFELLA, H. et al. The endothelium : physiological functions and role in microcirculatory failure during severe sepsis. **Intensive Care Med**, v. 36, n. 8, p. 1286–98, 2010.
- AIT-OUFELLA, H. et al. Capillary refill time exploration during septic shock. **Intensive Care Medicine**, v. 40, n. 7, p. 958–964, 2014.
- AIT-OUFELLA H, BAKKER J. Understanding clinical signs of poor tissue perfusion during septic shock. **Intensive Care Med**, v. 42, p.2070–2072, 2016
- ALEGRIA L, et al. A hypoperfusion context may aid to interpret hyperlactatemia in sepsis-3 septic shock patients: a proof-of-concept study. **Ann Intensive Care**, v. 7, p.29, 2017
- ARDEN, W. A. et al. Elevations in circulating calcitonin gene-related peptide correlate with hemodynamic deterioration during endotoxic shock in pigs. **Circ Shock**, v. 42, n. 3, p. 147–53, 1994.
- ARNALICH, F. et al. Changes in plasma concentrations of vasoactive neuropeptides in patients with sepsis and septic shock. **Life Sci**, v. 56, n. 2, p. 75–81, 1995.
- ARNALICH, F. et al. Relationship between circulating levels of calcitonin gene-related peptide, nitric oxide metabolites and hemodynamic changes in human septic shock. **Regul Pept**, v. 65, n. 2, p. 115–121, 1996.
- ARNOLD, R. C. et al. Multicenter study of early lactate clearance as a determinant of survival in patients with presumed sepsis. **Shock**, v. 32, n. 1, p. 35–39, 2009.
- ASFAR, P. et al. High versus low blood-pressure target in septic shock. **N Eng J Med**, v. 370, n. 17, p. 1583–93, 2014.
- BARANAUSKAS, G.; NISTRÌ, A. Sensitization of pain pathways in the spinal cord: cellular mechanisms. **Prog Neurobiol**, v. 54, n. 3, p. 349–65, 1998.
- BECKER, L. et al. Endothelial dysfunction assessed by brachial artery ultrasound in severe sepsis and septic shock. **J Crit Care**, v. 27, n. 3, p. 316.e9–14, 2012.
- BEER, S. et al. Systemic neuropeptide levels as predictive indicators for lethal outcome in patients with postoperative sepsis. **Crit Care Med**, v. 30, n. 8, p. 1794–8, 2002.
- BERLIN, D. A.; BAKKER, J. Understanding venous return. **Intensive Care Med**, v. 40, n. 10, p. 1564–1566, 2014.
- BOYSEN SR, DORVAL P. Effects of rapid intravenous 100% L-isomer lactated Ringer's administration on plasma lactate concentrations in healthy dogs. **J Vet Emerg Crit Care**, v. 24, p.571–577, 2014.
- BRACCI-LAUDIERO, L. et al. NGF modulates CGRP synthesis in human B-lymphocytes: A possible anti-inflammatory action of NGF? **Neuroimmunol**, v. 123, n. 1–2, p. 58–65, 2002.

BRACHT, H.; HAFNER, S.; WEISS, M. Sepsis-Update: Definition und Epidemiologie [Sepsis Update: Definition and Epidemiology]. **Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther**, v. 54, n. 1, p. 10–20, 2019.

BRAIN, S. D.; COX, H. M. Neuropeptides and their receptors: Innovative science providing novel therapeutic targets. **Br J Pharmacol**, v. 147, n. SUPPL. 1, p. 202–211, 2006.

BRAIN, S. D.; GRANT, A. D. Vascular actions of calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin. **Physiol Rev**, v. 84, n. 3, p. 903–34, 2004.

BRUNAUER, A. et al. Changes in peripheral perfusion relate to visceral organ perfusion in early septic shock: A pilot study. **J Crit Care**, v. 35, p. 105–9, 2016.

BURGDORFF, A. M.; BUCHER, M.; SCHUMANN, J. Vasoplegia in patients with sepsis and septic shock: pathways and mechanisms. **J Int Med Res**, v. 46, n. 4, p. 1303–1310, 2018.

CARUCCI, J. A. et al. Calcitonin gene-related peptide decreases expression of HLA-DR and CD86 by human dendritic cells and dampens dendritic cell-driven T cell-proliferative responses via the type I calcitonin gene-related peptide receptor. **J Immunol**, v. 164, n. 7, p. 3494–9, 2000.

CASSERLY, B. et al. Lactate measurements in sepsis-induced tissue hypoperfusion: Results from the surviving sepsis campaign database. **Crit Care Med**, v. 43, n. 3, p. 567–73, 2015.

CATERINA, M. J. et al. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. **Nature**, v. 389, n. 6653, p. 816–24, 1997.

CECCONI, M. et al. Sepsis and septic shock. **Lancet**, v. 392, n. 10141, p. 75–87, 2018.

CHARLTON, M. et al. The microcirculation and its measurement in sepsis. **J Intensive Care Soc**, v. 18, n. 3, p. 221–227, 2017.

CHERTOFF, J. et al. Prognostic utility of plasma lactate measured between 28 and 48 h after initiation of early goal-directed therapy in the management of sepsis, severe sepsis, and septic shock. **J Intensive Care**, v. 4, p. 13, 2016.

COBERT, J. F.; SCHMIDT, E. Endothelial and microcirculatory function and dysfunction in sepsis. **Clin Chest Med**, v. 37, n. 2, p. 263–275, 2016.

CRACOWSKI, J. L. et al. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. **Trends Pharmacol Sci**, v. 27, n. 9, p. 503–8, 2006.

CRACOWSKI, J. L. et al. Involvement of cytochrome epoxygenase metabolites in cutaneous postocclusive hyperemia in humans. **J Appl Physiol**, v. 114, n. 2, p. 245–251, 2013.

CRACOWSKI, J. L.; LORENZO, S.; MINSON, C. T. Effects of local anaesthesia on subdermal needle insertion pain and subsequent tests of microvascular function in human. **Eur J Pharmacol**, v. 559, n. 2–3, p. 150–4, 2007.

CRACOWSKI, J. L.; ROUSTIT, M. Human Skin Microcirculation. **Compr Physiol**, v. 10, n. 3, p. 1105–1154, 2020.

DAVIS, J. S. et al. Sepsis-associated microvascular dysfunction measured by peripheral arterial tonometry : an observational study. **Crit Care**, v. 13, n. 5, p. R155, 2009.

DE BACKER, D. et al. Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 166, n. 1, p. 98–104, 2002.

DE BACKER, D. et al. Monitoring the microcirculation in the critically ill patient : current methods and future approaches. **Intensive Care Med**, v. 36, n. 11, p. 1813–25, 2010.

DE BACKER, D. et al. Microcirculatory alterations: potential mechanisms and implications for therapy. **Ann Intensive Care**, v. 1, n. 1, p. 27, 2011.

DE BACKER, D. et al. Microcirculatory alterations in patients with severe sepsis: Impact of time of assessment and relationship with outcome. **Crit Care Med**, v. 41, n. 3, p. 791–9, 2013.

DE BACKER, D. et al. Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. **Virulence**, v. 5, n. 1, p. 73–79, 2014.

DE MIRANDA, A. C. et al. Monitoring peripheral perfusion in sepsis associated acute kidney injury : Analysis of mortality. **PLoS ONE**, v. 15, n. 10, p. 1–14, 2020.

DE MIRANDA, A. C. et al. Oximetry-derived perfusion index for assessing ischemic reserve in sepsis and septic shock: a new bedside prognostic enrichment tool? **Mendeley data**, 2022.

DELANO, M. J.; WARD, P. A. The Immune System’s Role in Sepsis Progression, Resolution and Long-Term Outcome. **Immunol Rev**, v. 274, n. 1, p. 330–53, 2016.

DING, X. F. et al. Early goal-directed and lactate-guided therapy in adult patients with severe sepsis and septic shock : a meta-analysis of randomized controlled trials. **J Transl Med**, v. 16, n. 1, p. 331, 2018.

DOERSCHUG, K. C. et al. Impairments in microvascular reactivity are related to organ failure in human sepsis. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 293, n. 2, p. H1065-71, 2007.

DONNERER, J.; STEIN, C. Evidence for an Increase in the Release of CGRP from Sensory Nerves during Inflammation. **Ann N Y Acad Sci**, v. 657, p. 505–6, 1992.

DOUGLAS, I. S. et al. Fluid Response Evaluation in Sepsis Hypotension and Shock. **Chest**, v. 158, n. 4, p. 1431–1445, 2020.

DUFFY, R. A. Potential therapeutic targets for neurokinin-1 receptor antagonists. **Expert Opin Emerg Drugs**, v. 9, n. 1, p. 9–21, 2004.

DÜNSER, M. W. et al. Re-thinking resuscitation: Leaving blood pressure cosmetics behind and moving forward to permissive hypotension and a tissue perfusion-based approach. **Crit Care**, v. 17, n. 5, p. 326, 2013.

DUNZENDORFER, S. et al. Cutting Edge: Peripheral Neuropeptides Attract Immature and Arrest Mature Blood-Derived Dendritic Cells. **J Immunol**, v. 166, n. 4, p. 2167–72, 2001.

EVANS, L. et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. **Intensive Care Med**, v. 47, n. 11, p. 1181–1247, 2021.

FERNANDES, D.; ASSREUY, J. Nitric oxide and vascular reactivity in sepsis. **Shock**, v. 30, n. SUPPL. 1, p. 10–13, 2008.

FERNANDES, E. S.; FERNANDES, M. A.; KEEBLE, J. E. The functions of TRPA1 and TRPV1: moving away from sensory nerves. **Br J Pharmacol**, v. 166, n. 2, p. 510–21, 2012.

FLEISCHMANN-STRUZEK, C. et al. Incidence and mortality of hospital- and ICU-treated sepsis: results from an updated and expanded systematic review and meta-analysis. **Intensive Care Med**, v. 46, n. 8, p. 1552–1562, 2020.

FOX, F. E. et al. Calcitonin Gene-Related Peptide Inhibits Proliferation and Antigen Presentation by Hultlan Peripheral Blood Mononuclear Cells: Effects on B7, Interleukin 10, and Interleukin 12. **J Invest Dermatol.**, v. 108, n. 1, p. 43–8, 1997.

FUJII, T. et al. Effect of Vitamin C, Hydrocortisone, and Thiamine vs Hydrocortisone Alone on Time Alive and Free of Vasopressor Support Among Patients With Septic Shock: The VITAMINS Randomized Clinical Trial. **JAMA**, v. 323, n. 5, p. 423–431, 2020.

GADDAM, R. R. et al. Circulating levels of hydrogen sulfide and substance P in patients with sepsis. **J Infect**, v. 75, n. 4, p. 293–300, 2017.

GARCIA-ALVAREZ, M.; MARIK, P.; BELLOMO, R. Sepsis-associated hyperlactatemia. **Crit Care**, v. 18, n. 5, p. 503, 2014.

GEORGESCU, S. R. et al. Capsaicin: Friend or Foe in Skin Cancer and Other Related Malignancies? **Nutrients**, v. 9, n. 12, p. 1365, 2017.

GOTMAKER R, et al. Mortality is Greater in Septic Patients with Hyperlactatemia Than With Refractory Hypotension. **Shock**, v.48, n.3, p. 294-300, 2017.

GRANSTEIN, R. D. et al. Calcitonin Gene-Related Peptide: Key Regulator of Cutaneous Immunity. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 213, n. 3, p. 586–94, 2015.

GU, W. J.; ZHANG, Z.; BAKKER, J. Early lactate clearance-guided therapy in patients with sepsis: a meta-analysis with trial sequential analysis of randomized controlled trials. **Intensive Care Med**, v. 41, n. 10, p. 1862–3, 2015.

GUPTA, P. et al. Effects of menopausal status on circulating calcitonin gene-related peptide and adipokines: implications for insulin resistance and cardiovascular risks. **Climacteric**, v. 11, n. 5, p. 364–72, 2008.

GUPTA, S. et al. Culture-Negative Severe Sepsis: Nationwide Trends and Outcomes. **Chest**, v. 150, n. 6, p. 1251–1259, 2016.

HARZENETTER, M. D. et al. Negative regulation of TLR responses by the neuropeptide CGRP is mediated by the transcriptional repressor ICER. **J Immunol**, v. 179, n. 1, p. 607–15, 2007.

HAY, D. L.; POYNER, D. R. Calcitonin gene-related peptide, adrenomedullin and flushing. **Maturitas**, v. 64, n. 2, p. 104–8, 2009.

HE, H. W. et al. Value of peripheral perfusion index in the assessment of reactive hyperemia in septic patients. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**, v. 93, n. 41, p. 3265–8, 2013.

HELLMANN, M. et al. Prostanoids are not involved in postocclusive reactive hyperaemia in human skin. **Fundam Clin Pharmacol**, v. 29, n. 5, p. 510–6, 2015.

HERNÁNDEZ, G. et al. Effect of a Resuscitation Strategy Targeting Peripheral Perfusion Status vs Serum Lactate Levels on 28-Day Mortality among Patients with Septic Shock: The ANDROMEDA-SHOCK Randomized Clinical Trial. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, v. 321, n. 7, p. 654–664, 2019.

HERNANDEZ G., BELLOMO R., BAKKER J. The ten pitfalls of lactate clearance in sepsis. **Intensive Care Med**. v.45, n. 1, p. 82-85, 2019.

HODGES, G. J.; CHEUNG, S. S. The effect of repeated bouts of hyperaemia on sensory nerve-mediated cutaneous vasodilatation in humans. **Microvasc Res**, v. 119, p. 22–28, 2018.

HOLZMANN, B. Modulation of immune responses by the neuropeptide CGRP. **Amino Acids**, v. 45, n. 1, p. 1–7, 2013.

HOSOI, J. et al. Regulation of Langerhans cell function by nerves containing calcitonin gene-related peptide. **Nature**, v. 363, n. 6425, p. 159–63, 1993.

HOU, Q. et al. Keratinocyte Expression of CGRP $\beta$ : Implications for Neuropathic and Inflammatory Pain Mechanisms. **Pain**, v. 152, n. 9, p. 2036–2051, 2011.

HUANG, S. C.; KORLIPARA, V. L. Neurokinin-1 receptor antagonists: A comprehensive patent survey. **Expert Opin Ther Pat**, v. 20, n. 8, p. 1019–45, 2010.

HUCKABEE, W. E. Abnormal resting blood lactate\*.I. The significance of hyperlactatemia in hospitalized patients. **Am J Med**, v. 30, p. 840–8, 1961.

HUTTEMEIER, P. C.; RITTER, E. F.; BENVENISTE, H. Calcitonin gene-related peptide mediates hypotension and tachycardia in endotoxic rats. **Am J Physiol**, v. 265, n. 2 Pt 2, p. H767-9, 1993.

INCE, C. The microcirculation is the motor of sepsis. **Crit Care**, v. 9, n. Suppl 4 (Suppl 4), p. s13-9, 2005.

INCE, C. Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation. **Crit Care**, v. 19, n. Suppl 3, p. S8, 2015.

JANG, M. U. et al. Plasma and saliva levels of nerve growth factor and neuropeptides in chronic migraine patients. **Oral Dis**, v. 17, n. 2, p. 187–93, 2011.

JANSEN TC, VAN BOMMEL J, BAKKER J. Blood lactate monitoring in critically ill patients: a systematic health technology assessment. **Crit Care Med**, v.37, p.2827–2839, 2009.

JANSEN, T. C. et al. Early lactate-guided therapy in intensive care unit patients: A multicenter, open-label, randomized controlled trial. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 182, n. 6, p. 752–61, 2010.

JIANG, M. H. et al. Substance P induces M2-type macrophages after spinal cord injury. **NeuroReport**, v. 23, n. 13, p. 786–92, 2012.

JIANG, M. H. et al. Substance P reduces apoptotic cell death possibly by modulating the immune response at the early stage after spinal cord injury. **NeuroReport**, v. 24, n. 15, p. 846–51, 2013.

JOFFRE, J. et al. Endothelial Responses in Sepsis. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 202, n. 3, p. 361–370, 2020.

JOYCE, C. D. et al. Calcitonin gene-related peptide levels are elevated in patients with sepsis. **Surgery**, v. 108, n. 6, p. 1097–101, 1990.

KARLSSON, S. et al. Incidence, treatment, and outcome of severe sepsis in ICU-treated adults in Finland: The Finn sepsis study. **Intensive Care Med**, v. 33, n. 3, p. 435–443, 2007.

KAZUNE, S. et al. Endothelial function Impaired vascular reactivity in sepsis – a systematic review with meta-analysis. **Arch Med Sci Atheroscler Dis**, v. 4, p. e151–e161, 2019.

KNOTZER, H. et al. Oscillation frequency of skin microvascular blood flow is associated with mortality in critically ill patients. **Acta Anaesthesiol Scand**, v. 51, n. 6, p. 701–7, 2007.

KODJI, X.; AUBDOOL, A.; BRAIN, S. Evidence for physiological and pathological roles for sensory nerves in the microvasculature and skin. **Curr Res Transl Med**, v. 64, n. 4, p. 195–201, 2016.

KOLLER, A.; BAGI, Z. On the role of mechanosensitive mechanisms eliciting reactive hyperemia. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 283, n. 6, p. H2250-9, 2002.

KUBLI, S. et al. Endothelium-dependent vasodilation in the skin microcirculation of patients with septic shock. **Shock**, v. 19, n. 3, p. 274–80, 2003.

LARKIN, S. W.; WILLIAMS, T. J. Evidence for sensory nerve involvement in cutaneous reactive hyperemia in humans. **Circ. Res**, v. 73, n. 1, p. 147–54, 1993.

LARSSON, J. et al. Concentration of substance p, neurokinin a, calcitonin gene-related peptide, neuropeptide y and vasoactive intestinal polypeptide in synovial fluid from knee joints in patients suffering from rheumatoid arthritis. **Scand J Rheumatol**, v. 20, n. 5, p. 326–35, 1991.

LEE, C. W. C.; KORY, P. D.; ARNTFIELD, R. T. Development of a fluid resuscitation protocol using inferior vena cava and lung ultrasound. **Journal of Critical Care**, v. 31, n. 1, p. 96–100, 2016.

LELUBRE, C.; VINCENT, J. L. Mechanisms and treatment of organ failure in sepsis. **Nat Rev Nephrol**, v. 14, n. 7, p. 417–427, 2018.

LEVITT, D. G.; LEVITT, J. E.; LEVITT, M. D. Quantitative Assessment of Blood Lactate in

Shock : Measure of Hypoxia or Beneficial Energy Source. **Biomed Res Int**, v. 2020, p. 2608318, 2020.

LEVY, B. et al. Vascular hyporesponsiveness to vasopressors in septic shock: From bench to bedside. **Intensive Care Med**, v. 36, n. 12, p. 2019–29, 2010.

LIMA, A.; BAKKER, J. The peripheral perfusion index in reactive hyperemia in critically ill patients. **Crit Care**, v. 8, n. Suppl 1, p. P53, 2004.

LIMA, A.; BAKKER, J. Noninvasive monitoring of peripheral perfusion. **Intensive Care Med**, v. 31, n. 10, p. 1316–26, 2005.

LIMA, A.; BAKKER, J. Clinical monitoring of peripheral perfusion: There is more to learn. **Crit Care**, v. 18, n. 1, p. 113, 2014.

LINSCHIED, P. et al. Expression and secretion of procalcitonin and calcitonin gene-related peptide by adherent monocytes and by macrophage-activated adipocytes. **Crit Care Med**, v. 32, n. 8, p. 1715–21, 2004.

LORENTE, L. et al. Association between serum substance P levels and mortality in patients with severe sepsis. **J Crit Care**, v. 30, n. 5, p. 924–8, 2015.

LORENTE, L. et al. Sustained low serum substance P levels in non-surviving septic patients. **Int J Mol Sci**, v. 18, n. 7, p. 1531, 2017.

LORENZO, S.; MINSON, C. T. Human cutaneous reactive hyperaemia : role of BK Ca channels and sensory nerves. **J Physiol**, v. 585, n. Pt 1, p. 295–303, 2007.

LOTZ, M.; VAUGHAN, J. H.; CARSON, D. A. Effect of neuropeptides on production of inflammatory cytokines by human monocytes. **Science**, v. 24, n. 4870, p. 1218–21, 1988.

LUO, D. et al. Transient receptor potential vanilloid 1-mediated expression and secretion of endothelial cell-derived calcitonin gene-related peptide. **Regul Pept**, v. 150, n. 1–3, p. 66–72, 2008.

MACHADO, F. R. et al. The epidemiology of sepsis in Brazilian intensive care units (the Sepsis PREvalence Assessment Database, SPREAD): An observational study. **Lancet Infect Dis**, v. 17, n. 11, p. 1180–1189, 2017.

MAGGI, C. A. Tachykinins and calcitonin gene-related peptide (CGRP) as co-transmitters released from peripheral endings of sensory nerves. **Prog Neurobiol**, v. 45, n. 1, p. 1–98, 1995.

MAGGI, C. A. The effects of tachykinins on inflammatory and immune cells. **Regul Pept**, v. 70, n. 2–3, p. 75–90, 18 jun. 1997.

MALHEIRO, L. F. . et al. Reactive hyperemia correlates with the presence of sepsis and glycocalyx degradation in the intensive care unit : a prospective cohort study. **Rev Bras Ter Intensiva**, v. 32, n. 2, p. 363–373, 2020.

MARTIN, H.; OLANDER, B.; NORMAN, M. Reactive hyperemia and interleukin 6, interleukin

8, and tumor necrosis factor-alpha in the diagnosis of early-onset neonatal sepsis. **Pediatrics**, v. 180, n. 4, p. E61, 2001.

MASHAGHI, A. et al. Neuropeptide substance P and the immune response. **Cell Mol Life Sci**, v. 73, n. 22, p. 4249–4264, 2016.

MASSEY, M. J.; SHAPIRO, N. I. A guide to human in vivo microcirculatory flow image analysis. **Crit Care**, v. 20, p. 35, 2016.

MENEZES, I. A. C. et al. Perfusion index for assessing microvascular reactivity in septic shock after fluid resuscitation. **Rev Bras Ter Intensiva**, v. 30, n. 2, p. 135–143, 2018.

MENEZES, I. A. C. et al. Increase of Perfusion Index During Vascular Occlusion Test is Paradoxically Associated With Higher Mortality in Septic Shock After Fluid Resuscitation: A Prospective Study. **Shock**, v. 51, n. 5, p. 605–612, 2019.

MESSMER, A. S. et al. Fluid Overload and Mortality in Adult Critical Care Patients—A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies\*. **Crit Care Med**, v. 48, n. 12, p. 1862–1870, 2020.

NEIRA, R. A. Q.; HAMACHER, S.; JAPIASSU, A. M. Epidemiology of sepsis in Brazil: Incidence, lethality, costs, and other indicators for Brazilian Unified Health System hospitalizations from 2006 to 2015. **PLoS ONE**, v. 13, n. 4, p. e0195873, 2018.

NEVIERE, R. Sepsis syndromes in adults: Epidemiology, definitions, clinical presentation, diagnosis, and prognosis. **UpToDate**, 2019.

NEVIERE, R.; ROMANOVA, M. Pathophysiology of sepsis. **UpToDate**, v. 42, n. 4, p. 195–197, 2019.

NOHRIA, A. et al. Role of nitric oxide in the regulation of digital pulse volume amplitude in humans. **J Appl Physiol**, v. 101, n. 2, p. 545–8, 2006.

OSPINA-TASCON, G. et al. Effects of fluids on microvascular perfusion in patients with severe sepsis. **Intensive Care Medicine**, v. 36, n. 6, p. 949–955, 2010.

PAN, J. et al. Relative efficacy and safety of early lactate clearance-guided therapy resuscitation in patients with sepsis. **Medicine (Baltimore)**, v. 98, n. 8, p. e14453, 2019.

PARKER, M. M. et al. Serial cardiovascular variables in survivors and nonsurvivors of human septic shock: heart rate as an early predictor of prognosis. **Crit Care Med**, v. 15, n. 10, p. 923–9, 1987.

POOL, R.; GOMEZ, H.; KELLUM, J. A. Mechanisms of Organ Dysfunction in Sepsis. **Crit Care Clin**, v. 34, n. 1, p. 63–80, 2018.

PORTALUPPI, F. et al. Modulatory effect of the renin-angiotensin system on the plasma levels of calcitonin gene-related peptide in normal man. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 77, n. 3, p. 816–20, 1993.

- POTTECHER, J. et al. Both passive leg raising and intravascular volume expansion improve sublingual microcirculatory perfusion in severe sepsis and septic shock patients. **Intensive Care Medicine**, v. 36, n. 11, p. 1867–1874, 2010.
- REINHART, K. et al. Recognizing Sepsis as a Global Health Priority — A WHO Resolution. **N Engl J Med**, v. 377, n. 5, p. 414–417, 2017.
- RELLO, J. et al. Sepsis: A Review of Advances in Management. **Adv Ther**, v. 34, n. 11, p. 2393–2411, 2017.
- ROOSTERMAN, D. et al. Neuronal Control of Skin Function: The Skin as a Neuroimmunoendocrine Organ. **Physiol Rev**, v. 86, n. 4, p. 1309–79, 2006.
- ROSENBERRY, R.; NELSON, X. M. D. Reactive hyperemia: a review of methods, mechanisms, and considerations. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 318, n. 3, p. R605–R618, 2020.
- ROUSTIT, M.; CRACOWSKI, J. L. Non-invasive Assessment of Skin Microvascular Function in Humans: An Insight Into Methods. **Microcirculation**, v. 19, n. 1, p. 47–64, 2012.
- ROUSTIT, M.; CRACOWSKI, J. L. Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation. **Trends Pharmacol Sci**, v. 34, n. 7, p. 373–84, 2013.
- RUDD, K. E. et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. **Lancet**, v. 395, n. 10219, p. 200–211, 2020.
- RUSSELL, F. A. et al. Calcitonin gene-related peptide: physiology and pathophysiology. **Physiol Rev**, v. 94, n. 4, p. 1099–142, 2014.
- SAKR, Y. et al. Persistent-microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. **Crit Care Med**, v. 32, n. 9, p. 1825–31, 2004.
- SANTOS, D. M. D. et al. Associação entre perfusão periférica, microcirculação e mortalidade em sepse: uma revisão sistemática [Association between peripheral perfusion, microcirculation and mortality in sepsis: a systematic review]. **Braz J Anesthesiol.**, v. 69, n. 6, p. 605–621, 2019.
- SCHLERETH, T. et al. Interaction of calcitonin gene related peptide (CGRP) and substance P (SP) in human skin. **Neuropeptides**, v. 59, p. 57–62, 2016.
- SEVERINI, C. et al. The tachykinin peptide family. **Pharmacol**, v. 54, p. 285–322, 2002.
- SINGER, M. et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). **JAMA**, v. 315, n. 8, p. 801–10, 2016.
- SMILLIE, S. J.; BRAIN, S. D. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and its role in hypertension. **Neuropeptides**, v. 45, n. 2, p. 93–104, 2011.
- STANSKI, N. L.; WONG, H. R. Prognostic and predictive enrichment in sepsis. **Nat Rev Nephrol**, v. 16, n. 1, p. 20–31, 2020.

STEPHEN, A. H.; MONTOYA, R. L.; ALUISIO, A. R. Sepsis and Septic Shock in Low-and Middle-Income Countries. **Surg Infect (Larchmt)**, v. 21, n. 7, p. 571–578, 2020.

STEVENSON, J. C. et al. Increased concentration of circulating calcitonin gene related peptide during normal human pregnancy. **Br Med J (Clin Res Ed)**, v. 293, n. 6558, p. 1329–30, 1986.

SUETRONG, B.; WALLEY, K. R. Lactic acidosis in sepsis: It's Not All anaerobic: Implications for diagnosis and management. **Chest**, v. 149, n. 1, p. 252–61, 2016.

SUVAS, S. Role of Substance P Neuropeptide in Inflammation, Wound Healing, and Tissue Homeostasis. **J Immunol**, v. 199, n. 5, p. 1543–1552, 2017.

TAFNER, P. F. D. A. et al. Recent advances in bedside microcirculation assessment in critically ill patients. **Rev Bras Ter Intensiva**, v. 29, n. 2, p. 238–247, 2017.

TANG, Y. et al. Clinical predictors of adverse outcome in severe sepsis patients with lactate 2–4 mM admitted to the hospital. **QJM**, v. 108, n. 4, p. 279–87, 2015.

TRZECIAK, S. et al. Early microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: Relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival. **Ann Emerg Med**, v. 49, n. 1, p. 88–98, 98.e1–2, 2007.

VAN DER POLL, T. et al. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. **Nat Rev Immunol**, v. 17, n. 7, p. 407–420, 2017.

VERDRENGH, M.; TARKOWSKI, A. The impact of substance P signalling on the development of experimental staphylococcal sepsis and arthritis. **Scand J Immunol**, v. 67, n. 3, p. 253–9, 2008.

VINCENT, J. L. et al. International Study of the Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units. **JAMA**, v. 302, n. 21, p. 2323–9, 2009.

VINCENT, J. L.; BAKKER, J. Blood lactate levels in sepsis: in 8 questions. **Curr Opin Crit Care**, v. 27, n. 3, p. 298–302, 2021.

VRIENS, J.; APPENDINO, G.; NILIUS, B. Pharmacology of vanilloid transient receptor potential cation channels. **Mol Pharmacol**, v. 75, n. 6, p. 1262–79, 2009.

WEIDNER, C. et al. Acute Effects of Substance P and Calcitonin Gene-Related Peptide in Human Skin – A Microdialysis Study. **J Invest Dermatol**, v. 115, n. 6, p. 1015–20, 2000.

WEXLER, O. et al. Brachial artery reactivity in patients with severe sepsis : an observational study. **Crit Care**, v. 16, n. 2, p. R38, 2012.

WONG, B. J. et al. Nitric oxide synthase inhibition does not alter the reactive hyperemic response in the cutaneous circulation. **J Appl Physiol (1985)**, v. 95, n. 2, p. 504–10, 2003.

YAMAGUCHI, M. et al. Neuropeptides stimulate production of interleukin-1 beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in human dental pulp cells. **Inflamm Res**, v. 53, n. 5, p. 199–204, 2004.

YANG, S. et al. Substance P Mediates Reduced Pneumonia Rates After Traumatic Brain Injury. **Crit Care Med**, v. 42, n. 9, p. 2092–100, 2014.

## TERMO DE CONCENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você (participante), ou responsável pelo participante, está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa, coordenada por mim - Médico Igor Alexandre Côrtes de Menezes- do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, a participar do estudo intitulado "**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES E PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA RELACIONADOS À RESERVA MICROVASCULAR PERIFÉRICA DE PACIENTES COM SEPSE**". Esse estudo avaliará um dado numérico determinado por um aparelho chamado oxímetro de pulso e será anotado por 2 dias consecutivos em participantes acometidos por uma infecção associada a uma disfunção (mau-funcionamento) de órgãos.

A execução do teste será realizada pelos médicos: Ana Carolina de Miranda, Bruna Cassia Dal Vesco, Erika Fernanda Iannoni e Fernanda do Carmo De Stefani.

Para poder participar, é necessário que leia este documento com atenção. Ele pode conter palavras que você não entende. Por favor, peça ao pesquisador para explicar qualquer palavra ou procedimento que você não entenda claramente.

O propósito deste documento é dar a você as informações sobre a pesquisa e, se assinado, dará a sua permissão para participar no estudo. O documento descreve o objetivo, procedimentos, benefícios e eventuais riscos ou desconfortos caso queira participar. Você ou participante pelo qual é responsável, só deve fazer parte do estudo se quiser. Você pode se recusar a participar ou se retirar deste estudo a qualquer momento.

### INTRODUÇÃO:

A sepse (infecção que gera alteração da função de órgãos e sistemas) é uma das maiores causas de morte em Unidades de Terapia Intensiva gerando impactos na saúde individual e pública no mundo moderno.

Em vista de obter maior exatidão no acompanhamento e com isso, possivelmente melhorar o tratamento, novos métodos para avaliação e de resposta ao tratamento têm sido desenvolvidos.

O índice de perfusão derivado da oximetria de pulso é um método recentemente desenvolvido para avaliação em cuidados intensivos de pacientes gravemente doentes. O aparelho que vai ser utilizado nesse estudo (oximetria de pulso), que já é utilizado comumente para avaliar a quantidade de oxigênio no sangue, possui também um valor calculado que determina o índice de perfusão. Esse "índice" é uma forma de avaliar a quantidade de sangue que chegam nos dedos dos pacientes. Esse estudo usará esse aparelho para avaliar qual é a capacidade desses vasos sanguíneos aumentarem a quantidade de sangue após um "teste" usando um esfigmomanômetro (aparelho de medir pressão arterial). Esse teste é chamado "avaliação da reserva microvascular periférica".

Para realizar esse teste, o aparelho de pressão será "inflado" por 3 minutos no braço do paciente e tal teste já foi demonstrado ser seguro em sem riscos importantes, em estudos prévios.

Estudos prévios sugerem que este método possui potencial para avaliação e melhoria nos cuidados de pacientes com sepse

Serão coletadas também amostras de sangue (exame de sangue) para avaliar substâncias que possam explicar quais causas das alterações da reserva microvascular nos pacientes com sepse. A amostra de sangue quantificada em 5 ml, será coletada por acesso venoso no membro em que será realizado o teste. Antes do teste "avaliação da reserva microvascular periférica" e após a realização desse serão coletadas as amostras de sangue.

**OBJETIVO DO ESTUDO:** avaliar a viabilidade da avaliação da reserva microvascular como método de acompanhamento (monitorização) dos pacientes com sepse e quais possíveis substâncias envolvidas nas alterações dessa reserva.

### SELEÇÃO

Serão incluídos no estudo participantes com idade acima de 18 anos, de ambos os sexos internados pelo diagnóstico de sepse na Unidade de Terapia Intensiva do Hospital de Clínicas e Hospital Sugisawa, no município de Curitiba, estado do Paraná.

Serão excluídos do estudo: pacientes com choque devido às outras causas que não sepse, hepatopatia grave, coagulopatia grave, presença de sangramento ativo grave, endocardite infecciosa, insuficiência arterial periférica grave, esclerodermia, gravidez ou recusa em participar do estudo

Caso se senhor/a ou responsável legal pelo paciente aceite participar do estudo, os seguintes itens serão avaliados: Inicialmente será colocado um pequeno aparelho no dedo indicador da mão direita do participante (oxímetro de pulso). Será avaliado e anotado o valor do índice de perfusão por cerca de 05 minutos. Após esse período, um esfigmomanômetro (aparelho de medir pressão arterial) será inflado no braço por cerca de 03 minutos, com uma pressão 30 a 50 mmHg acima da Pressão arterial do participante. Esse período já foi avaliado em diversos estudos e

é considerado muito seguro, sem riscos importantes. Após esse tempo, o “cuff” do aparelho será esvaziado e o aparelho medirá os valores do índice de perfusão por 05 minutos para o cálculo da reserva microvascular. Esse teste será avaliado nas primeiras 24 e 48 horas da admissão do paciente na Unidade de Terapia Intensiva. No primeiro dia do estudo também será coletada amostra de sangue para a avaliação de substâncias que possam ajudar a entender as alterações desse exame. As amostras serão congeladas e guardadas até a medida das substâncias no laboratório. Após o fim do estudo, nenhuma amostra será guardada (todas serão utilizadas somente para este estudo). Essas amostras serão em torno de 10 ml de sangue (uma seringa meia cheia), quantidade de sangue considerada pequena e que não acarreta riscos importantes ao paciente.

O estudo pode oferecer desconfortos leves ao paciente, como parestesias no braço avaliado (formigamentos, coceiras, “incômodos” ou dores leves). Esses desconfortos são poucos comuns e acabam imediatamente após o teste. Porém em pacientes internados são muito reduzidos pelo fato de quase todos os pacientes estarem com medicações “analgésicas” pelo próprio tratamento da doença (remédios que tratam a dor).

O estudo **não oferece riscos** adicionais ao próprio risco da doença que acomete os pacientes (sepsis), já que nenhuma medicação ou medida terapêutica diferente da padronizada será acrescentada.

O **benefício** do estudo é a identificação de novos métodos de avaliação inicial e de resposta terapêutica aos tratamentos preconizados para tratamento de sepsis podendo contribuir para aumentar a chance de sobrevivência dos pacientes

Em virtude da necessidade de realização do teste de “avaliação da reserva microvascular periférica” ser necessária dentro das primeiras 24 horas após a ressuscitação hemodinâmica e levando em consideração o baixo risco, a segurança de realização evidenciada por diversos estudos além do provável benefício que o participante terá com a análise dos dados, essa coleta pode ser realizada antes da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Sendo posteriormente coletado a assinatura do paciente ou responsável legal para análise dos dados.

#### **PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA:**

Sua decisão em participar deste estudo é voluntária. Você pode decidir não participar no estudo. Uma vez que você decidiu participar do estudo, você pode retirar seu consentimento e participação a qualquer momento. Se você decidir não continuar no estudo e retirar sua participação, você não será punido ou perderá qualquer benefício ao qual você tem direito.

**CUSTOS:** Não haverá nenhum custo a você relacionado aos procedimentos previstos no estudo.

Os custos dos exames laboratoriais assim como dos aparelhos utilizados no estudo serão arcados com o pesquisador através de um financiamento do Ministério da Saúde.

**PAGAMENTO PELA PARTICIPAÇÃO:** Sua participação é voluntária portanto, você não será pago por sua participação neste estudo.

#### **PERMISSÃO PARA REVISÃO DE REGISTROS, CONFIDENCIALIDADE E ACESSO AOS REGISTROS:**

O Investigador responsável pelo estudo (médica Igor Alexandre Côrtes de Menezes) irá coletar informações sobre você. Em todos esses registros um código substituirá o nome do paciente. Todos os dados coletados serão mantidos de forma confidencial. Os dados coletados serão usados para a avaliação do estudo, membros das Autoridades de Saúde ou do Comitê de Ética, podem revisar os dados fornecidos. Os dados também podem ser usados em publicações científicas sobre o assunto pesquisado. Porém, a identidade do paciente não será revelada em qualquer circunstância, mantendo a confidencialidade.

Você tem direito de acesso aos seus dados. Você pode discutir esta questão mais adiante com seu médico do estudo. O material por meio de questionários será utilizado unicamente para essa pesquisa e será destruído/descartado (lixo reciclável do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná) ao término do estudo, dentro de 2 anos.

#### **CONTATO PARA PERGUNTAS**

Se você ou seus parentes tiver (em) alguma dúvida com relação ao estudo, direitos do paciente, ou no caso de danos relacionados ao estudo, você deve contatar o Investigador do estudo:

Professor Dr. Igor Alexandre Menezes-Fones: (41) 3360 79 11/ 79 35

Contato para emergência (041) 9 9186 9879

Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como um paciente de pesquisa, você pode contatar Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo telefone: 3360-1041. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos e não científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos.

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO DO PACIENTE:

Eu li e discuti com o investigador responsável pelo presente estudo os detalhes descritos neste documento. Entendo que eu sou livre para aceitar ou recusar, e que eu posso interromper minha participação a qualquer momento sem dar uma razão. Eu autorizo que os dados coletados para o estudo sejam usados para o propósito acima descrito

Eu entendi a informação apresentada neste termo de consentimento. Eu tive a oportunidade para fazer perguntas e todas as minhas perguntas foram respondidas.

Eu receberei uma cópia assinada e data da deste Documento de Consentimento Informado.

---

NOME DO PACIENTE OU

ASSINATURA

---

NOME DO RESPONSÁVEL LEGAL (Se paciente incapacitado)

ASSINATURA

---

NOME PESQUISADOR

ASSINATURA

**APÊNDICE A      PROTOCOLO DO ESTUDO**

**AVALIAÇÃO DA RESERVA MICROVASCULAR NA SEPSE**

(DIA 01 --- PRIMEIRAS 24 HORAS)

CÓDIGO DO PACIENTE: \_\_\_\_\_

DATA: \_\_\_\_\_

**DADOS BASAIS**

FC BASAL: \_\_\_\_\_ PAM: PVC: \_\_\_\_\_ Lactato arterial: \_\_\_\_\_

Medicações em uso: \_\_\_\_\_

Parâmetros ventilação mecânica: \_\_\_\_\_

Tempo (segundos): \_\_\_\_\_

0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300

**ESTADO VASCULAR PRÉ-OCCLUSÃO**

a) ENCHIMENTO CAPILAR 5 QUIRODÁCTILOS: \_\_\_\_\_

b) PULSO RADIAL \_\_\_\_\_

c) PULSO ULNAR \_\_\_\_\_

**\*\*\* OCLUSÃO ARTERIAL DE 3 MINUTOS \*\*\***

**IP APÓS DESINSUFLAÇÃO**

\*\* IP MÁXIMO (PICO IPP): \_\_\_\_\_

Tempo (segundos): \_\_\_\_\_

0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300

**ESTADO VASCULAR PÓS-OCCLUSÃO**

a) ENCHIMENTO CAPILAR 5 QUIRODÁCTILOS: \_\_\_\_\_

b) PULSO RADIAL \_\_\_\_\_

c) PULSO ULNAR \_\_\_\_\_

d) FC APÓS: \_\_\_\_\_

e) IP AUSENTE EM ALGUM DEDO APOS TESTE?? \_\_\_\_\_

**AVALIAÇÃO DA RESERVA MICROVASCULAR NA SEPSE**  
(DIA 02 --- ENTRE 24 E 48 HORAS)

CÓDIGO DO PACIENTE: \_\_\_\_\_  
DATA: \_\_\_\_\_

**DADOS BASAIS**

FC BASAL: \_\_\_\_\_ PAM: PVC: \_\_\_\_\_ Lactato arterial: \_\_\_\_\_  
Medicações em uso: \_\_\_\_\_

Parâmetros ventilação mecânica: \_\_\_\_\_

Tempo (segundos):

0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300

**ESTADO VASCULAR PRÉ-OCCLUSÃO**

- a) ENCHIMENTO CAPILAR 5 QUIRODÁCTILOS: \_\_\_\_\_  
b) PULSO RADIAL \_\_\_\_\_  
c) PULSO ULNAR \_\_\_\_\_

**\*\*\* OCCLUSÃO ARTERIAL DE 3 MINUTOS \*\*\***

**IP APÓS DESINSUFLAÇÃO**

\*\* IP MÁXIMO (PICO IPP): \_\_\_\_\_

Tempo (segundos):

0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300

**ESTADO VASCULAR PÓS-OCCLUSÃO**

- a) ENCHIMENTO CAPILAR 5 QUIRODÁCTILOS: \_\_\_\_\_  
b) PULSO RADIAL \_\_\_\_\_  
c) PULSO ULNAR \_\_\_\_\_  
d) FC APÓS: \_\_\_\_\_  
e) IP AUSENTE EM ALGUM DEDO APÓS TESTE?? \_\_\_\_\_

## AVALIAÇÃO DA RESERVA MICROVASCULAR NA SEPSE

Código do paciente: \_\_\_\_\_  
 Data: \_\_\_\_\_  
 Nome: \_\_\_\_\_  
 Idade: \_\_\_\_\_ sexo: \_\_\_\_\_  
 etnia: \_\_\_\_\_

Registro no HC: \_\_\_\_\_  
 Registro hospital Sugisawa: \_\_\_\_\_

Admissão na UTI: \_\_\_\_\_

Motivo da internação no CHC-UFPR:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Comorbidades

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Data início da sepse \_\_\_\_\_ Origem da sepse: \_\_\_\_\_  
 Etiologia da sepse \_\_\_\_\_  
 Peso estimado (kg) \_\_\_\_\_  
 Pcr (mg/dl) \_\_\_\_\_  
 Procalcitonina (mcg/l) \_\_\_\_\_

Escore Apache II:

Dados Admissão do paciente/ou dia do diagnóstico da sepse	
Temperatura	
PAM	
FC	
FR	
PaO <sub>2</sub> /Fio <sub>2</sub>	
Ph/HCO <sub>3</sub>	
Na	
K	
Cr	
VG	
Leucócitos	
Glasgow	
Idade	
<b>Problemas crônicos (1) Cirrose 2) Classe IV NIHA 3) DPOC severa ou hipertensão pulmonar 4) Em diálise regular ou 5) Imunodeprimido)</b>	
Total	

**Escore SOFA**

D1(Primeiras 24 horas do diagnóstico da sepse)		D2 (24-48 horas pós diagnóstico da sepse)	
Po2/Fio2		Po2/Fio2	
Plaquetas		Plaquetas	
PAM/DVA		PAM/DVA	
Bilirrubina		Bilirrubina	
GLASGOW		GLASGOW	
CREATININA/DU		CREATININA/DU	
TOTAL		TOTAL	

**STATUS APÓS RESUSCITAÇÃO HEMODINÂMICA (PRIMEIRAS 24 HORAS)**

DROGAS VASOATIVAS PÓS RESSUSCITAÇÃO HEMODINÂMICA D1 (mmol/L) (QUAL E DOSE)

\_\_\_\_\_

SATURAÇÃO VENOSA CENTRAL O<sub>2</sub> (%) PÓS RESSUSCITAÇÃO HEMODINÂMICA D1

\_\_\_\_\_

DÉBITO URINÁRIO PRIMEIRAS 24 HORAS (ml/kg/h)

\_\_\_\_\_

LACTATO SÉRICO ARTERIAL PÓS RESSUSCITAÇÃO HEMODINÂMICA D1 (mmol/L)

\_\_\_\_\_

LACTATO SÉRICO ARTERIAL D2 (mmol/L) \_\_\_\_\_

GAP CO<sub>2</sub> (mmHg) PÓS RESSUSCITAÇÃO HEMODINÂMICA D1

\_\_\_\_\_

## ANEXO A FONTES DE FINANCIAMENTO DA PESQUISA

Esse projeto teve financiamento aprovado pelo edital do CNPq (CHAMADA 15/2019) conforme descrito abaixo:		
<b>Material de consumo</b>		
<b>Item</b>	<b>Valor (R\$)</b>	<b>Justificativa</b>
Reagentes para Biologia Molecular (placas de PCR, adesivo óptico, ponteiras, microtubos, oligonucleotídeos, kits para extração de ácidos nucleicos, kits para coleta de amostras, kits para amplificação de ácidos nucleicos.	30.000,00	Materiais necessários para protocolos de avaliação de perfil de expressão gênica dos pacientes
Cateteres intra-arteriais descartáveis, uso único individual, para medida de débito cardíaco minimamente invasivo (método termodiluição; Volume View, Edwards)	30.000,00	Cateteres necessários para avaliação do desacoplamento entre a Micro-hemodinâmica e a Macro-hemodinâmica conforme metodologia .
Kits ELISA para dosagem de Substância P e CGRP	5.100,00	Dosagem dos marcadores em amostras de plasma dos pacientes.
Reagentes para análise de estresse oxidativo (anti-nitrotirosina, anti-S-nitrosocisteína, anticorpos secundários marcados, DAF-FM-Diacetate, Dihydroethidium, CM-H2DCFDA,	22.880,00	Material necessário para avaliação de estresse nitroso-oxidativo conforme metodologia apresentada.
Serviços de terceiros	5.000,00	Despesas com transporte de amostras do hospital para os laboratórios e taxas de publicação.
<b>Total</b>	<b>92.980,00</b>	
<b>Despesas acessórias decorrentes da importação de material de consumo</b>		
Despesas com importação	7.000,00	Importação de material não disponível em território nacional
<b>Total</b>	<b>7.000,00</b>	
<b>Bolsas</b>		
-	0,00	N.A.
<b>Passagens</b>		
-	0,00	N.A.
<b>Diárias</b>		
-	0,00	N.A.
<b>Total do projeto</b>	<b>99.980,00</b>	

FONTE: O autor (2021).