

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BRUNA CASSIA DAL VESCO

ASSOCIAÇÃO ENTRE DAMPs E HIPOPERFUSÃO PERIFÉRICA EM PACIENTES
SÉPTICOS

CURITIBA

2024

BRUNA CASSIA DAL VESCO

ASSOCIAÇÃO ENTRE DAMPs E HIPOPERFUSÃO PERIFÉRICA EM PACIENTES
SÉPTICOS

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Medicina Interna, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Igor Alexandre Côrtes de Menezes

CURITIBA

2024

D136 Dal Vesco, Bruna Cassia
Associação entre DAMPs e hipoperfusão periférica em
pacientes sépticos [recurso eletrônico] / Bruna Cassia Dal Vesco. –
Curitiba, 2024.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná,
Setor de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação
Medicina Interna e Ciências da Saúde, 2024.

Orientador: Igor Alexandre Côrtes de Menezes.
Bibliografia: p. 34-44.

1. Sepse. 2. Alarminas. 3. Proteína HMGB1. 4. Histonas. 5.
Índice de Perfusão. 6. Microcirculação. 7. Estudos de coortes. 8.
Unidades de Terapia Intensiva. 9. Mortalidade hospitalar. I.
Universidade Federal do Paraná. II. Menezes, Igor Alexandre
Côrtes de. III. Título.

NLMC: QZ 150

Catálogo na fonte elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da UFPR,
Biblioteca de Ciências da Saúde – SD, com os dados fornecidos pelo autor.
Bibliotecário: Francisco José Cordeiro CRB9/1734.

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 dissertação de Mestrado de **BRUNA CASSIA DAL VESCO**, intitulada: **ASSOCIAÇÃO ENTRE DAMPs E HIPOPERFUSÃO PERIFÉRICA EM PACIENTES SÉPTICOS**, 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 mestra 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, 10 de Fevereiro de 2025.

Assinatura Eletrônica

10/02/2025 16:09:33.0

IGOR ALEXANDRE CÔRTEZ DE MENEZES
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

12/03/2025 19:34:46.0

LUANA ALVES TANNOUS
Avaliador Externo

Assinatura Eletrônica

13/02/2025 16:49:16.0

LUCAS PINHEIRO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA)

Assinatura Eletrônica

13/02/2025 09:17:05.0

DALILA LUCIOLA ZANETTE
Avaliador Externo

RESUMO

Objetivos: Os mecanismos causais da hipoperfusão periférica na sepse não estão totalmente elucidados. Por isso, o objetivo do estudo foi verificar a possível associação entre os níveis plasmáticos de padrões moleculares associados a danos (DAMPs) e hipoperfusão periférica em pacientes sépticos. **Métodos:** Foi realizado um estudo de coorte histórico comparando a dosagem plasmática de DAMPs - histona H3, histona H4 e proteína *high-mobility group box-1* (HMGB1) – com os marcadores de hipoperfusão - índice de perfusão periférica (IP) e tempo de enchimento capilar (TEC) -, em pacientes admitidos em unidades de terapia intensiva de dois hospitais brasileiros, dentro das primeiras 24 horas do diagnóstico de sepse e após ressuscitação volêmica adequada. **Resultados:** 80 pacientes foram incluídos no estudo. Destes, aproximadamente metade apresentavam hipoperfusão periférica persistente medida com ao menos um dos métodos realizados. Os pacientes sobreviventes apresentaram melhores valores de TEC [2 (2 - 4) vs 4 (2 - 5), $p=0,01$] e do IP [1,9 (0,98 - 4,95) vs 0,52 (0,32 - 0,88) $p<0,001$] em comparação aos não sobreviventes. Nenhum dos DAMPs diferenciou sobreviventes de não sobreviventes. Adicionalmente, os DAMPs não apresentaram associação com a hipoperfusão medida com o IP (vs HMGB1, $p=0,13$; vs H3, $p=0,51$ e vs H4, $p=0,25$) e com o TEC (vs HMGB1, $p=0,29$; vs H3, $p=0,60$ e vs H4, $p=0,92$) **Conclusão:** Em pacientes sépticos avaliados em um país em desenvolvimento, não foi encontrada relação estatisticamente significativa entre os níveis de histonas H3, H4 e proteína HMGB1 com a hipoperfusão e a mortalidade.

Palavras-chave: sepse; DAMPs (padrões moleculares associados a danos); HMGB1 (proteína *high-mobility group box-1*); histonas; índice de perfusão; microcirculação.

ABSTRACT

Objectives: The causal mechanisms of peripheral hypoperfusion in sepsis have not yet been fully elucidated. Thus, our goal was to investigate if peripheral hypoperfusion in septic patients are associated with plasma levels of damage-associated molecular patterns (DAMPs). **Methods:** A retrospective cohort study was performed to compare the plasma levels of DAMPs - histone H3, histone H4, and high-mobility group box-1 protein (HMGB1) - with markers of microcirculatory hypoperfusion - the peripheral perfusion index (PI) and the capillary refill time (CRT) -, in patients admitted to the intensive care units of two Brazilian hospitals, within the first 24 hours of sepsis diagnosis and after receiving fluid resuscitation. **Results:** 80 patients were included in the study. About half of the patients showed persistent peripheral hypoperfusion as determined by one of the techniques used. Surviving patients had better CRT [2 (2 - 4) vs 4 (2 - 5), p=0.01] and PI [1.9 (0.98 - 4.95) vs 0.52 (0.32 - 0.88) p<0.001] compared to non-survivors. None of the DAMPs evaluated could distinguish between survivors and non-survivors. In addition, neither PI (vs HMGB1, p = 0.13; vs H3, p=0.51 and vs H4, p=0.25) nor CRT (vs HMGB1, p=0.29; vs H3, p=0.60 and vs H4, p=0.92) demonstrated any correlation with DAMPs. **Conclusion:** In septic patients evaluated in a developing country, no statistically significant association was found between the levels of histones H3, H4 and HMGB1 protein, tissue hypoperfusion and mortality.

Keywords: sepsis; alarmins; HMGB1 protein; histones; perfusion index; microcirculation.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 ASSOCIAÇÃO ENTRE HMGB1, HISTONA H3 E HISTONA H4 COM O IP..... 28

FIGURA 2 ASSOCIAÇÃO ENTRE HMGB1, HISTONA H3 E HISTONA H4 COM O TEC..... 29

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS E CLÍNICAS DOS PACIENTES.....	27
TABELA 2 DADOS PERFUSIONAIS.....	28
TABELA 3 ASSOCIAÇÃO ENTRE HMGB1, HISTONA H3 E HISTONA H4 COM A MORTALIDADE.....	29
TABELA 4 ASSOCIAÇÃO ENTRE OS DADOS PERFUSIONAIS E MORTALIDADE.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
DAMPs	Padrões moleculares associados a danos
PRRs	Receptores celulares de reconhecimento padrão
TEC	Tempo de enchimento capilar
IP	Índice de perfusão periférica
HMGB1	<i>High-mobility group box-1</i>
SOFA	<i>Sequential Sepsis-Related Organ Failure Assessment Score</i>
EPIC II	<i>The Extended Prevalence of Infection in the ICU Study: EPIC II</i>
IMPreSS	<i>International Multicentre Prevalence Study on Sepsis</i>
IL-2	Interleucina-2
IL-12	Interleucina-12
NETs	Armadilhas extracelulares de neutrófilos
IL-10	Interleucina 10
ATP	Adenosina trifosfato
RAGE	Receptor para produtos finais de glicação avançada
APACHE II	<i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II</i>
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS DO ESTUDO	10
2.1 OBJETIVO GERAL.....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3 REVISÃO DE LITERATURA	11
3.1 SEPSE E CHOQUE SÉPTICO	11
3.1.1 Definição.....	11
3.1.2 Epidemiologia	11
3.1.3 Fisiopatologia da Sepsis	12
3.2 PADRÕES MOLECULARES ASSOCIADOS A DANOS.....	14
3.2.1 Definição.....	14
3.2.2 DAMPs na sepsis	15
3.2.3 DAMPs e mortalidade na sepsis	16
3.3 MICROCIRCULAÇÃO	18
3.3.1 A coerência entre a macro e a microhemodinâmica	18
3.3.2 Os marcadores de perfusão tecidual.....	19
3.3.2.1 O lactato	20
3.3.2.2 O tempo de enchimento capilar.....	20
3.3.2.3 O índice de perfusão periférica.....	22
4 MÉTODOS	24
5 RESULTADOS	26
6 DISCUSSÃO	30
7 CONCLUSÃO	33
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

1 INTRODUÇÃO

Sepse é um diagnóstico comum nas unidades de terapia intensiva (1) e apesar do aperfeiçoamento na abordagem terapêutica nos últimos anos, é a maior causa de óbito em pacientes críticos (2). A taxa de mortalidade varia entre 20 e 30% mundialmente e é ainda maior na América do Sul e Central, sendo próxima a 50% (3). Por isso, há um grande interesse na elucidação dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na síndrome, a fim de transformá-los em resultados objetivos na beira do leito (4, 5).

Um fenômeno associado ao prognóstico na sepse é a perda da coerência entre a macro e a microcirculação: conceitualmente ocorre quando, apesar da normalização dos parâmetros macrohemodinâmicos (pressão arterial média, pressão venosa central e débito cardíaco, por exemplo), persistem distúrbios microcirculatórios que levam à má perfusão tecidual, ou seja, dificuldade na oferta de oxigênio aos tecidos (6-8). Estudos sugerem alguns eventos relacionados à falência microcirculatória, como a heterogeneidade no fluxo e alterações da reatividade vascular, disfunção endotelial, comprometimento da barreira do glicocálix e microtromboses (8-13). Entretanto, as evidências desses mecanismos em seres humanos são raras na literatura (14-16).

A monitorização da perfusão na fase de desacoplamento hemodinâmico pode ser realizada através de parâmetros que refletem a redução da oferta de oxigênio dependente do fluxo na microcirculação, como o lactato (17, 18), o tempo de enchimento capilar (TEC) (19, 20) e, mais recentemente, o índice de perfusão periférica (IP) (21, 22). Evidências demonstraram nítida relação do TEC e do IP com o prognóstico na sepse (19, 23, 24). Além disso, quando há hiperlactatemia persistente, um clássico marcador de prognóstico na sepse (18), o TEC discrimina o subgrupo com maior mortalidade (20, 25), assim como a reatividade microvascular avaliada com o IP (26).

Além da disfunção microcirculatória, o papel de mediadores bioativos que interferem na atividade imune tem sido muito discutido na fisiopatologia da sepse, pois eles estão envolvidos na resposta inflamatória desregulada à infecção, resultando na alta mortalidade (4, 27, 28). Alguns mediadores estão relacionados ao patógeno (padrões moleculares associados a patógenos - PAMPs) enquanto outros ao

hospedeiro (padrões moleculares associados a danos - DAMPs ou alarminas) (27, 29, 30). Os DAMPS são moléculas endógenas liberadas pelas próprias células imunes do hospedeiro por necrose, lesão ou estresse celular (27, 29, 30). Eles se ligam à receptores celulares gerando uma cascata de sinalização complexa para ativação do sistema imune inato, com o objetivo de eliminar o agressor, mas que também resulta em disfunção imune e inflamatória (4, 6, 27, 29-31). A ativação imunológica evidenciada na microcirculação pode potencializar as alterações de microrreatividade vascular, microtromboses e dano endotelial (32).

Por isso, compreendendo que os distúrbios microcirculatórios persistentes estão relacionados ao prognóstico na sepse, principalmente na fase de desacoplamento da macrocirculação; que os mecanismos causais dessas alterações são pouco evidenciados em estudos humanos, e que DAMPs se associam à desregulação imune e inflamatória e podem, teoricamente, prejudicar a microcirculação, o objetivo deste estudo foi verificar uma possível associação entre os níveis séricos de DAMPs e hipoperfusão nos pacientes sépticos.

2 OBJETIVOS DO ESTUDO

2.1 OBJETIVO GERAL

- Verificar a associação entre as histonas H3 e H4 e a proteína *high-mobility group box-1* (HMGB1) e perfusão periférica nos pacientes sépticos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever as características macro e microhemodinâmicas de pacientes sépticos em dois hospitais de diferentes perfis populacionais no sul do Brasil.
- Verificar os níveis séricos de três DAMPs específicos (histonas H3 e H4 e proteína *high-mobility group box-1* - HMGB1) em pacientes sépticos em dois hospitais de diferentes perfis populacionais no sul do Brasil.
- Avaliar a possível relação entre os DAMPs avaliados e o prognóstico na sepse.
- Avaliar a relação entre os parâmetros perfusionais e a mortalidade nos pacientes sépticos.
- Avaliar se existe relação entre os níveis plasmáticos de histonas H3 e H4 e proteína *high-mobility group box-1* (HMGB1) e hipoperfusão periférica (através da medida do índice de perfusão e do tempo de enchimento capilar) nos pacientes sépticos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 SEPSE E CHOQUE SÉPTICO

3.1.1 Definição

Sepse, conforme o Terceiro Consenso Internacional para Definição de Sepsis e Choque Séptico, é uma síndrome heterogênea caracterizada por uma resposta desregulada do hospedeiro à infecção, envolvendo variáveis bioquímicas, fisiológicas e patológicas que levam à ativação de mecanismos pro e anti-inflamatórios e, conseqüentemente, disfunção orgânica ameaçadora à vida (28).

A recomendação para identificação de disfunção orgânica é através da escala SOFA (*Sequential Sepsis-Related Organ Failure Assessment Score*) (28), que reflete a presença de disfunções em cinco sistemas do corpo: respiração, coagulação, hepático, cardiovascular, renal e sistema nervoso central (33). Uma pontuação de dois ou mais na escala SOFA na presença de infecção aumenta o risco de morte em aproximadamente 10% (34). Quando o acometimento do sistema circulatório é importante, com hipotensão persistente após reposição volêmica adequada, necessidade de vasopressores para manutenção de pressão arterial média maior ou igual a 65mmHg e presença de lactato maior que 2 mmol/L, caracteriza-se o choque séptico e a mortalidade nessa condição é relatada em 40% (28).

3.1.2 Epidemiologia

Devido à gravidade do quadro clínico, a sepsis é a maior causa de morbimortalidade nas unidades de terapia intensiva (UTIs) - dados apontam que a taxa de mortalidade relacionada à infecção chega à 60% -, e é responsável por 40% dos custos de saúde nas UTIs (35). Alguns estudos brasileiros demonstram prevalência e letalidade mais altas quando comparadas à literatura internacional (36).

O estudo transversal *EPIC II (The Extended Prevalence of Infection in the ICU Study: EPIC II)*, realizado mundialmente em maio de 2007, identificou que 51% dos pacientes internados nas UTIs possuíam algum tipo de infecção e, dentre estes, a taxa de mortalidade foi o dobro em relação aos pacientes não infectados (35). Ainda segundo o estudo, a incidência de infecção foi relacionada com o aumento da

gravidade de doenças e disfunção de órgãos (35). Entre os pacientes internados nas UTIs brasileiras, aproximadamente 62% apresentavam infecção, prevalência mais elevada do que na Europa ou na América do Norte (37).

Outro estudo global observacional e transversal publicado em 2015, conhecido como *IMPreSS Study (International Multicentre Prevalence Study on Sepsis)*, identificou uma taxa de mortalidade de 28% entre os pacientes sépticos, com atribuição de maior valor no Leste Europeu e na América do Sul (3). No Brasil, um estudo de prevalência realizado em 2014 em UTIs de todas as regiões do país, estimou uma incidência de sepse de 36,3 casos para 1000 pacientes-dia (38). Os pacientes sépticos possuíam uma idade média de 65,5 anos, escore *SOFA* de 8 e a maioria das infecções foram adquiridas no hospital, sendo o foco pulmonar o sítio mais comum, ocasionando o óbito de mais da metade desses pacientes (38).

3.1.3 Fisiopatologia da Sepse

A fisiopatologia da sepse envolve uma complexa interação entre o hospedeiro, o patógeno e o cenário clínico. Fatores como genética, idade, fragilidade e comorbidades do paciente, a virulência e a carga de patógeno, assim como a necessidade de cirurgias e procedimentos invasivos influenciam no desenvolvimento e no desfecho do quadro séptico (39-42).

A resposta inflamatória se inicia pela ativação do sistema inate com a liberação de moléculas do agressor chamadas padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs), que se ligam aos receptores de reconhecimento padrão (PRRs) expressos na superfície de células do sistema imune inato, como macrófagos, monócitos, granulócitos, células *natural killers* e células dendríticas (32, 43, 44). Isso desencadeará a liberação de citocinas inflamatórias, causando a chamada “tempestade de citocinas”, envolvendo tanto a resposta pró-inflamatória quanto anti-inflamatória (32, 43, 44). Concomitantemente, a resposta imune adaptativa, mais lenta e estimulada pelas células apresentadoras de antígeno, células dendríticas e linfócitos T e B, desenvolve anticorpos específicos contra o patógeno (32, 43, 44).

A tempestade de citocinas, caracterizada pela presença na circulação de espécies reativas de oxigênio, citocinas inflamatórias e endotoxinas bacterianas, lesa a barreira de permeabilidade vascular do endotélio, principalmente através do glicocálix, levando à perda da reatividade do tônus muscular liso, maior adesão e

sequestro de leucócitos e também à ativação do sistema de coagulação através da exposição do fator tecidual, formando trombozes na microvasculatura (42, 44). Adicionalmente, a enzima óxido nítrico sintetase está hiperestimulada na sepse e expressada de forma heterogênea nos leitos vasculares, resultando em alterações do fluxo microvascular, com heterogeneidade entre áreas bem perfundidas em detrimento de regiões hipoperfundidas (44, 45). A falência da microcirculação é um dos eventos mais críticos na fisiopatologia da sepse, pois compromete a oferta de oxigênio às células e está associada à disfunção múltipla de órgãos e alta mortalidade (45).

Paralelamente, como consequência da resposta pró-inflamatória hiperestimulada, algumas células da resposta imune sofrem morte celular (27, 32, 42). Isso acontece devido ao dano tecidual e à exaustão imune secundária à exposição prolongada ao antígeno, associada à alteração da diferenciação de células T de memória, principalmente linfócitos T CD4 que reduziram a produção e liberação de interleucinas-2 (IL-2), interleucinas-12 (IL-12) e *interferon-gama*, resultando na liberação de padrões moleculares associados ao dano (DAMPs) ou alarminas, que perpetuam a inflamação, agindo também como gatilho para ativação de mais inflamação através dos PRRs (27, 32, 42).

Além disso, outro mecanismo presente é a formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs), uma forma diferente de morte celular (30, 46). NETs são formações de cromatina, histonas e proteínas granulares que envolvem o patógeno e recrutam plaquetas, formando coágulos que encapsulam as bactérias na microvasculatura, mas que também facilitam a formação de mais trombos, o que dificulta ainda mais a perfusão orgânica e a oferta de oxigênio para as células (46, 47).

O oxigênio, por fim, também é pouco utilizado no meio intracelular devido à disfunção mitocondrial secundária às espécies reativas de oxigênio (42). Dessa forma, mesmo com fluxo preservado na microcirculação, as células podem ter dificuldades no uso de oxigênio para produção de energia, o que é chamado de hipóxia citopática (48).

Por outro lado, através de estímulo neuroendócrino, o sistema imune também age atenuando os efeitos prejudiciais da resposta pró-inflamatória, promovendo reparo tecidual e mudando o perfil de linfócitos T e de macrófagos, suprimindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias mediadas pela interleucina-10 (IL-10) e

estimulando a apoptose dessas células (41, 42). A resposta anti-inflamatória é a responsável pelas complicações tardias causadas pela imunossupressão, apoptose e disfunção múltipla de órgãos na maioria dos pacientes sépticos que sobrevivem por mais tempo, e também é a maior causa de óbito nessa população (42).

3.2 PADRÕES MOLECULARES ASSOCIADOS A DANOS

3.2.1 Definição

Durante aproximadamente 50 anos, a teoria que justificava o funcionamento do sistema imune contra patógenos era chamada de "*Self/nonself theory*" (49). A partir da identificação do patógeno, o sistema imune era ativado e capaz de diferenciar moléculas do patógeno de suas próprias moléculas (49). Porém, tal teoria não explicava porque o sistema imune agia contra certas células do próprio organismo - como nas doenças autoimunes -, porque não lutava contra a geração de uma nova vida durante a gestação ou contra células tumorais (50).

Para responder esses questionamentos, Polly Matzinger desenvolveu uma nova teoria, chamada "*Danger Model*", a qual propunha que o sistema imune inato, ao invés de identificar o que é estranho no organismo, identifica o que é perigoso, podendo ser ativado pelas próprias moléculas endógenas do corpo, funcionando como alarmes quando as células sofrem algum tipo de estresse (50). Tais moléculas são as alarminas ou DAMPs - padrões moleculares associados a danos.

As alarminas, uma vez liberadas para o meio extracelular após uma lesão tecidual ou estresse celular, atuam na sinalização celular ativando ou perpetuando a resposta imune, contribuindo para a liberação de citocinas inflamatórias, estado pró-coagulante e, conseqüentemente, mais lesão tecidual (30, 51-53).

Muitas são as condições que servem de gatilho para a liberação de alarminas, como trauma, câncer, pancreatite, após parada cardiorrespiratória e sepse - contexto em que elas foram mais estudadas até os dias atuais (29, 54). Qualquer mecanismo que cause uma grande agressão tecidual faz com que os DAMPs sejam liberados tanto por vias passivas, como na necrose celular, mas também de forma ativa pela célula, como na piroptose, ferroptose, exossomos, lisossomos e em armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs) (30, 55, 56).

Várias moléculas já foram identificadas exercendo o papel de DAMPs, desde metabólitos extracelulares, como o ácido úrico, assim como proteínas do núcleo celular, o próprio DNA nuclear e mitocondrial, e a adenosina trifosfato (ATP) (29, 51, 57). Em condições fisiológicas normais, a maioria dos DAMPs atuam como chaperonas no núcleo celular, como por exemplo a proteína *high-mobility group box-1* (HMGB1), as histonas, as proteínas do choque térmico e as proteínas do choque (29, 55, 58).

A HMGB1, uma chaperona no núcleo da célula, age na replicação do DNA, regulando e facilitando sua transcrição, reparando possíveis defeitos, realizando a manutenção dos telômeros e a formação dos nucleossomos (59, 60). Quando assume sua função de DAMP no meio extracelular, é uma citocina com papel central na sepse, ativando a resposta imune inata e propagando o estado pró-inflamatório (59-62). A molécula de HMGB1 é reconhecida por uma série de receptores celulares, como os receptores de reconhecimento padrão 2 e 4 e o receptor para produtos finais de glicação avançada (RAGE) (60, 62, 63).

As histonas, por sua vez, também são um grupo de proteínas ativas no núcleo celular, formando o nucleossomo, facilitando a compactação de cromatina e regulando a transcrição gênica (64-68). Em condições normais, elas estão presentes em concentrações muito pequenas no espaço extracelular (64-68). Porém, quando liberadas para fora das células, agem dependendo da ativação dos PRRs, ativando o complemento, alterando a permeabilidade da membrana celular e recrutando mais células imunes, além de induzirem a vacuolização endotelial, trombose vascular e a marginalização dos neutrófilos (69). A histona H3 citrulinada, por exemplo, tem papel crucial na ativação e modulação da formação de NETs (70).

3.2.2 DAMPs na sepse

Particularmente na sepse, os DAMPs estão envolvidos na resposta imune desregulada que leva à disfunção múltipla de órgãos e, por isso, este é o contexto mais explorado, apesar da escassez de estudos em humanos (27, 30).

No paciente séptico, os PAMPs ligam-se aos receptores de reconhecimento padrão dos macrófagos, o que leva à ativação do fator nuclear *NFκ-B* no citoplasma celular, estimulando a liberação de DAMPs no meio extracelular (30, 55). Esses DAMPs também ativam os PRRs de neutrófilos, agindo como gatilho para a formação

de armadilhas extracelulares de neutrófilos, com o objetivo de conter o avanço do patógeno, mas que também induzem maior liberação de DAMPs e, conseqüente, formação de NETs (30, 31, 55). Esse fato, de forma exacerbada, acarreta na criação de um estado hipercoagulante e em injúria tecidual, principalmente endotelial, contribuindo para a disfunção múltipla de órgãos (30, 31, 55).

Com o objetivo de atenuar a resposta imune, vários inibidores da ação dos DAMPs têm sido estudados, como enzimas, anticorpos e antagonistas, além da purificação sanguínea extracorpórea através de membranas de remoção de substâncias - sem alteração na mortalidade dos pacientes sépticos até o momento (5, 30, 55, 58, 71-73).

Uma terapia promissora é a inibição de uma via intracelular de liberação de HMGB1, através da inibição da ativação da caspase (74). Em macrófagos peritoneais de roedores, uma molécula de porfirina ligada à caspase no citoplasma de células estimuladas por lipopolissacarídeos inibiu a liberação de HMGB1 extracelular e levou à redução de mortalidade dos modelos murinos (74).

3.2.3 DAMPs e mortalidade na sepse

Sabe-se que pacientes em estado crítico apresentam maiores níveis de histonas e HMGB1 séricos circulantes do que pessoas saudáveis, assim como pacientes sépticos possuem maiores níveis de DAMPs circulantes do que pacientes críticos por outras causas (75-78). Porém, a relação dos DAMPs com o prognóstico da sepse ainda apresenta resultados discrepantes na literatura.

Em 2006, um estudo inglês envolveu 52 pacientes que foram submetidos à coleta de amostras de sangue na admissão da UTI, as quais foram avaliadas em relação à quantidade de DNA no plasma (75). Os pacientes com diagnóstico de sepse na admissão ou que desenvolveram a doença ao longo do internamento apresentaram níveis mais elevados de DNA plasmático, o qual também foi significativamente maior entre aqueles que morreram, indicando que tal DAMP possa ser um marcador prognóstico nos pacientes críticos (75).

Quanto à HMGB1, em 2005, um estudo prospectivo analisou a liberação desta alarmina ao longo do tempo em uma coorte pequena de pacientes sépticos, sugerindo que ela seja uma mediadora inflamatória tardia na sepse, já que seus níveis

permaneceram elevados uma semana após o início da doença, porém não foi encontrada relação com a severidade das disfunções orgânicas (79).

Um estudo francês publicado em 2007 (realizado a partir de amostras de sangue de 42 pacientes com choque séptico) também não demonstrou diferença estatisticamente significativa dos níveis de HMGB1 coletados no primeiro dia de sepse entre sobreviventes ou não sobreviventes, apesar de ter sido encontrada relação direta com a severidade das disfunções orgânicas avaliadas pelo escore *SOFA* (80). Nesse mesmo estudo, os níveis de HMGB1 apresentaram-se significativamente mais elevados a partir do terceiro dia de doença nos pacientes que foram a óbito, enquanto os sobreviventes possuíam níveis séricos progressivamente menores (80). Ainda em 2007, Angus *et al.* correlacionaram níveis mais altos de HMGB1 com a mortalidade em 79 pacientes com sepse (81).

Recentemente, níveis mais elevados de HMGB1 coletados dentro das primeiras 24 horas de admissão na UTI de pacientes em choque séptico tiveram relação estatisticamente significativa com maior pontuação no escore de gravidade *APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation)* e também com o prognóstico (82). A partir disso, foi desenvolvido e realizado um estudo experimental com um anticorpo policlonal ovino anti-HMGB1 para tratamento de ratos em choque séptico (induzido pela ligadura e punção do ceco), com redução da mortalidade desses animais quando receberam a injeção de anticorpos (82).

Em relação às histonas H4, quando comparados seus níveis no plasma de pacientes críticos com e sem diagnóstico de sepse, também há evidência de que a concentração extracelular é maior nos pacientes sépticos, incluindo quando estes foram comparados com pacientes com síndrome da disfunção múltipla de órgãos sem doença infecciosa - os indivíduos com sepse que foram a óbito apresentavam níveis significativamente mais elevados já no primeiro dia de avaliação (76). Isto foi corroborado por outro estudo, em que um grupo de 30 pacientes sépticos e com disfunção renal aguda, com mortalidade maior de 50%, também demonstrou maior nível de histonas nos pacientes que não sobreviveram (83).

Por fim, 160 indivíduos separados em três grupos (pacientes em choque séptico, pacientes com outros tipos de choque e voluntários saudáveis) foram avaliados quanto à concentração sérica de histonas H3 citrulinadas (77). Níveis maiores dessas histonas foram encontrados nos pacientes sépticos quando comparados aos outros dois grupos (77). Além disso, maiores níveis de tal DAMP

foram capazes de predizer pacientes com choque séptico, assim como níveis mais elevados estavam presentes nos pacientes que foram a óbito dentro de 90 dias, com uma correlação positiva quando analisada com o escore de disfunção orgânica *SOFA* (77). Tais resultados apontam que as histonas H3 citrulinadas podem ser um componente crucial na compreensão da fisiopatologia da sepse, assim como marcadores úteis de infecção sistêmica.

Por outro lado, a análise plasmática de uma amostra de pacientes com sepse e choque séptico demonstrou níveis mais altos de histonas nativas H3 circulantes nos pacientes que não sobreviveram, enquanto os níveis de histonas H3 citrulinadas se reduziram ao longo dos dias nos pacientes com choque séptico que não foram a óbito, sugerindo que as histonas citrulinadas não são responsáveis por dano tecidual, ao contrário das histonas nativas (84).

3.3 MICROCIRCULAÇÃO

3.3.1 A coerência entre a macro e a microhemodinâmica

No choque séptico, apesar na ênfase em identificar e iniciar o tratamento precocemente com o objetivo de reduzir a mortalidade (85), frequentemente encontram-se alterações da microcirculação na ausência de disfunções hemodinâmicas globais, o que é chamado de incoerência entre a macro e a microhemodinâmica do paciente (13, 86, 87). Essa persistência de injúria na microcirculação apesar da melhora nos parâmetros macrohemodinâmicos resulta em piores desfechos clínicos (6-8, 88).

Para manter a coerência hemodinâmica, é necessário que mecanismos hormonais, neurais e bioquímicos estejam intactos (87). Na prática médica, essa tentativa é feita através da administração de fluidos e agentes vasoativos que mantenham o fluxo sanguíneo (87). Porém, no choque, a garantia do fluxo macrohemodinâmico não é capaz de confirmar a restauração da microcirculação (9, 10, 12, 87,89, 90).

São descritos quatro tipos de alterações na microvasculatura secundárias ao desacoplamento circulatório: o tipo 1, marcado pela heterogeneidade da perfusão entre capilares e também na oxigenação celular, tipicamente encontrado na sepse (7, 8); o tipo 2, secundário à hemodiluição, que resulta em redução de hemácias

preenchendo leitos capilares e aumento da distância de difusão de oxigênio entre capilares e células (11); o tipo 3, causado por vasoconstrição secundária ao uso de drogas vasotivas ou tamponamento da microcirculação devido à elevada pressão venosa central, também visualizado em pacientes sépticos (91, 92), e o tipo 4, causado por extravasamento capilar e edema tecidual devido ao dano endotelial e degradação do glicocálix (81), já evidenciado na sepse (11, 93, 94).

3.3.2 Os marcadores de perfusão tecidual

Os marcadores de perfusão tecidual refletem a microcirculação - isto é, arteríolas, capilares e vênulas próximos às células -, cuja falência, através do dano no fluxo, heterogeneidade de perfusão, disfunção endotelial, lesão do glicocálix, microtomboses, alteração da reatividade vascular, entre outros mecanismos, está diretamente relacionada à fisiopatologia da sepse, alterando a oferta e extração de oxigênio pelos tecidos e conseqüentemente, envolvida na disfunção múltipla de órgãos e alta mortalidade (13, 86).

O lactato, utilizado classicamente como um indicador de hipóxia tecidual, é um importante marcador de severidade da doença e preditor de mortalidade (17), principalmente quando são analisadas suas alterações ao longo de um intervalo de tempo (18). Em 1996, Jan Bakker *et al.* compararam pacientes em choque séptico, demonstrando que os sobreviventes apresentavam lactato menor na admissão e redução mais expressiva da hiperlactatemia nas primeiras vinte e quatro horas de tratamento (17). Anos depois, um estudo realizado no departamento de emergência encontrou menor mortalidade nos pacientes sépticos que apresentavam ao menos 10% de redução nos níveis de lactato nas primeiras seis horas de tratamento, atribuindo esta melhora ao reestabelecimento da perfusão tecidual global (18).

Recentemente, o estudo mundialmente conhecido como *ANDROMEDA-SHOCK*, um ensaio clínico randomizado, controlado e multicêntrico, não demonstrou diferença significativa na mortalidade ao comparar dois grupos de pacientes em choque séptico a partir de parâmetros de perfusão - o primeiro com alvo terapêutico para normalização do nível de lactato e o segundo objetivando a redução do tempo de enchimento capilar para valores considerados normais (19). Posteriormente, a análise bayesiana do estudo verificou que a perfusão periférica normalizada, medida através do tempo de enchimento capilar, esteve associada a melhores desfechos,

sugerindo que este indicador de ressuscitação se relaciona à menor mortalidade quando comparado com o lactato (95).

Um marcador de perfusão periférica que reflete a microcirculação e que progressivamente vem sendo mais estudado é o índice de perfusão periférica (IP) (21, 22). Derivado da pletismografia contida em alguns aparelhos de oximetria de pulso, o IP reflete a perfusão local (21, 22, 96). A microcirculação da pele é a primeira prejudicada com o comprometimento circulatório (97), e portanto, o IP é uma opção de monitorização e avaliação da resposta ao tratamento do choque que, além de ser não invasiva, é simples e barata (21, 97). Nesse contexto, o índice de perfusão periférica também tem sido empregado na sepse (21-23, 96-98).

3.3.2.1 O lactato

Grande parte do lactato produzido no contexto de choque é devido à oferta inadequada de oxigênio aos tecidos (99). Sabe-se que a manutenção da hiperlactatemia associada ao aumento do tempo de enchimento capilar relaciona-se com o aumento da mortalidade (20, 25). Porém, na sepse, a formação do lactato não é totalmente revertida com a melhora da perfusão (99), e ele pode permanecer elevado mesmo após a normalização dos parâmetros hemodinâmicos básicos (99, 100).

Em pacientes sépticos moribundos, observações sugerem que o início do metabolismo anaeróbico é rapidamente seguido da morte, enquanto a hiperlactatemia pode persistir por tempo prolongado (101). Por isso, ela também pode ser explicada por outros fatores que não estão diretamente associados à redução da oferta de oxigênio na microcirculação (87, 102, 103). Ainda não está elucidado em que momento do choque esses mecanismos justificam a manutenção do lactato acima dos limites superiores da normalidade (104, 105) e a formação, o metabolismo e a remoção do lactato no paciente em sepse ainda geram muitas dúvidas (102).

3.3.2.2 O tempo de enchimento capilar

O tempo de enchimento capilar é um marcador de perfusão periférica tecidual que vem sendo utilizado para monitorizar estados de choque (97, 106), e,

principalmente no choque séptico, transformou-se em uma ferramenta para guiar a ressuscitação hemodinâmica (1). É uma forma barata e universalmente disponível, pois pode ser aplicada na beira do leito, porém não há uma técnica padronizada para realizar a sua medida (107).

Conceitualmente, o TEC mede, em segundos, o tempo necessário para que a pele retorne à cor habitual após aplicar uma pressão local, mais frequentemente na ponta do dedo (107). Vários fatores influenciam essa medida, desde o observador que está realizando a técnica, a temperatura e iluminação do local, até parâmetros do paciente, como a temperatura e cor da pele, idade e comorbidades (106).

No estudo *ANDROMEDA-SHOCK* (19), a medida do enchimento capilar foi feita de forma padronizada: uma lâmina de vidro para microscopia foi utilizada para comprimir a superfície ventral da falange distal do dedo indicador direito até torná-lo esbranquiçado, sendo mantida essa pressão por 10 segundos. Após, o tempo para a ponta do dedo retornar à coloração normal foi cronometrado. Um valor de corte de 3 segundos foi adotado como normal, e um TEC lentificado definido como maior que 3 segundos (19).

O TEC lentificado em pacientes sépticos está associado a maior mortalidade em diferentes estudos. No departamento de emergência, a manutenção do TEC prolongado após ressuscitação com fluidos foi relacionada à maior mortalidade (20), tendo sua melhor predição para o prognóstico quando medido após 6 horas do início da terapia com fluidos (108).

O estudo *ANDROMEDA-SHOCK* demonstrou que objetivar a normalização do TEC no contexto de choque séptico foi relacionada a menor incidência de disfunção de órgãos e tendência à menor mortalidade (19). Além disso, a análise *post hoc* a partir dos dados do estudo comparou a mortalidade entre dois grupos de pacientes a partir do TEC medido no início do estudo: um grupo com TEC normal e outro com TEC lentificado (109). A presença de TEC maior que 3 segundos no início do estudo foi uma variável independente para determinar mortalidade na análise univariada e também na multivariada, sendo que o lactato não foi capaz de distinguir pacientes que foram ou não a óbito no grupo com enchimento capilar normal (109).

3.3.2.3 O índice de perfusão periférica

O índice de perfusão (IP) é uma medida realizada a partir da pletismografia do oxímetro de pulso, o qual vem sendo utilizado como ferramenta de monitorização hemodinâmica indicando as condições da microcirculação (106). Ele é obtido através da razão entre a absorbância e reflexo fotoelétrico do sinal pulsátil e não pulsátil, o que envolve características hemodinâmicas periféricas (tônus vascular, dependente do sistema nervoso simpático) e determinantes centrais (volume sistólico e, indiretamente, pré-carga, pós-carga e contratilidade cardíaca), refletindo a perfusão local (21, 22, 96).

A pletismografia utiliza duas ondas de luz no oxímetro de pulso: a luz vermelha, absorvida pela desoxiemoglobina, e a luz infravermelha, absorvida pela oxihemoglobina (21, 110). Durante o ciclo cardíaco, a absorção de luz varia de acordo com o débito cardíaco, criando variações pulsáteis de absorção de luz nas arteríolas e anastomoses arteriovenosas cutâneas secundárias às variações de pressão arterial, o que é chamado de corrente alternante, ou seja, a luz infravermelha traduzida na curva do oxímetro (21, 110). Adicionalmente, também existe a corrente direta de absorção contínua, que é a luz não pulsátil absorvida de outros tecidos, como capilares, vasos não pulsáteis, pele, tecido subcutâneo, ossos (21, 110). O índice de perfusão é a razão entre a luz alternante (pulsátil) e a contínua, representando o volume de sangue local variando durante a sístole, o qual, por sua vez, depende do estado hemodinâmico sistêmico e periférico (21, 110). Dessa forma, o IP é capaz de informar o tônus vascular periférico através da pulsatilidade, diminuindo na vasoconstrição e aumentando na vasodilatação (111).

Em um estudo prospectivo que comparou o índice de perfusão de voluntários saudáveis com pacientes críticos, um valor abaixo de 1,4 obtido através da curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) foi capaz de refletir perfusão periférica anormal nos pacientes críticos, podendo ser utilizado para avaliar a resposta a intervenções nesses pacientes (112).

O IP foi associado como fator de risco independente para mortalidade após ressuscitação hemodinâmica adequada em uma publicação chinesa do ano de 2015, envolvendo 202 pacientes com sinais de hipoperfusão, com uma área sob a curva melhor que o lactato, mesmo com a melhora da saturação venosa central de oxigênio (113). Outro estudo mais recente também demonstrou que os pacientes com

diagnóstico de choque que foram a óbito apresentaram IP significativamente menor, incluindo aqueles com choque séptico (24).

Ainda, um estudo brasileiro evidenciou que pacientes com disfunção renal que apresentavam tempo de enchimento capilar prolongado e menor IP, indicando distúrbios de microcirculação, foram o grupo com maior mortalidade hospitalar em 28 dias entre pacientes sépticos (114).

Por fim, uma revisão sistemática que avaliou a relação entre a microcirculação, perfusão periférica e mortalidade, a qual envolveu 2645 pacientes sépticos, concluiu que 23 dos 26 artigos analisados evidenciaram associação estatisticamente significativa entre hipoperfusão periférica (incluindo o IP) e maior mortalidade na sepse (23).

4 MÉTODOS

Um estudo de coorte histórico foi realizado a partir de um banco de dados e amostras de sangue armazenadas e provenientes de um estudo precursor do nosso grupo,^(27,33,34) identificado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos sob o código RBR-35tv9ft, e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Complexo do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo parecer número 28824120.3.0000.0096.

Foram incluídos pacientes com idade acima de 18 anos, admitidos em três unidades de terapia intensiva de um hospital terciário e também de um hospital particular no sul do Brasil, durante os anos de 2021 e 2022. Os pacientes apresentavam sepse ou choque séptico dentro das primeiras 24 horas de diagnóstico e receberam ressuscitação hemodinâmica inicial conforme orientado pelas diretrizes internacionais (1, 3).

Os critérios de exclusão, conforme definido para realização do protocolo de estudo prévio, foram: hepatopatia grave (classificação *Child Pugh* classe C); coagulopatia grave (plaquetas < 20.000/mm³, tempo de tromboplastina parcial ativada > 70 segundos ou Relação Normatizada Internacional > 2); sangramento ativo grave (como acidente vascular encefálico hemorrágico e hemorragia digestiva alta); endocardite infecciosa; insuficiência arterial periférica grave, esclerodermia e gravidez.

Os pacientes ou representantes legais que aceitaram a participação no estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais foram coletados ao longo do internamento. Nas amostras disponíveis, foram realizadas medidas plasmáticas de três DAMPs - histona H3, histona H4 e proteína *high-mobility group box-1* (HMGB1) - com kits de ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA) seguindo as instruções do fabricante: *Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA* para a histona H3; *EpigenTEK, Farmingdale, NY, USA* para a histona H4 e *Elabscience, Houston, TX, USA*, para a HMGB1.

Para avaliação de hipoperfusão, foram registrados os valores de lactato, IP e TEC. O IP foi registrado através de um oxímetro de pulso (*Masimo Radical®*, *Masimo-Corp*, Estados Unidos e *Mindray*, China). O valor de corte definido como hipoperfusão

foi menor que 1,4 para o IP (24), maior que 3 segundos para o TEC (19) e lactato sérico maior que 2 mmol/L (28).

O desfecho primário foi definido como a associação entre HMGB1, histona H3 e histona H4 com os marcadores de perfusão periférica (TEC e IP). A relação entre os DAMPs e mortalidade, assim como a avaliação da relação entre mortalidade e as variáveis perfusionais, foram considerados os desfechos secundários. Em uma análise *a posteriori*, os pacientes foram separados em dois subgrupos, choque e sem choque, com o objetivo de verificar a associação entre perfusão periférica e DAMPs nesses dois subgrupos.

Como a pesquisa foi desenvolvida a partir de um banco de dados de um estudo prévio, não foi possível definir o cálculo amostral. A análise estatística foi realizada através do aplicativo *GraphPad Prism 10*. As variáveis categóricas foram descritas em frequências absolutas e relativas, e as variáveis quantitativas em média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil. O teste de *Shapiro-Wilk* foi utilizado para avaliação da normalidade das variáveis. Devido às variáveis independentes apresentarem distribuição não normal, os dados não-paramétricos foram descritos na forma de mediana e intervalo interquartil, e o teste estatístico utilizado para os grupos independentes foi o teste U de *Mann-Whitney*, com intervalo de confiança de 95% e nível de significância estatística de 5%.

5 RESULTADOS

Oitenta pacientes foram incluídos no estudo, de forma aleatória, conforme disponibilidade de amostra para análise e de kits ELISA. Metade dos pacientes incluídos eram mulheres, com média de idade de 61 anos. 75% dos pacientes possuíam alguma comorbidade conhecida, sendo que a mais frequente relatada foi a hipertensão arterial, seguida de diabetes mellitus. Os focos de infecção mais frequentes foram o abdominal e o pulmonar. As variáveis clínicas e epidemiológicas podem ser visualizadas na tabela 01.

A pontuação média e a mediana no escore de gravidade SOFA foi de 7 pontos, indicando pacientes com múltiplas disfunções orgânicas. Da mesma forma, o escore de avaliação de gravidade da doença nas primeiras 24 horas de internamento, APACHE II, apresentou uma média de 18 pontos (tabela 01), sugerindo mortalidade de aproximadamente 1/4 dos pacientes; no entanto, a mortalidade real na amostra foi de 37,5%. Um terço dos pacientes possuíam diagnóstico de choque séptico. Destes, 64% foram a óbito.

Avaliando parâmetros de perfusão, mais da metade dos pacientes possuíam hiperlactatemia persistente apesar de reposição volêmica adequada, 45% mantinham TEC prolongado e aproximadamente 50% apresentavam hipoperfusão medida com o IP (tabela 02). Um quarto dos pacientes apresentava todos os parâmetros sugestivos de hipoperfusão - hiperlactatemia, TEC prolongado e $IP < 1,4$ (tabela 02).

Não foi encontrada relação entre os DAMPs avaliados e o IP (figura 01) e o TEC (figura 02). Além disso, quando os pacientes foram divididos nos subgrupos choque e sem choque, também não foi encontrada diferença entre os DAMPs e as variáveis perfusionais (p valor > 0.05 em todas as análises).

Adicionalmente, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os níveis séricos de histonas H3, H4 e proteína HMGB1 e a mortalidade (tabela 03). Porém, todas as variáveis de perfusão apresentaram associação com a mortalidade (tabela 04).

Tabela 1 - Características epidemiológicas e clínicas dos pacientes

Características epidemiológicas e clínicas	n = 80
Sexo feminino, n (%)	40 (50%)
Idade, média±DP	61 ± 16,5
Comorbidades, n (%)	64 (80%)
Hipertensão Arterial	44 (55%)
Diabetes Mellitus	28 (35%)
Insuficiência Cardíaca	10 (12,5%)
Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica	7 (8,75%)
Foco de infecção, n (%)	
Abdominal	28 (35%)
Pulmonar	23 (28,75%)
Urinário	16 (20%)
Outros	13 (16,25%)
Escores de gravidade, média±DP	
Escore SOFA	7 ± 3
Escore APACHE II	18 ± 6
Variáveis Hemodinâmicas	
Pressão Arterial Média, mediana (AIQ), mmHg	81 (73 - 93)
Frequência Cardíaca, média ± DP, bpm	97 ± 21
Débito Urinário, mediana (AIQ), ml/kg/h*	0,41 (0,20 - 0,79)
Uso de Droga Vasoativa, n (%)	39 (48,75%)
Dosagem de Noradrenalina, mediana (AIQ), µg/kg/min**	0,25 (0,13 - 0,60)
Choque séptico, n (%)	25 (31,25%)
Mortalidade, n (%)	30 (37,5%)

DP - desvio-padrão; IIQ - intervalo interquartil; SOFA - *Sequential Organ Failure Assessment*; APACHE II - *Acute Physiology And Chronic Health Evaluation*. *Missing Data n = 76. **n = 39.

Tabela 2 - Dados Perfusionais

Hiperlactatemia persistente	
Sim	38 (47,5%)
Não	42 (52,5%)
TEC > 3 seg	
Sim	36 (45%)
Não	44 (55%)
IP < 1,4	
Sim	38 (49,35%)*
Não	39 (50,65%)*

Variáveis avaliadas após estabilização hemodinâmica e reposição volêmica adequada. Hiperlactatemia persistente foi considerada como dosagem de lactato acima de 2mmol/L e tempo de enchimento capilar prolongado maior que 3 segundos. Resultados em n (%). *Missing Data n total = 77.

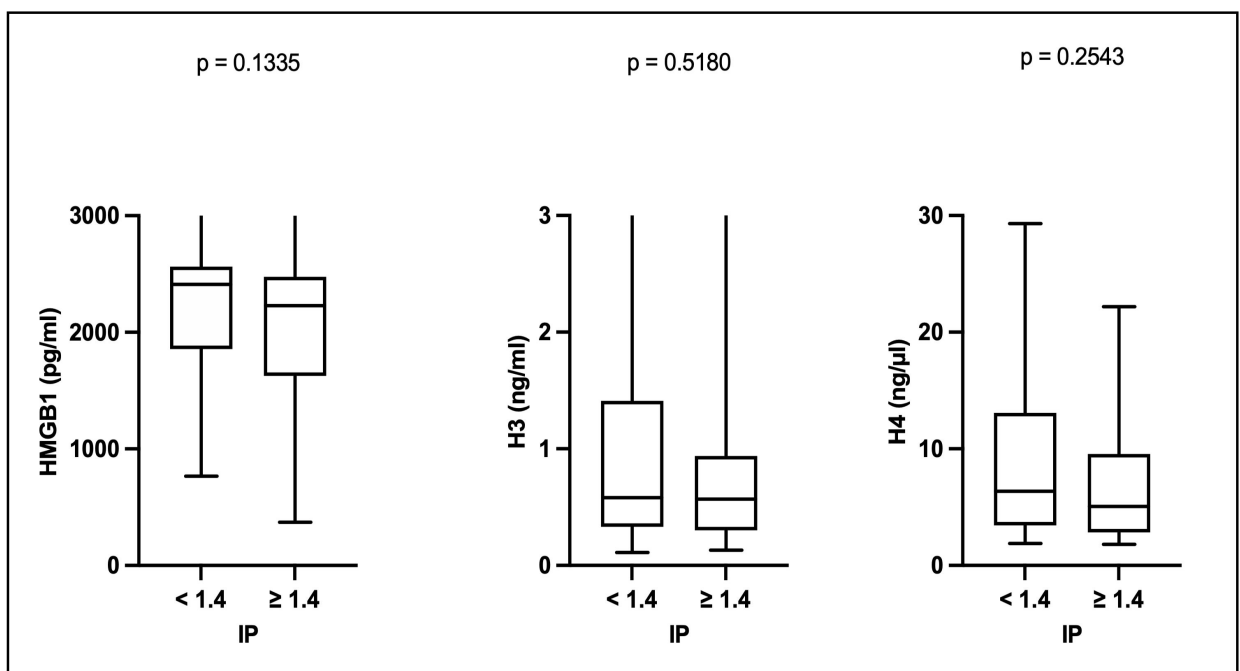


Figura 1 - Associação entre HMGB1, histona H3 e histona H4 com o IP.

HMGB1 - High Mobility Group Box-1; IP - índice de perfusão periférica. Valor de $p < 0,05$. *Missing data n total = 77.

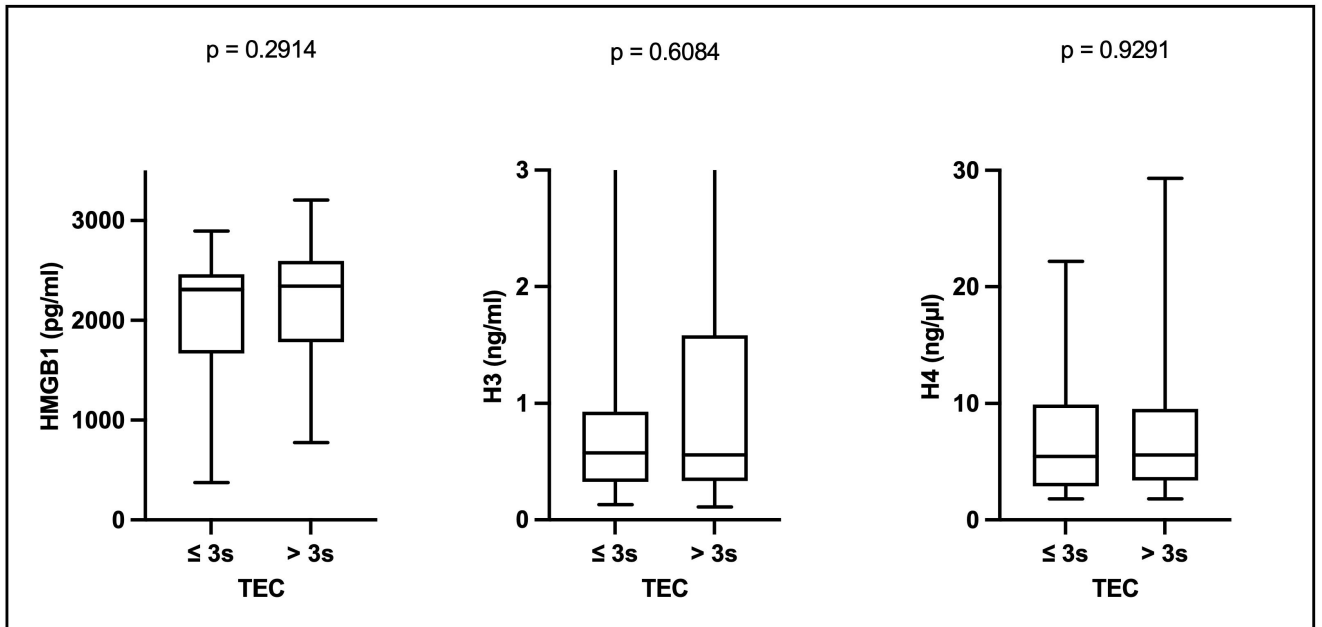


Figura 2 – Associação entre HMGB1, histona H3 e histona H4 com o TEC.

HMGB1: *high-mobility group box-1*; TEC: tempo de enchimento capilar. Valor de $p < 0,05$.

Tabela 3 - Associação entre HMGB1, histona H3 e histona H4 com mortalidade

	Sobreviventes (n = 50)	Não sobreviventes (n = 30)	Valor de p
HMGB1, pg/ml	2185 (1570 - 2530)	2377 (2124 - 2508)	0,08
Histona H3, ng/ml	0,58 (0,38 - 1,07)	0,54 (0,29 - 0,91)	0,44
Histona H4, ng/ μ l	4,67 (2,71 - 9,54)	6,88 (3,77 - 11,97)	0,08

Resultados expressos como mediana e intervalo interquartil. HMGB1: *high-mobility group box-1*. Valor de $p < 0,05$.

Tabela 4 - Associação entre os dados perfusionais e mortalidade

	Sobreviventes (n = 50)	Não sobreviventes (n = 30)	Valor de p
TEC, s	2 (2 - 4)	4 (2 - 5)	0,0124
IP*	1,90 (0,98 - 4,95)	0,52 (0,32 - 0,87)	<0,0001
Lactato, mmol/L	1,55 (1,23 - 2,52)	2,89 (1,69 - 4,44)	0,0009

Resultados expressos como mediana e intervalo interquartil. TEC - tempo de enchimento capilar. IP - índice de perfusão periférica. Valor de $p < 0.05$. *Missing Data: n sobreviventes = 49; n não sobreviventes = 28.

6 DISCUSSÃO

Alguns mecanismos têm sido propostos para explicar a falência microcirculatória na sepse, e muitos relacionam-se aos efeitos da cascata inflamatória e oxidativa sobre a reatividade microvascular (10, 13). Tais eventos também são associados à tempestade de citocinas e liberação de DAMPs (14, 32, 43, 44, 87). Entretanto, todas essas proposições foram feitas a partir de evidências experimentais em animais e com pouca corroboração em seres humanos até o momento (14-16, 38, 60, 72, 78). Nosso estudo foi o primeiro a analisar, em pacientes com sepse na fase de incoerência hemodinâmica, uma possível relação entre a presença de DAMPs e má perfusão tecidual. Porém, não encontramos qualquer associação entre a hipoperfusão periférica avaliada por dois métodos diferentes e os níveis de HMGB1, histona H3 e histona H4 no plasma.

Apesar de estabilizados hemodinamicamente, em nosso estudo, mais da metade dos pacientes apresentavam algum indicador de hipoperfusão periférica persistente, o que é consistente com o desacoplamento entre a macro e a microcirculação. Além disso, foi observado um índice de mortalidade maior entre os pacientes com hiperlactatemia e hipoperfusão periférica (avaliado pelo IP e pelo TEC), o que corrobora a relação já conhecida na literatura entre falência microcirculatória, disfunção múltipla de órgãos e prognóstico (7, 8, 20, 23-26).

Novas evidências têm demonstrado relação entre DAMPs com dano vascular em pacientes críticos, como na injúria por reperfusão (115), em queimaduras e no choque hemorrágico (116) e na injúria renal aguda (117). Porém, no estudo, os DAMPs avaliados não foram capazes de diferenciar entre pacientes sépticos com hipoperfusão e normoperfusão. Conseqüentemente, nossos achados podem apontar para um fato de importância clínica: os DAMPs podem induzir dano estrutural na sepse (desenvolvimento das disfunções orgânicas), mas a mortalidade deve ser determinada majoritariamente pelos efeitos microcirculatórios consequentes (hipoperfusão e hipóxia tecidual), independente da ativação imune. Essa hipótese é reforçada por outro biomarcador associado à resposta imune inata, a proteína C-reativa. Apesar de amplamente utilizada como marcador imune e inflamatório, correlacionando-se com níveis de interleucina-6 e ativação macrófágica, uma metanálise recente demonstrou ausência de valor prognóstico com a medida precoce de proteína C-reativa em pacientes sépticos (118). É importante ressaltar ainda que,

apesar de nosso trabalho ter estudado três importantes DAMPs conhecidos na literatura, não exclui a possibilidade de outros DAMPs, como a proteína de ligação ao RNA induzível à frio (CIRP), as proteínas do choque térmico ou a própria adenosina trifosfato (ATP), se relacionarem ao desenvolvimento de hipoperfusão periférica e redução da oferta de oxigênio tecidual. Novos estudos devem ser realizados para corroborar estas hipóteses.

Em seres humanos, os DAMPs já foram relacionados à severidade das disfunções orgânicas na sepse (77, 80, 82) e a sua relação com a mortalidade também é discutida (75, 76, 80, 81, 83, 84). Curiosamente, nossos resultados demonstraram resultados distintos da literatura, não verificando associação com o prognóstico. Em 2005, um estudo que avaliou a liberação de HMGB1 em uma coorte de pacientes sépticos, sugeriu que a HMGB1 é uma mediadora inflamatória tardia, já que seus níveis permaneceram elevados uma semana após o início da doença (79). Além disso, um estudo francês publicado em 2007, realizado em 42 pacientes com choque séptico, não demonstrou diferença significativa nos níveis de HMGB1 coletados na admissão entre sobreviventes ou não sobreviventes (80). Porém, os níveis da proteína apresentaram-se mais elevados a partir do terceiro dia de doença nos pacientes que foram a óbito (80). Da mesma forma, um estudo mais recente demonstrou não haver diferença nos níveis seriados de HMGB1 ao longo das primeiras 6 horas de admissão dos pacientes quando relacionados à mortalidade (119). Essas evidências podem explicar a ausência de associação prognóstica em nosso estudo, já que os níveis séricos de HMGB1 foram obtidos dentro das primeiras 24 horas de doença.

Quanto às histonas H3 e H4, os resultados também foram discrepantes da literatura, a qual demonstra uma relação prognóstica mais frequente, com acurácia moderada a boa (76, 83). Apesar disso, uma revisão recente demonstrou que não é possível confirmar nitidamente esta associação, pois existe uma diversidade de métodos utilizados para mensuração das histonas nos estudos, secundário à ausência de um padrão-ouro (65). Além disso, vale ressaltar que esforços para reduzir o viés de publicação têm atraído interesses na literatura, uma vez que este viés afeta a magnitude da evidência, reduzindo a precisão para o manejo clínico na beira do leito (120). Por isso, nosso resultado negativo pode contribuir futuramente para uma metanálise a fim de apontar a verdadeira acurácia prognóstica das histonas.

Outro aspecto de interesse relacionado aos resultados do estudo é o conceito de “enriquecimento” aplicado à sepse, advindo da medicina de precisão (121). Geralmente, o enriquecimento refere-se à seleção de um subgrupo de pacientes com maior probabilidade de responder a uma determinada terapia quando comparado com uma população não selecionada (121). Enquanto o enriquecimento prognóstico dá enfoque à maior chance de um desfecho duro (como a mortalidade), o enriquecimento preditivo prioriza subgrupos baseados no mesmo mecanismo fisiopatológico (imunossupressão, por exemplo) (121). Dessa maneira, nossos resultados apontam que em um eventual tratamento guiado por medidas de DAMPs, o enriquecimento deve ser preditivo e não prognóstico.

Nosso estudo possui algumas limitações. Primeiro, por ser um estudo realizado a partir de um banco de dados e com recursos limitados para o processamento dos DAMPs séricos, não foi possível calcular o tamanho da amostra para garantir o poder do estudo. Entretanto, nossos resultados sugerem que, caso ocorra uma eventual associação em uma amostra maior, o tamanho do efeito deve ter significado clínico de pouca relevância. Em segundo lugar, foi realizada uma única medida dos DAMPs em uma fase precoce da sepse, o que não exclui uma possível associação dos DAMPs com hipoperfusão periférica em um novo estudo seriado. Finalmente, nosso estudo recrutou pacientes advindos de hospitais de um país em desenvolvimento, fator que influencia o prognóstico da sepse (122) e por isso não é possível extrapolar os resultados para países com mais ou menos recursos, e novos estudos merecem ser realizados para testar essa hipótese.

7 CONCLUSÃO

Em pacientes sépticos avaliados em um país em desenvolvimento, não foi encontrada relação estatisticamente significativa entre os níveis de histonas H3, H4 e proteína HMGB1 com a hipoperfusão e a mortalidade.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. EVANS, L.; et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. **Critical Care Medicine**, v. 49, n. 11, e1063-e1143, 2021. DOI. 10.1097/CCM.0000000000005337.
2. FLEISCHMANN, C.; et al. International forum of acute care. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 193, p. 259–272, 2016. DOI. 10.1164/RCCM.201504-0781OC.
3. RHODES, A.; et al. The Surviving Sepsis Campaign bundles and outcome: results from the International Multicentre Prevalence Study on Sepsis (the IMPReSS study). *Intensive Care Med.* 2015;41(9):1620-8. DOI: 10.1007/S00134-015-3906-Y.
4. MURAO, A.; et al. Exosomes in Sepsis. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 2140, 2020. DOI. 10.3389/FIMMU.2020.02140.
5. CHENG, Z.; et al. The Critical Roles and Mechanisms of Immune Cell Death in Sepsis. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 1918, 2020. DOI. 10.3389/FIMMU.2020.01918.
6. SAUGEL, B.; et al. Hemodynamic management of septic shock: is it time for “individualized goal-directed hemodynamic therapy” and for specifically targeting the microcirculation? **Shock**, v.43, p. 522-529, 2015. DOI.10.1097/SHK.0000000000000345.
7. SAKR, Y.; et al. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. **Critical Care Medicine**, v. 32, p. 1825-1831, 2004. DOI. 10.1097/01.ccm.0000138558.16257.3f
8. DE BACKER, D.; et al. Microcirculatory alterations in patients with severe sepsis: impact of time of assessment and relationship with outcome. **Critical Care Medicine**, v. 41, p. 791-799, 2014. DOI. 10.1097/CCM.0b013e3182742e8b.
9. EDUL, V.S.K.; INCE, C.; DUBIN, A. What is microcirculatory shock? **Current Opinion in Critical Care**, v. 21, n. 3, p. 245-252, 2015. DOI. 10.1097/MCC.0000000000000196.
10. HE, H-W.; et al. Resuscitation incoherence and dynamic circulation-perfusion coupling in circulatory shock. **Chinese Medical Journal**, v. 132, n. 10, p. 1218-1227, 2019. DOI. 10.1097/CM9.0000000000000221.
11. INCE, C.; MIK, E.G. Microcirculatory and mitochondrial hypoxia in sepsis, shock and resuscitation. **Journal of Applied Physiology**, v. 120, n. 2, p. 226-235, 2016. DOI. 10.1152/jappphysiol.00298.2015.

- 12.MORELLI, A.; PASSARIELLO, M. Hemodynamic coherence in sepsis. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 30, n. 4, p. 453-463, 2016. DOI. 10.1016/j.bpa.2016.10.009.
- 13.MOK, G.; et al. Macrocirculatory and Microcirculatory Endpoints in Sepsis Resuscitation. **Journal of Intensive Care Medicine**, v. 36, n. 12, p. 1385-1391, 2021. DOI. 10.1177/0885066620982585.
- 14.DE BACKER, D.; et al. Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. **Virulence**, v. 5, n. 1, p. 73-79, 2014. DOI. 10.4161/viru.26482.
- 15.GUVEN, G.; HILTY, M.P.; INCE, C. Microcirculation: Physiology, Pathophysiology and Clinical Application. **Blood Purif**, v. 49, n. 1-2, p. 143-150, 2020. DOI. 10.1159/000503775.
- 16.TANG, A.L.; SHEN, M.J.; ZHANG, G.Q. Intestinal microcirculation dysfunction in sepsis: pathophysiology, clinical monitoring, and therapeutic interventions. **World J Emerg Med**, v. 13, n. 5, p. 343-348, 2022. DOI. 10.5847/wjem.j.1920-8642.2022.031.
- 17.BAKKER, J.; et al. Serial Blood Lactate Levels Can Predict the Development of Multiple Organ Failure Following Septic Shock. **The American Journal of Surgery**, v. 171, n. 2, p. 221-226, 1996. DOI. 10.1016/S0002-9610(97)89552-9.
- 18.NGUYEN, H.B.; et al. Early lactate clearance is associated with improved outcome in severe sepsis and septic shock. **Critical Care Medicine**, v. 32, n. 8, p. 1637-1642, 2004. DOI. 10.1097/01.CCM.0000132904.35713.A7.
- 19.HERNANDEZ, 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. **Journal of American Medical Association (JAMA)**, v. 321, n. 7, p. 654-664, 2019. DOI. 10.1001/jama.2019.0071.
- 20.LARA, B.; et al. Capillary refill time during fluid resuscitation in patients with sepsis-related hyperlactatemia at the emergency department is related to mortality. **PLoS ONE**, v. 12, n. 11e0188548, 2017. DOI. 10.1371/journal.pone.0188548.
- 21.COUTROT, M.; et al. Perfusion index: Physical principles, physiological meanings and clinical implications in anaesthesia and critical care. **Anaesthesia Critical Care & Pain Medicine**, v. 40, n. 6, 100964, 2021. DOI. 10.1016/j.accpm.2021.100964.
- 22.ELSHAL, M.M.; et al. Plethysmographic Peripheral Perfusion Index: Could It Be a New Vital Sign? **Frontiers in Medicine**, v. 8, 651909, 2021. DOI. 10.3389/fmed.2021.651909.
- 23.SANTOS, D.M.D.; et al. Association between peripheral perfusion, microcirculation and mortality in sepsis: a systematic review. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, v. 69, n. 6, p. 605-621, 2019. DOI. 10.1016/j.bjan.2019.09.007.

- 24.MONGKOLPUN, W.; et al. Alterations in Skin Blood Flow at the Fingertip Are Related to Mortality in Patients With Circulatory Shock. **Critical Care Medicine**, v. 48, n. 4, p. 443-450, 2020. DOI. 10.1097/CCM.0000000000004177.
- 25.ALEGRIA, L.; et al. A hypoperfusion context may aid to interpret hyperlactatemia in sepsis-3 septic shock patients: a proof-of-concept study. **Annals of Intensive Care**, v.7, n. 29, 2017. DOI. 10.1186/s13613-017-0253-x.
- 26.MIRANDA, A.C.; et al. Peripheral ischemic reserve in sepsis and septic shock as a new bedside prognostic enrichment tool: A Brazilian cohort study. *PLoS One*, v. 18, n. 7, e0288249, 2023. DOI. 10.1371/journal.pone.0288249.
- 27.BARICHELLO, T.; et al. Biomarkers for sepsis: more than just fever and leukocytosis - a narrative review. **Critical Care**, v. 26, n. 14, 2022. DOI. 10.1186/S13054-021-03862-5.
- 28.SINGER, M.; et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). **Journal of American Medical Association (JAMA)**, v. 315, n.8, p. 801-810, 2016. DOI. 10.1001/JAMA.2016.0287.
- 29.BIANCHI, M.E. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 81, n 1, p. 1-5, 2007. DOI. 10.1189/JLB.0306164.
- 30.DENNING, N.L.; et al. DAMPs and NETs in Sepsis. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 2536, 2019. DOI. 10.3389/FIMMU.2019.02536.
- 31.ZHOU, M.; AZIZ, M.; WANG, P. Damage-Associated Molecular Patterns As Double-Edged Swords in Sepsis. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 35, n. 15, p. 1308-1323, 2021. DOI. 10.1089/ars.2021.0008.
- 32.ARORA, J.; MENDELSON, A.A.; FOX-ROBICHAUD, A. Sepsis: network pathophysiology and implications for early diagnosis. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 324, n. 5, p. R613-R624, 2023. DOI. 10.1152/ajpregu.00003.2023.
- 33.VINCENT, J.L.; et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. **Intensive Care Medicine**, v. 22, n. 07, p. 707-710, 1996. DOI. 10.1007/BF01709751
- 34.SEYMOUR, C.W.; et al. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). **Journal of American Medical Association (JAMA)**, v. 315, n. 8, p. 762-774, 2016. DOI. 10.1001/jama.2016.0288.
- 35.VINCENT, J.L.; et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. **Journal of American Medical Association (JAMA)**, v. 2, n. 302(21), p. 2323-2329, 2009. DOI. 10.1001/JAMA.2009.1754.

- 36.LISBOA, T.; PÓVOA, P. Prevalência e desfechos das infecções nas UTIs brasileiras: mais uma peça no quebra-cabeça... **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 24, n. 2, p. 115-116, 2012.
- 37.SILVA, E.; et al. Prevalence and outcomes of infections in Brazilian ICUs: a subanalysis of EPIC II study. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 24, n. 2, p. 143-150, 2012.
- 38.MACHADO, F.R.; et al. The epidemiology of sepsis in Brazilian intensive care units (the Sepsis PREvalence Assessment Database, SPREAD): an observational study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n.11, p. 1180-1189, 2017. DOI. 10.1016/S1473-3099(17)30322-5.
- 39.WANG, W.; LIU, C.F. Sepsis heterogeneity. **World Journal of Pediatrics**, v. 19, n. 10, p. 919-927, 2023. DOI. 10.1007/s12519-023-00689-8.
- 40.PRESCOTT, H.C.; ANGUS, D. Enhancing recovery from sepsis - A review. **Journal of American Medical Association (JAMA)**, v. 319, n. 1, p. 62-75, 2018. DOI. 10.1001/jama.2017.17687.
- 41.GOTTS, J.E.; MATTHAY, M.A. Sepsis: pathophysiology and clinical management. **British Medical Journal (BMJ)**, 353, i1585, 2016. DOI. 10.1136/bmj.i1585.
- 42.ANGUS, D.C.; VAN DER POLL, T. Severe sepsis and septic shock. **New England Journal of Medicine (NEJM)**, v. 369, n.9, p. 840-851, 2013. DOI. 10.1056/NEJMra1208623.
- 43.SALOMÃO, R.; et al. Sepsis: evolving concepts and challenges. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 52, n. 4, e8595, 2019. DOI. 10.1590/1414-431X20198595.
- 44.LELUBRE, C.; VINCENT, J.L. Mechanisms and treatment of organ failure in sepsis. **Nature Reviews Nephrology**, v. 14, n. 7, p. 417-427, 2018. DOI. 10.1038/s41581-018-0005-7.
- 45.POOL, R.; GOMEZ, H.; KELLUM, J.A. Mechanisms of Organ Dysfunction in Sepsis. **Critical Care Clinics**, v. 34, n. 1, p. 63-80, 2018. DOI. 10.1016/j.ccc.2017.08.003.
- 46.ZHANG, H.; et al. Neutrophil, neutrophil extracellular traps and endothelial cell dysfunction in sepsis. **Clinical and Translational Medicine**, v. 13, n. 1, e1170, 2023. DOI. 10.1002/ctm2.1170.
- 47.LI, R.H.L.; TABLIN, F. A comparative review of neutrophil extracellular traps in sepsis. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 5, 291, 2018. DOI. 10.3389/fvets.2018.00291.
48. DONOSO-FUENTES, A.; ARRIAGADA-SANTIS, D. Síndrome de disfunción de órganos y adaptación mitocondrial en el paciente séptico. **Boletín Médico del**

Hospital Infantil de México, v. 78, n. 6, p. 597-611, 2021. DOI. 10.24875/BMHIM.20000323.

49.GONZALEZ, S.; et al. Conceptual aspects of self and non self discrimination. **Self/Nonself**, v. 2, n.1, p. 19-25, 2011. DOI. 10.4161/self.2.1.15094.

50.MATZINGER, P. The danger model: a renewed sense of self. **Science**, v. 296, n. 5566, p. 301-305, 2002. DOI. 10.1126/science.1071059.

51.SILK, E.; et al. The role of extracellular histone in organ injury. **Cell Death and Disease**, v. 8, e2812, 2017. DOI. 1038/cddis.2017.52.

52.TIMMERMANS, K.; et al. Danger in the Intensive Care Unit: DAMPs in Critically Ill Patients. **Shock**, v. 45, n. 2, p. 108-116, 2016. DOI. 10.197/SHK.0000000000000506.

53.PARLATO, M.; CAVAILLON, J.M. Host response biomarkers in the diagnosis of sepsis: a general overview. *Methods in Molecular Biology*, v. 1237, p. 149-211, 2015. DOI. 10.1007/978-1-4939-1776-1_15.

54.CHAN, J.K.; et al. Alarmins: awaiting a clinical response. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 8, p. 2711-2719, 2012. DOI. 10.1172/JCI62423.

55.NOFL, C.P.; WANG, P.; AZIZ, M. Chromatin-Associated Molecular Patterns (CAMPs) in Sepsis. **Cell Death & Disease**, v. 13, 700, 2022. DOI. 10.1038/s41419-022-05155-3.

56.MURAO, A.; et al. Release mechanisms of major DAMPs. **Apoptosis**, v. 26, p.152-162, 2021. DOI. 10.1007/s10495-021-01663-3.

57.PALAZÓN, A.; et al. Polly Matzinger's "danger model" finds its predicted danger-denoting self moieties. **Inmunología**, v. 27, n. 4, p. 205-211, 2008. DOI. 10.1016/S0213-9626(08)70068-4.

58.CICCHINELLI, S.; et al. PAMPs and DAMPs in Sepsis: A Review of Their Molecular Features and Potential Clinical Implications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 2: 962, 2024. DOI. 10.3390/ijms25020962.

59.LIANG, G.; HE, Z. High Mobility Group Proteins in Sepsis. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 911152, 2022. DOI. 10.3389/fimmu.2022.911152.

60.LI, L.; LU, Y-Q. The Regulatory Role of High-Mobility Group Protein 1 in Sepsis-Related Immunity. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 601815, 2021. DOI. 10.3389/fimmu.2020.601815.

61.DENG, M.; et al. Location is the key to function: HMGB1 in sepsis and trauma induced inflammation. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 106, n. 1, p. 161-169, 2019. DOI. 10.1002/JLB.3MIR1218-497R.

62. BAE, J-S. Role of High Mobility Group Box 1 in Inflammatory Disease: Focus on Sepsis. **Archives of Pharmacy Research**, v. 35, n. 9, p. 1511-1523, 2012. DOI. 10.1007/s12272-012-0901-5.
63. DIENER, K.R.; et al. The multifunctional alarmin HMGB1 with roles in the pathophysiology of sepsis and cancer. **Immunology and Cell Biology**, v. 91, p. 443-450, 2013. DOI. 10.1038/icb.2013.25.
64. LI, X.; et al. Histones: The critical players in innate immunity. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 1030610, 2022. DOI.10.3389/fimmu.2022.1030610.
65. LI, Y.; et al. Circulating Histones in Sepsis: Potential Outcome Predictors and Therapeutic Targets. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 650184, 2021. DOI. 10.3389/fimmu.2021.650184.
66. ZETOUNE, F.S.; WARD, P.A. Role of Complement and Histones in Sepsis. **Frontiers in Medicine**, v. 7, 616957, 2020. DOI. 10.3389/fmed.2020.616957.
67. CHENG, Z.; et al. Circulating Histones Are Major Mediators of Multiple Organ Dysfunction Syndrome in Acute Critical Illnesses. **Critical Care Medicine**, v. 47, n. 8, e677-e684, 2019. DOI. 10.1097/CCM.0000000000003839.
68. XU, Z.; et al. Sepsis and ARDS: The Dark Side of Histones. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, 205054, 2015. DOI. 10.1155/2015/205054.
69. ZHANG, X.; LI, X. The Role of Histones and Heparin in Sepsis: A Review. **Journal of Intensive Care Medicine**, v. 37, n. 3, p. 319-326, 2022. DOI.10.1177/0885066621992320.
70. NEELI, I.; RADIC, M. Knotting the NETs: Analyzing histone modifications in neutrophil extracellular traps. **Arthritis Research & Therapy**, v. 14, 115, 2012. DOI. 10.1186/ar3773.
71. LI, Y.; et al. Targeting circulating high mobility group box-1 and histones by extracorporeal blood purification as an immunomodulation strategy against critical illnesses. **Critical Care**, v. 27, 77, 2023. DOI. 10.1186/s13054-023-04382-0.
72. DENG, C.; et al. Targeting HMGB1 for the treatment of sepsis and sepsis-induced organ injury. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 43, p. 520-528, 2022. DOI. 10.1038/s41401-021-00676-7.
73. KAZUHIRO, M.; NISHIDA, O. Targeting Cytokines, Pathogen-Associated Molecular Patterns, and Damage-Associated Molecular Patterns in Sepsis via Blood Purification. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, 8882, 2021. DOI. 10.3390/ijms22168882.
74. WANG, X.; et al. A small molecule binding HMGB1 inhibits caspase-11-mediated lethality in sepsis. **Cell Death & Disease**, v. 12, 402, 2021. DOI. 10.1038/s41419-021-03652-5.

- 75.RHODES, A.; et al. Plasma DNA concentration as a predictor of mortality and sepsis in critically ill patients. **Critical Care**, v. 10, n. R60, 2006. DOI. 10.1186/CC4894.
- 76.EKANEY, M.L.; et al. Impact of plasma histones in human sepsis and their contribution to cellular injury and inflammation. **Critical Care**, v. 18, n. 5, 543, 2014. DOI. 10.1186/S13054-014-0543-8.
- 77.TIAN, Y.; et al. Serum citrullinated histone H3 concentrations differentiate patients with septic versus non-septic shock and correlate with disease severity. **Infection**, v. 49, n. 1, p. 83-93, 2021. DOI. 10.1007/S15010-020-01528-Y.
- 78.BELTRÁN-GARCIA, J.; et al. Comparative Analysis of Chromatin-Delivered Biomarkers in the Monitoring of Sepsis and Septic Shock: A Pilot Study. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, 9935, 2021. DOI. 10.3390/ijms22189935.
- 79.SUNDÉN-CULLBERG, J.; et al. Persistent elevation of high mobility group box-1 protein (HMGB1) in patients with severe sepsis and septic shock. **Critical Care Medicine**, v. 33, n. 3, p. 564-573, 2005. DOI. 10.1097/01.ccm.0000155991.88802.4d
- 80.GIBOT, S.; et al. High-mobility group box 1 protein plasma concentrations during septic shock. **Intensive Care Medicine**, v. 33, p. 1347–1353, 2007. DOI. 10.1007/s00134-007-0691-2.
- 81.ANGUS, D.C.; et al. Circulating high-mobility group box 1 (HMGB1) concentrations are elevated in both uncomplicated pneumonia and pneumonia with severe sepsis*. **Critical Care Medicine**, v. 35, n.4, p. 1061-1067, 2007. DOI: 10.1097/01.CCM.0000259534.68873.2A.
- 82.STEVENS, N.E.; et al. Therapeutic targeting of HMGB1 during experimental sepsis modulates the inflammatory cytokine profile to one associated with improved clinical outcomes. **Scientific Reports**, v. 7, 5850, 2017. DOI. 10.1038/s41598-017-06205-z.
- 83.EICHORN, T.; et al. Analysis of Inflammatory Mediator Profiles in Sepsis Patients Reveals That Extracellular Histones Are Strongly Elevated in Nonsurvivors. **Mediators of Inflammation**, v. 2021. DOI. 10.1155/2021/8395048.
- 84.OSCA-VERDEGAL, R.; et al. Histone Citrullination Mediates a Protective Role in Endothelium and Modulates Inflammation. **Cells**, v. 11, 4070, 2022. DOI. 10.3390/cells11244070.
- 85.LIMA, A.; et al. Nitroglycerin reverts clinical manifestations of poor peripheral perfusion in patients with circulatory shock. **Critical Care**, v. 18, R126, 2014. DOI. 10.1186/cc13932.
- 86.VINCENT, J.L.; TACCONE, F.S. Microvascular monitoring - Do 'global' markers help? **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 30, n.4, p. 399-405, 2016. DOI. 10.1016/j.bpa.2016.10.006.

87. INCE, C. Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation. **Critical Care**, v. 19, S8, 2015. DOI. 10.1186/cc14726.
88. HERNANDEZ, G.; TEBOUL, J.L. Is the macrocirculation really dissociated from the microcirculation in septic shock? **Intensive Care Medicine**, v. 42:1621-1624, 2016. DOI. 10.1007/s00134-016-4416-2.
89. BAKKER, J. Lactate and hemodynamic coherence in acute circulatory failure. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 30, n. 4, p. 523-530, 2016. DOI. 10.1016/j.bpa.2016.11.001.
90. KARA, A.; AKIN, S.; INCE, C. Monitoring microcirculation in critical illness. **Current Opinion in Critical Care**, v. 22, n. 5, p. 444-452, 2016. DOI. 10.1097/MCC.0000000000000335.
91. VELLINGA, N.A.R.; INCE, C.; BOERMA, C. Elevated central venous pressure is associated with impairment of microcirculatory blood flow in sepsis: a hypothesis generating post hoc analysis. **BMC Anesthesiology**, v. 13, 17, 2013. DOI. 10.1186/1471-2253-13-17.
92. DUBIN, A.; et al. Increasing arterial blood pressure with norepinephrine does not improve microcirculatory blood flow: a prospective study. **Critical Care**, v. 13, R92, 2009. DOI. 10.1186/cc7922.
93. SARAVI, B.; GOEBEL, U.; HASSENZAHN, L.O. Capillary leak and endothelial permeability in critically ill patients: a current overview. **Intensive Care Medicine Experimental**, v. 11, 96, 2023. DOI. 10.1186/s40635-023-00582-8.
94. UCHIMIDO, R.; SCHMIDT, E.P.; SHAPIRO, N.I. The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. **Critical Care**, v. 23, 16, 2019. DOI. 10.1186/s13054-018-2292-6.
95. ZAMPIERI, F.G.; et al. Effects of a Resuscitation Strategy Targeting Peripheral Perfusion Status versus Serum Lactate Levels among Patients with Septic Shock. A Bayesian Reanalysis of the ANDROMEDA-SHOCK Trial. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 201, n. 4, p.423-429, 2020. DOI. 10.1164/rccm.201905-0968OC.
96. HE, H.W.; et al. Effect of mean arterial pressure change by norepinephrine on peripheral perfusion index in septic shock patients after early resuscitation. **Chinese Medical Journal**, v. 133, n. 18, p. 2146-2152, 2020. DOI. 10.1097/CM9.0000000000001017.
97. BRUNAUER, A.; et al. Changes in peripheral perfusion relate to visceral organ perfusion in early septic shock: A pilot study. **Journal of Critical Care**, v. 35, p. 105-109, 2016. DOI. 10.1016/j.jcrc.2016.05.007.

- 98.MENEZES, I.A.C.; et al. Perfusion index for assessing microvascular reactivity in septic shock after fluid resuscitation. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 30, n. 2, p. 135-143, 2018. DOI. 10.5935/0103-507X.20180027.
- 99.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. 252-261, 2016. DOI. 10.1378/chest.15-1703.
- 100.GATTINONI, L.; et al. Understanding Lactatemia in Human Sepsis - Potential Impact for Early Management. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 200, n. 5, p. 582-589, 2019. DOI. 10.1164/rccm.201812-2342OC.
- 101.RONCO, J.J.; et al. Identification of the Critical Oxygen Delivery for Anaerobic Metabolism in Critically Ill Septic and Nonseptic Humans. **Journal of American Medical Association**, v. 270, n. 14, p. 1724-1730, 1993. DOI. 10.1001/jama.1993.03510140084034.
- 102.GARCIA-ALVAREZ, M.; MARIK, P.; BELLOMO, R. Sepsis-associated hyperlactatemia. **Critical Care**, v. 18, 503, 2014. DOI. 10.1186/s13054-014-0503-3.
- 103.PREAU, S.; et al. Energetic dysfunction in sepsis: a narrative review. **Annals of Intensive Care**, v. 11, 104, 2021. DOI. 10.1186/s13613-021-00893-7.
- 104.BAKKER, J.; POSTELNICU, R.; MUKHERJEE, V. Lactate: Where Are We Now? **Critical Care Clinics**, v. 36, n.1, p. 115-124, 2019. DOI. 10.1016/j.ccc.2019.08.009.
- 105.HERNANDEZ, G.; et al. When to stop septic shock resuscitation: clues from a dynamic perfusion monitoring. **Annals of Intensive Care**, v. 4, 30, 2014. DOI. 10.1186/s13613-014-0030-z.
- 106.HARIRI, G.; et al. Narrative review: clinical assessment of peripheral tissue perfusion in septic shock. **Annals of Intensive Care**, v. 9, n. 1, 37, 2019. DOI. 10.1186/s13613-019-0511-1.
- 107.HERNANDEZ, G.; CARMONA, P.; AIT-OUFELLA, H. Monitoring capillary refill time in septic shock. **Intensive Care Medicine**, v. 50, p. 580-582, 2024. DOI. 10.1007/s00134-024-07361-3.
- 108.AIT-OUFELLA, H.; et al. Capillary refill time exploration during septic shock. **Intensive Care Medicine**, v. 40, n.7, p. 958-964, 2014. DOI. 10.1007/s00134-014-3326-4.
- 109.HERNANDEZ, G.; et al. Capillary refill time status could identify different clinical phenotypes among septic shock patients fulfilling Sepsis-3 criteria: a post hoc analysis of ANDROMEDA-SHOCK trial. **Intensive Care Medicine**, v. 46, n.4, p. 816-818, 2020. DOI. 10.1007/s00134-020-05960-4.

- 110.KEIJZER, I.N.; et al. What is new in microcirculation and tissue oxygenation monitoring? *Journal of Clinical Monitoring and Computing*, v. 36, n.2, p. 291-299, 2022. DOI. 10.1007/s10877-022-00837-x.
- 111.HALES, J.R.; et al. Observations on a new non-invasive monitor of skin blood flow. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 16, n. 5, p. 403-415, 1989. DOI. 10.1111/j.1440-1681.1989.tb01578.x.
- 112.LIMA, A.P.; BEELNE, P.; BAKKER, J. Use of a peripheral perfusion index derived from the pulse oximetry signal as a noninvasive indicator of perfusion. **Critical Care Medicine**, v. 30, n. 6, p. 1210-1213. DOI. 10.1097/00003246-200206000-00006.
- 113.HE, H.; et al. Clinical classification of tissue perfusion based on the central venous oxygen saturation and the peripheral perfusion index. **Critical Care**, v. 19, n. 1, p. 330, 2015. DOI. 10.1186/s13054-015-1057-8.
- 114.MIRANDA, A.C.; et al. Monitoring peripheral perfusion in sepsis associated acute kidney injury: Analysis of mortality. **PLoS One**, v. 15, n. 10, e0239770, 2020. DOI. 10.1371/journal.pone.0239770.
- 115.SHAH, M.; et al. Extracellular histones are a target in myocardial ischaemia-reperfusion injury. **Cardiovascular Research**, v. 188, n. 4, p. 1115-1125, 2022. DOI. 10.1093/cvr/cvab139.
- 116.PANTALONE, D.; et al. The role of DAMPS in burns and hemorrhagic shock immune response: pathophysiology and clinical issues. Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 13, 7020, 2021. DOI. 10.3390/ijms22137020.
- 117.LUDES, PO.; et al. Role of damage-associated molecular patterns in septic acute kidney injury, From Injury to Recovery. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 606622, 2021. DOI. 10.3389/fimmu.2021.606622.
- 118.MOLANO-FRANCO, D.; et al. Basal procalcitonin, C-reactive protein, interleukin-6, and presepsin for prediction of mortality in critically ill septic patients: a systematic review and meta-analysis. **Diagnostic and Prognostic Research**, v. 7, n. 1, 15, 2023. DOI. 10.1186/s41512-023-00152-2.
- 119.MATSUURA, R.; et al. Different Biomarker Kinetics in Critically Ill Patients with High Lactate Levels. **Diagnostics (Basel)**, v. 10, n. 7, 454. 2020. DOI. 10.3390/diagnostics10070454.
- 120.MURAD, M.H.; et al. The effect of publication bias magnitude and direction on the certainty in evidence. **BMJ Evidence-Based Medicine**, v. 23, n. 3, p. 84-86, 2018. DOI. 10.1136/bmjebm-2018-110891.
- 121.STANSKI, N.L.; WONG, H.R. Prognostic and predictive enrichment in sepsis. **Nature Reviews Nephrology**, v. 16, n. 1, p. 20-31, 2020. DOI. 10.1038/s41581-019-0199-3.

122..STEPHEN, A.H.; MONTOYA, R.L.; ALUISIO, A.R. Sepsis and Septic Shock in Low- and Middle-Income Countries. **Surgical Infections (Larchmt)**, v. 21, n.7, p. 571-578, 2020. DOI. 10.1089/sur.2020.047.