




Ana Carolina de Miranda¹ , Fernanda do Carmo De Stefani² , Hipólito Carraro Júnior² , Alain Márcio Luy² , Luiz Eduardo Nunes Ferreira³ , Luis Gustavo Morello⁴ , Igor Alexandre Cortês de Menezes¹ 

1. Departamento de Medicina Interna, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná - Curitiba (PR), Brasil.
2. Unidade de Terapia Intensiva, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná - Curitiba (PR), Brasil.
3. Laboratório de Inflamação e Imunologia, Universidade de Guarulhos - São Paulo (SP), Brasil.
4. Fundação Oswaldo Cruz - Curitiba (PR), Brasil.

O valor prognóstico da reserva microvascular isquêmica periférica na sepse não está vinculado ao peptídeo relacionado ao gene da calcitonina ou à substância P

RESUMO

Objetivo: Avaliar possíveis mecanismos atribuídos ao valor prognóstico da reserva microvascular isquêmica periférica em pacientes com sepse.

Métodos: Este estudo de coorte observacional incluiu 46 pacientes consecutivos com sepse em uma unidade de terapia intensiva entre novembro de 2020 e outubro de 2021. Após a ressuscitação volêmica com fluidos, avaliou-se a reserva microvascular isquêmica periférica mediante a associação dos testes hiperemia reativa pós-oclusão e índice de perfusão periférica. Adicionalmente, amostras de sangue venoso periférico foram coletadas para avaliar os níveis dos neuropeptídeos

substância P e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina no membro superior do paciente antes e imediatamente após o teste de hiperemia reativa pós-oclusão.

Resultados: Não houve correlação estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre os valores basais ou variações dos níveis de neuropeptídeos e a reserva microvascular isquêmica periférica.

Conclusão: Embora o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina e a substância P possam desempenhar papel prognóstico na sepse, esses neuropeptídeos não parecem contribuir para a reserva microvascular isquêmica periférica.

Descritores: Sepse; Microcirculação; Isquemia; Hiperemia; Índice de perfusão; Neuropeptídeos

INTRODUÇÃO

A sepse caracteriza-se por uma resposta imunometabólica generalizada e desregulada do hospedeiro induzida por infecção, resultando em disfunções orgânicas potencialmente fatais.⁽¹⁾ Apesar dos avanços científicos em relação ao seu entendimento fisiopatológico e ao seu manejo clínico, essa síndrome afeta milhões de pacientes anualmente e persiste como uma condição crítica associada a altas taxas de mortalidade e morbidade a curto e longo prazo.⁽²⁾

Sob condições patológicas de sepse, distúrbios microcirculatorios persistentes, tais como a hiporresponsividade vascular e disfunções vasculares, têm sido associados à disfunção orgânica e a prognósticos desfavoráveis.⁽³⁾ Dessa forma, é necessário o desenvolvimento de métodos seguros e validados para avaliar a reatividade vascular na sepse à beira do leito. Descobertas recentes demonstraram o valor e a segurança da combinação dos métodos não invasivos índice de perfusão periférica (IPP) e teste de hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO), para avaliar a variação percentual do fluxo sanguíneo em resposta a uma hipóxia tecidual transitória.^(4,5) Desse modo, tal combinação (HRPO/IPP) apresentou potencial em estimar a reatividade microvascular e a reserva do tecido examinado no choque séptico.

Curiosamente, observou-se paradoxalmente, ao usar essa associação de testes (HRPO/IPP) em pacientes com choque séptico após a ressuscitação hemodinâmica com fluidos, que grande parcela dos não sobreviventes apresentavam-se com uma alta reserva microvascular isquêmica periférica (RMIP).⁽⁵⁾

Conflitos de interesse: Nenhum.

Submetido em 11 de março de 2022

Aceito em 30 de julho de 2022

Autor correspondente:

Ana Carolina de Miranda
Departamento de Medicina Interna, Hospital de Clínicas
Universidade Federal do Paraná
Rua General Carneiro, 181 - Alto da Glória
CEP: 80060-900 - Curitiba (PR), Brasil
E-mail: miranda.anacarolina@gmail.com

Editor responsável: Gilberto Friedman

DOI: 10.5935/0103-507X.20220102-pt



Entretanto, até o momento, não existem evidências claras na literatura elucidando esse achado inesperado da associação entre uma alta RMIP com um pior prognóstico na sepse e seus subtipos. Uma possível hipótese baseia-se no papel dos neuropeptídeos sensoriais do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP - *calcitonin gene-related peptide*) e da substância P (SP). Esses neuropeptídeos além de constituírem parte dos mecanismos responsáveis pela vasorregulação cutânea,⁽⁶⁾ interferem na modulação imunológica⁽⁶⁾ e apresentam valor prognóstico já evidenciado na sepse.⁽⁷⁻⁹⁾ Além disso, evidências experimentais sugerem enfaticamente o envolvimento dos nervos sensoriais cutâneos na resposta cutânea pós-isquêmica em indivíduos saudáveis.^(10,11) Nesse sentido, levantou-se a hipótese de que o aumento de neuropeptídeos após o teste HRPO/IPP poderia contribuir para aumentar a RMIP em pacientes mais graves e, concomitantemente, indicar uma desregulação imunológica mais significativa nesses pacientes resultando em um pior prognóstico. Dessa maneira, com intuito de responder a essa questão, a presente pesquisa investigou um subgrupo de um estudo de validação da associação dos testes HRPO/IPP como uma ferramenta para avaliação microvascular de pacientes com sepse.

MÉTODOS

Desenho, cenário e participantes do estudo

Este estudo de coorte observacional foi realizado em uma unidade de terapia intensiva (UTI) brasileira com 15 leitos, entre novembro de 2020 e outubro de 2021. Todos os participantes sobreviventes ou seus representantes legais assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, exceto no caso de morte do paciente, caso em que se renunciou a necessidade de tal assinatura. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos do Complexo Hospitalar de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (CHC-UFPR), em Curitiba (PR), protocolo 4.754.428/2020.

Foram considerados aptos para inclusão no estudo pacientes adultos (maiores de 18 anos) admitidos de forma consecutiva na UTI com diagnóstico de sepse ou pacientes admitidos previamente admitidos por outras causas em até 24 horas do início do quadro. Para minimizar potenciais fatores de confusão ou riscos de possíveis complicações hemorrágicas e isquêmicas dos métodos empregados, os critérios de exclusão foram gravidez, hepatopatia grave (classe C de Child-Pugh), coagulopatia grave (plaquetas $< 20.000/\text{mm}^3$, razão normalizada internacional - RNI $> 2,0$ ou tempo de tromboplastina parcial ativado - TTPa > 70 segundos), existência de sangramento ativo grave, endocardite infecciosa, avaliação de perfusão inacessível (hipotermia grave, síndrome de Raynaud e doença arterial oclusiva periférica) e recusa do paciente em participar do estudo.

Definições clínicas

De acordo com o consenso vigente sobre sepse de 2016, tal síndrome é identificada como a presença de uma infecção suspeita ou confirmada associada a uma mudança aguda de dois pontos ou mais no escore *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA).⁽¹⁾ O choque séptico consiste em um subgrupo de casos de sepse em que, apesar de ressuscitação volêmica adequada, os pacientes apresentam concentração elevada de lactato sérico $\geq 2\text{mmol/L}$ associada à hipotensão arterial, exigindo vasopressores para atingir a meta de pressão arterial média (PAM) acima de 65mmHg .⁽¹⁾

Protocolo do estudo

Todos os pacientes selecionados foram conduzidos seguindo as recomendações de uma instituição local adaptadas das diretrizes da Campanha Sobrevivendo à Sepse.⁽¹²⁾ O manejo começava assim que a sepse era perceptível. Primeiro, se houvesse grande probabilidade do diagnóstico da sepse, eram administrados antimicrobianos dentro da primeira hora de reconhecimento, após coleta de sangue e cultura de foco suspeito. Segundo, em casos de sinais de hipoperfusão ou choque séptico, eram administrados 30mL/kg de solução cristalóide balanceada durante as primeiras 3 horas do diagnóstico de sepse. Além disso, a critério médico assistente, se houvesse indicação clínica individual, a ressuscitação era mantida, até que houvesse falha de reação à elevação passiva das pernas (o valor de corte estabelecido foi um aumento de 13% no débito cardíaco para discriminar os respondedores à expansão volêmica) ou não houvesse variação respiratória do diâmetro da veia cava inferior (corte de 18%). Em caso de persistência de uma PAM abaixo de 65mmHg , era usado norepinefrina para obter $\text{PAM} \geq 65\text{mmHg}$. Em casos refratários, as drogas de escolha foram vasopressina com noradrenalina. As metas hemodinâmicas foram $\text{PAM} \geq 65\text{mmHg}$, débito urinário $> 0,5\text{mL/kg/hora}$ e saturação venosa central de oxigênio (ScvO_2) $> 70\%$.

A avaliação dos pacientes com sepse ocorreu dentro de 24 horas após ressuscitação hemodinâmica adequada, a qual foi estabelecida pela macro-hemodinâmica estável no final desse período. Os dados coletados durante o estudo incluíam características demográficas, histórico médico, fonte de infecção e comorbidades, e a pontuação nos escores de gravidade SOFA e *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II* (APACHE II). Adicionalmente, parâmetros hemodinâmicos (se disponíveis), níveis de neuropeptídeos e variáveis periféricas foram medidos entre 6 e 24 horas do diagnóstico de sepse. Além disso, com o intuito de evitar possíveis interferências no tratamento, os intensivistas foram cegados para as variáveis da RMIP. Por fim, os pacientes foram acompanhados durante 28 dias do diagnóstico de sepse ou alta hospitalar.

Avaliação da reserva microvascular isquêmica periférica

A RMIP foi avaliada usando a combinação dos testes IPP e HRPO. O IPP corresponde a um parâmetro derivado do sinal de pletismografia fotoelétrica da oximetria de pulso, obtido a partir de um cálculo da taxa de absorção luminosa entre os componentes pulsáteis (sangue arterial) e os não pulsáteis (sangue venoso, capilar, de outros tecidos e ossos) do leito ungueal, a partir da emissão de duas fontes com dois comprimentos de onda diferentes (660 e 940nm).⁽¹³⁾ Seu valor representa um indicador do tônus vasomotor periférico e da perfusão periférica.⁽¹⁴⁾ Essa variável foi medida por meio de oxímetro de pulso (Mindray, Shenzhen, China) após ressuscitação hemodinâmica adequada. Primeiro, após a estabilização do sinal, os valores do IPP foram registrados a cada 30 segundos, durante 5 minutos, e a média desses valores foi calculada para determinar o valor do IPP basal. Em seguida, realizou-se um teste de reatividade microvascular, chamado teste HRPO:⁽¹⁵⁾ o manguito de um esfigmomanômetro foi inflado ao redor do membro superior homolateral a 50mmHg acima da pressão sistólica durante 3 minutos. Após a deflação do manguito do esfigmomanômetro, os valores do IPP foram novamente registrados a cada 30 segundos por um período de 5 minutos sendo que, o valor mais alto correspondeu o IPP pico. A hiperemia reativa foi estabelecida por mudanças no fluxo sanguíneo verificadas usando os valores do IPP. Finalmente, a estimativa da variação máxima do fluxo sanguíneo em resposta à hipóxia tecidual (RMIP) foi estabelecida através da Δ IPP pico (%), calculada pela seguinte fórmula:

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

Avaliação dos níveis de neuropeptídeos

Dentro das primeiras 24 horas do diagnóstico da sepse, em torno de 5mL de sangue venoso periférico do antebraço dos pacientes incluídos no estudo foram coletadas antes e imediatamente o teste HRPO, para determinação das concentrações séricas dos neuropeptídeos CGRP e SP. As amostras foram depositadas em tubos de ensaio contendo ácido etilendiaminotetracético (EDTA) e posteriormente centrifugadas a 1.200 força centrífuga relativa (FCR) a 4°C durante 10 minutos. Aproximadamente 1mL de plasma foi congelado a -80°C. As amostras foram transportadas do CHC-UFPR para o Laboratório de Inflamação e Imunologia da Universidade de Guarulhos, em Guarulhos (SP), em caixas refrigeradas contendo gelo seco.

A presença dos neuropeptídeos SP e CGRP em amostras de sangue humano foi medida pelo ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA). A SP e o CGRP foram quantificados usando *Substance P Parameter Assay Kit* (R&D Systems, Minneapolis, MN, Estados Unidos) e *Human Calcitonin Gene-Related Peptide ELISA Kit* (MyBioSource, San Diego, CA, Estados Unidos), de acordo com as instruções do fabricante. Para determinar a concentração da SP foi utilizado o ELISA de ligação competitiva. Em resumo, foram adicionados 50µL 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 absorvância foi medida por meio de um leitor de microplaca fixado em 405nm de comprimento de onda, com correção do comprimento de onda fixado em 570nm. Dessa maneira, a concentração de SP foi estabelecida e expressa em pg/mL.

A análise do CGRP foi realizada utilizando a técnica ELISA sanduíche com duplo anticorpo. Em resumo, inicialmente 100µL das amostras foram adicionados em 96 poços e incubados com anticorpo monoclonal CGRP durante 90 minutos. Subsequentemente, as placas foram lavadas, e 100µL 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 630nm). 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.

A variação nos níveis de neuropeptídeos em resposta à hipóxia tecidual transitória foi estabelecida usando as fórmulas a seguir:

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

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

A temperatura ambiente à beira do leito foi controlada a 22°C. O procedimento médico foi feito em decúbito dorsal e realizado no membro superior sem um cateter intra-arterial para medição da PAM.

Desfechos

O desfecho primário foi a correlação entre a RMIP (Δ IPP pico, %) e a variação dos níveis de neuropeptídeos CGRP e SP (Δ dos níveis de neuropeptídeos, %) nas primeiras 24 horas do diagnóstico de sepse após a ressuscitação hemodinâmica. Os desfechos secundários incluíram a correlação entre os níveis basais dos neuropeptídeos (CGRP e a SP) com os valores basais do IPP; a correlação entre os níveis basais dos neuropeptídeos CGRP e a SP com os valores da RMIP (Δ IPP pico, %); e a correlação entre os níveis séricos de lactato com os níveis venosos basais dos neuropeptídeos CGRP e a SP.

Abordagem analítica

O teste Shapiro-Wilk foi usado para determinar a normalidade da amostra. Os dados paramétricos foram descritos como média \pm desvio-padrão, enquanto os dados não paramétricos foram descritos por meio de mediana e intervalo interquartil (IQ). Os percentuais representaram as proporções. Para correlação entre variáveis contínuas [níveis de neuropeptídeos pré-teste (pg/ng), e Δ neuropeptídeos (%) com Δ IPP pico (%) e com os níveis de lactato (mmol/L)] foi utilizado o teste de Spearman. O teste Wilcoxon foi utilizado para avaliar a variação dos níveis de neuropeptídeos entre a primeira e a segunda medição. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Todos os valores de p relatados são bicaudais. Para todas as análises foram utilizados os programas IBM *Statistical Package for the Social Science* (SPSS) 23 e *GraphPad Prism* 6.

O cálculo do tamanho da amostra foi estabelecido com base 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⁽¹⁶⁾ 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*.

Esta pesquisa seguiu as diretrizes STROBE para a comunicação de resultados.

RESULTADOS

Durante o período de estudo foram incluídos 46 pacientes após ressuscitação volêmica adequada e subsequentemente foram submetidos à avaliação da RMIP associada à análise dos níveis de SP e CGRP pré e pós-isquemia (Figura 1). Os dados clínico-demográficos e hemodinâmicos de todos os pacientes estão listados na tabela 1. Em geral, esses dados descrevem população heterogênea de doentes críticos, um achado típico de sepse.

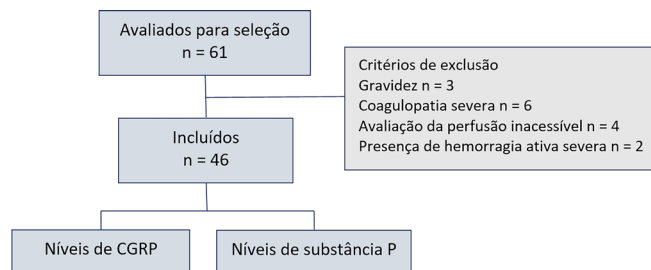


Figura 1 - Fluxograma do estudo.

Foram considerados 61 pacientes aptos a participar do estudo; 15 pacientes foram excluídos; 46 pacientes foram incluídos após ressuscitação volêmica adequada e posteriormente submetidos à avaliação da reserva microvascular isquêmica periférica associada à análise dos níveis de substância P e do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina pré e pós-isquemia. CGRP - peptídeo relacionado ao gene da calcitonina.

Tabela 1 - Características demográficas, clínicas e hemodinâmicas de pacientes com sepse após ressuscitação volêmica

Parâmetros	
Clínicos	
Idade (anos)	57 \pm 13
Sexo	
Masculino	14 (30)
Feminino	32 (70)
Comorbidades	
Diabetes mellitus	14 (30)
Hipertensão	24 (52)
Doença renal crônica	5 (11)
Insuficiência cardíaca	2 (4)
Doença hepática	3 (7)
Doença vascular cerebral	3 (7)
Doença pulmonar crônica	10 (22)
Câncer	2 (4)
Imunossupressão	8 (17)
Origem da infecção	
Respiratória	31 (67)
Abdominal	7 (15)
Urinária	1 (2)
Outras	7 (15)
Microorganismos em culturas	39 (85)
Confirmação de sepse	18 (39)
Escores e biomarcadores na internação em UTI	
SOFA*	9 \pm 3
APACHE II†	25 \pm 9
PCR (mg/dL)	20 \pm 13
Procacitonina (ng/mL)	44/1 (0,2 - 5,8)
Informações hemodinâmicas após ressuscitação	
PAM (mmHg)	86 \pm 14
Frequência cardíaca	91 \pm 22
ScvO ₂ (%)	21/76 \pm 8
Pv-aCO ₂ (mmHg)	21/7 \pm 6
Lactato arterial (mmol/L)	43/1,9 (1,4 - 2,4)
Débito urinário (mL/kg/hora)	47/0,6 \pm 0,4
Uso de drogas vasoativas	
Dose de norepinefrina (μ g/kg/minuto)	0,2 \pm 0,3
Uso de vasopressina	6 (13)
Perfusão periférica	
TRC prolongada (> 3 segundos)	10 (22)
Alteração do IPP (< 1,4)	10 (22)
Dosagem basal de neuropeptídeos	
CGRP (pg/mL)	27 \pm 31
Substância P (pg/mL)	153 (21 - 376)

UTI - unidade de terapia intensiva; SOFA - *Sequential Organ Failure Assessment*; APACHE II - *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*; PCR - proteína C-reativa; PAM - pressão arterial média; ScvO₂ - saturação venosa central de oxigênio; Pv-aCO₂ - diferença de dióxido de carbono venoso a arterial; TRC - tempo de recarga capilar; IPP - índice de perfusão periférica; CGRP - peptídeo relacionado ao gene da calcitonina. * Faixa de zero a 24: escores mais altos estão associados à intensidade da disfunção orgânica e à maior risco de morte hospitalar.⁽¹⁷⁾ † faixa de zero a 71: escores mais altos estão associados à intensidade da doença e à maior risco de internação hospitalar.⁽¹⁷⁾ Resultados expressos por média \pm desvio-padrão; n (%); n/mediana (intervalo interquartil) e n/mediana \pm desvio-padrão.

Entre os pacientes estudados, a idade média correspondeu a 57 anos, a maioria era do sexo feminino (70%) e suas principais comorbidades foram a hipertensão (52%) e diabetes (30%). As principais fontes de sepse foram pulmonar (52%) e abdominal (n = 23). Em sua maioria, identificou-se o fator etiológico dos pacientes utilizando culturas (85% dos casos), escalas de gravidade moderadas (SOFA e APACHE II), níveis alterados de proteína C-reativa e procalcitonina. No momento da avaliação da RMIP, as variáveis hemodinâmicas totais estavam dentro de faixas aceitáveis.

Como demonstrado na figura 2, foram analisados os níveis de neuropeptídeos antes e após o teste HRPO. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos níveis de SP ($p < 0,01$), com mediana do valor pré-teste maior (46,7; IQ 13,7 - 180,6) do que o valor pós-teste (35; IQ 4,9 - 133,5). Entretanto, não foram observadas diferenças significativas ($p = 0,86$) entre os valores pré (14,6; IQ 10,8 - 31,5) e pós teste para o CGRP (15,2; IQ 9,7 - 33,8).

Adicionalmente, como demonstrado na figura 3, este estudo não encontrou correlação significativa entre a RMIP (Δ IPP pico, %) e variação nos níveis dos neuropeptídeos (Δ dos níveis dos neuropeptídeos, %) CGRP ($p = 0,41$) e SP ($p = 0,26$) nas primeiras 24 horas do diagnóstico de sepse, após ressuscitação hemodinâmica apropriada. Além disso, não houve correlação significativa entre a RMIP (Δ IPP pico, %) e os níveis basais dos neuropeptídeos CGRP ($p = 0,71$) e SP ($p = 0,33$) (Figura 4).

O presente estudo também procurou avaliar uma possível associação entre os níveis basais dos neuropeptídeos e os valores do IPP, mas não observou correlação significativa entre os valores do IPP basal e os níveis basais dos neuropeptídeos CGRP ($p = 0,95$) e SP ($p = 0,82$). Finalmente, não foi encontrada correlação entre os níveis de lactato, marcador associado ao quadro de hipoperfusão tecidual e os níveis basais dos neuropeptídeos CGRP ($p = 0,66$) e SP ($p = 0,92$).

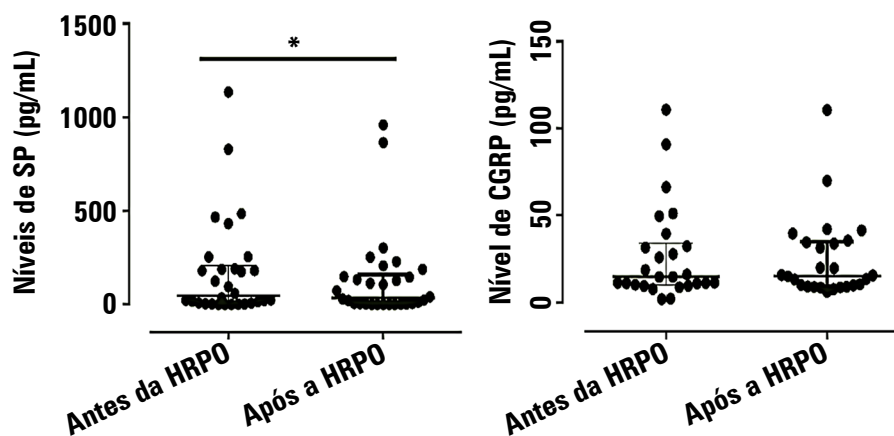


Figura 2 - Comparação entre os níveis de neuropeptídeos antes e depois do teste de hiperemia reativa pós-oclusão. (A) Os níveis da substância P foram significativamente menores após o teste de hiperemia reativa pós-oclusão. (B) Os níveis do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina não sofreram alteração significativa após o teste de hiperemia reativa pós-oclusão ($p > 0,05$). * $p < 0,01$

SP - substância P; CGRP - peptídeo relacionado ao gene da calcitonina; HRPO - hiperemia reativa pós-oclusão.

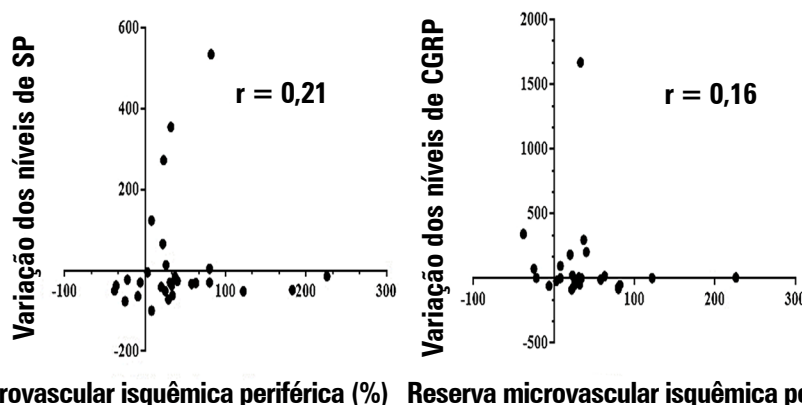


Figura 3 - Correlação entre a variação dos níveis de neuropeptídeos antes e depois do teste de hiperemia reativa pós-oclusão (Δ dos níveis de neuropeptídeos, %) e reserva microvascular isquêmica periférica (Δ IPP pico, %). Não houve correlação significativa entre a reserva microvascular isquêmica periférica e a variação dos níveis de hiperemia reativa pós-oclusão e substância P nas primeiras 24 horas do diagnóstico de sepse ($p > 0,05$).

SP - substância P; CGRP - peptídeo relacionado ao gene da calcitonina; IPP - índice de perfusão periférica.

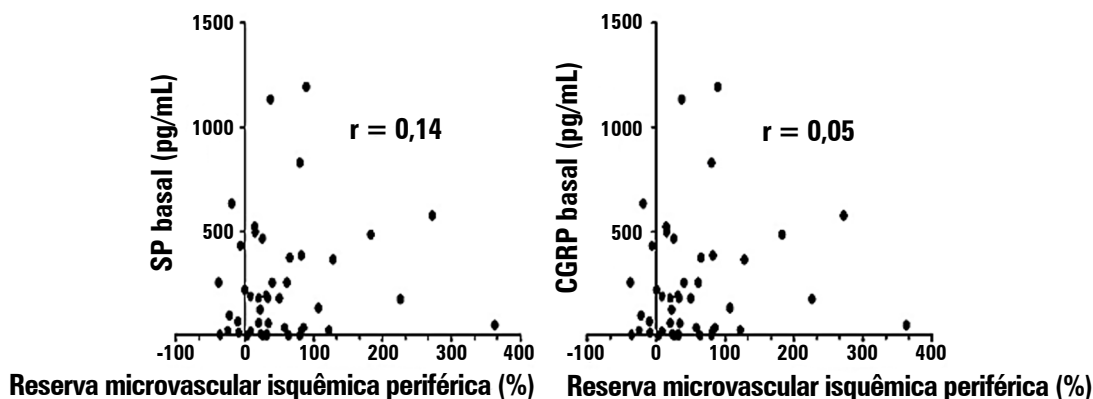


Figura 4 - Correlação entre os níveis basais dos neuropeptídeos (pg/mL) e a reserva microvascular isquêmica periférica (Δ IPP pico, %). Não houve correlação significativa entre a reserva microvascular isquêmica periférica e os níveis basais dos peptídeos relacionado ao gene da calcitonina e substância P nas primeiras 24 horas do diagnóstico de sepse ($p > 0,05$). SP - substância P; PIMR - reserva microvascular isquêmica periférica; IPP - índice de perfusão periférica.

DISCUSSÃO

Evidências atuais têm demonstrado a capacidade da RMIP em prever a taxa de mortalidade aos 28 dias em pacientes com choque séptico.⁽⁵⁾ Ao contrário do comportamento de outros territórios microvasculares, uma maior RMIP da ponta dos dedos foi associada à maior mortalidade, sugerindo um mecanismo funcional e não estrutural.⁽⁵⁾ Não obstante, nenhuma evidência clara elucidou o achado paradoxal envolvido entre uma RMIP e seu eventual papel prognóstico.

A pele corresponde a um dos órgãos mais acessíveis do corpo humano, permitindo aos clínicos avaliar a reatividade microvascular cutânea através de parâmetros não invasivos à beira do leito, como, por exemplo, o IPP associado ao teste HRPO. Embora alguns mecanismos, como os papéis do óxido nítrico (NO) e da prostaciclina (PGI-2), pareçam ser cruciais para a disfunção vasomotora na sepse,⁽¹⁸⁾ a inibição dessas substâncias não parece interferir na hiperemia reativa na pele.^(19,20) Com relação aos mecanismos fisiológicos envolvidos na reatividade microvascular da pele, há evidência de que a expressão e a liberação de neuropeptídeos via fibras nervosas sensoriais e substâncias derivadas de epóxigenases do citocromo parecem desempenhar papel essencial no pico e no momento da hiperemia em indivíduos saudáveis.^(21,22) Além disso, somado a seu desempenho na vasorregulação cutânea,⁽⁶⁾ evidências robustas têm demonstrado seu valor na previsão da mortalidade na sepse.⁽⁷⁻⁹⁾

A motivação deste estudo foi investigar o papel dos neuropeptídeos SP e CGRP na resposta cutânea isquêmica de pacientes com sepse. Esses neuropeptídeos têm função imunomoduladora⁽⁶⁾ e podem ser liberados simultaneamente após o teste de HRPO,⁽¹¹⁾ explicando teoricamente o mecanismo funcional que liga alta RMIP à maior mortalidade.

Nesse sentido, um teste micro-hemodinâmico poderia teoricamente ser usado para indicar um fenótipo de pacientes com sepse mais grave, provavelmente devido a uma desregulação imunológica mais significativa. Infelizmente, nossas descobertas não corroboraram essa hipótese. Ao contrário das expectativas, os níveis de CGRP pós-teste de plasma permaneceram semelhantes aos níveis pré-teste. Além disso, os níveis da SP diminuíram após o teste. No entanto, é bem conhecido que várias enzimas, incluindo endopeptidase neutra, aminopeptídeo dipeptidase IV e enzima conversora de angiotensina, degradam a SP.⁽²³⁾ Portanto, algumas dessas peptidases podem ter aumentado a atividade durante o estímulo hipóxico-isquêmico do teste em pacientes com sepse. Nesse sentido, são necessários novos estudos para confirmar essa afirmação.

Contudo, algumas limitações devem ser consideradas antes de descartar completamente essa possibilidade. Primeiro, o momento de avaliação e medição não foi o ideal, uma vez que esses mediadores poderiam ter sido liberados mais tarde. Segundo, não foram obtidas dosagens diferentes de neuropeptídeos ao longo do tempo para avaliar uma curva de resposta em comparação com a curva de reserva. Essa limitação é corroborada por um estudo intervencionista o qual por meio da infusão desses neuropeptídeos na pele por microdialise em indivíduos saudáveis, observou uma vasodilatação potente e duradoura no caso do CGRP e uma duração mais branda e curta associada ao vazamento de plasma para a SP.⁽²⁴⁾ Assim, a comparação dos picos máximos de resposta pode não se ajustar à hipótese. Terceiro, a medição de neuropeptídeos via sangue venoso pode não representar a medida avaliada em capilares. Apesar que o nosso estudo utilizou uma análise comparativa intraindividual, que reduziu a possível influência dos locais de coleta mencionados. Finalmente, neste estudo, a avaliação da RMIP associada à dosagem de neuropeptídeos em pacientes com sepse não foi comparada com pacientes saudáveis, limitando assim as conclusões.

CONCLUSÃO

Embora o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina e a substância P possam ter um papel prognóstico na sepse, esses neuropeptídeos não parecem contribuir para a reserva microvascular isquêmica periférica.

AGRADECIMENTOS

Fonte de financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (edital n° 15/2019).

Colaborações dos autores

AC Miranda: concepção do estudo, aquisição de dados, análise, interpretação, esboço do manuscrito, revisão e submissão. FC De Stefani: aquisição de dados. H Carraro Júnior e AM Luy: interpretação da pesquisa. LEN Ferreira: aquisição de dados e esboço do manuscrito. LG Morello: proposta de pesquisa e análise/interpretação de dados. IAC Menezes: proposta de pesquisa, concepção do estudo, aquisição de dados, análise, interpretação, esboço do manuscrito e revisão.

REFERÊNCIAS

- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):801-10.
- Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 2020;395(10219):200-11.
- Charlton M, Sims M, Coats T, Thompson JP. The microcirculation and its measurement in sepsis. *J Intensive Care Soc*. 2017;18(3):221-7.
- Menezes IA, Cunha CL, Carraro Júnior H, Luy AM. Perfusion index for assessing microvascular reactivity in septic shock after fluid resuscitation. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2018;30(2):135-43.
- Menezes IA, Cunha CL, Júnior HC, Luy AM. Increase of perfusion index during vascular occlusion test is paradoxically associated with higher mortality in septic shock after fluid resuscitation: a prospective study. *Shock*. 2019;51(5):605-12.
- Schlereth T, Schukraft J, Krämer-Best HH, Geber C, Ackermann T, Birklein F. Interaction of calcitonin gene related peptide (CGRP) and substance P (SP) in human skin. *Neuropeptides*. 2016;59:57-62.
- Beer S, Weighardt H, Emmanuilidis K, Harzenetter MD, Matevossian E, Heidecke CD, et al. Systemic neuropeptide levels as predictive indicators for lethal outcome in patients with postoperative sepsis. *Crit Care Med*. 2002;30(8):1794-8.
- Lorente L, Martín MM, Pérez-Cejas A, Ferreres J, Solé-Violán J, Labarta L, et al. Sustained low serum substance P levels in non-surviving septic patients. *Int J Mol Sci*. 2017;18(7):1531.
- Lorente L, Martín MM, Almeida T, Hernández M, Ferreres J, Solé-Violán J, et al. Association between serum substance P levels and mortality in patients with severe sepsis. *J Crit Care*. 2015;30(5):924-8.
- Larkin SW, Williams TJ. Evidence for sensory nerve involvement in cutaneous reactive hyperemia in humans. *Circ Res*. 1993;73(1):147-54.
- Lorenzo S, Minson CT. Human cutaneous reactive hyperaemia: role of BKCa channels and sensory nerves. *J Physiol*. 2007;585(Pt 1):295-303.
- Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med*. 2021;47(11):1181-247.
- Lima A, Bakker J. Noninvasive monitoring of peripheral perfusion. *Intensive Care Med*. 2005;31(10):1316-26.
- Lima AP, Beelen P, Bakker J. Use of a peripheral perfusion index derived from the pulse oximetry signal as a noninvasive indicator of perfusion. *Crit Care Med*. 2002;30(6):1210-3.
- Roustit M, Cracowski JL. Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation. *Trends Pharmacol Sci*. 2013;34(7):373-84.
- Fujii T, Luethi N, Young PJ, Frei DR, Eastwood GM, French CJ, Deane AM, Shehabi Y, Hajjar LA, Oliveira G, Udy AA, Orford N, Edney SJ, Hunt AL, Judd HL, Bitker L, Cioccarri L, Naorungroj T, Yanase F, Bates S, McGain F, Hudson EP, Al-Bassam W, Dwivedi DB, Peppin C, McCracken P, Orosz J, Bailey M, Bellomo R; VITAMINS Trial Investigators. 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*. 2020;323(5):423-31.
- Ferreira FL, Bota DP, Bross A, Mélot C, Vincent JL. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *JAMA*. 2001;286(14):1754-8.
- Joffre J, Hellman J, Ince C, Ait-Oufella H. Endothelial responses in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020;202(3):361-70.
- Wong BJ, Wilkins BW, Holowatz LA, Minson CT. Nitric oxide synthase inhibition does not alter the reactive hyperemic response in the cutaneous circulation. *J Appl Physiol*. 2003;95(2):504-10.
- Hellmann M, Gaillard-Bigot F, Roustit M, Cracowski JL. Prostanoids are not involved in postocclusive reactive hyperaemia in human skin. *Fundam Clin Pharmacol*. 2015;29(5):510-6.
- Cracowski JL, Gaillard-Bigot F, Cracowski C, Sors C, Roustit M, Millet C. Involvement of cytochrome epoxygenase metabolites in cutaneous postocclusive hyperemia in humans. *J Appl Physiol*. 2013;114(2):245-51.
- Cracowski JL, Lorenzo S, Minson CT. Effects of local anaesthesia on subdermal needle insertion pain and subsequent tests of microvascular function in human. *Eur J Pharmacol*. 2007;559(2-3):150-4.
- Harrison S, Geppetti P. Substance P. *Int J Biochem Cell Biol*. 2001;33(6):555-76.
- Weidner C, Klede M, Rukwied R, Lischetzki G, Neisius U, Skov PS, et al. Acute effects of substance P and calcitonin gene-related peptide in human skin—a microdialysis study. *J Invest Dermatol*. 2000;115(6):1015-20.