ANDRÉ LUÍS CORRÊA

**Efeitos do metoprolol em modelo experimental de choque
séptico**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em
Ciências

Programa de Anestesiologia

Orientadora: Profa. Dra. Denise Aya Otsuki

São Paulo

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo

Corrêa, André Luís

Efeitos do metoprolol em modelo experimental de choque séptico / André Luís
Corrêa. -- São Paulo, 2014.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Anestesiologia.

Orientador: Denise Aya Otsuki.

Descritores: 1.Metoprolol 2.Antagonistas adrenérgicos beta 3.Choque séptico
4.Suíños

USP/FM/DBD-364/14

Aos meus pais Ivo Corrêa e Juracy Maria Corrêa por todo o apoio nestes anos.

À minha noiva Sara Lucía Pulido Pérez pela imensa paciência e carinho.

Aos animais, que são o motivo principal de minha determinação.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Denise Aya Otsuki pela sua orientação, sua dedicação, seus ensinamentos, além de sua paciência e amizade. Não tenho palavras para expressar meu agradecimento por toda sua ajuda ao longo destes quatro anos.

Ao Prof. Dr. José Otávio Costa Auler Júnior, pela sua orientação e por ser um exemplo na área acadêmica.

À Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni pela sua ajuda inestimável em todos meus passos desde antes de vir a São Paulo, e pelo imenso carinho com que me recebeu todas as vezes que necessitei de sua ajuda.

Ao Prof. Dr. Nilson Roberti Benites e à Priscilla Anne Melville pela atenção, a instrução e o auxílio no preparo da solução de bactérias.

À Profa. Dra. Cristina de Oliveira Massoco Salles Gomes e à Dra. Nicolle Gilda Teixeira de Queiroz Hazarbassanov, pelo auxílio e orientação na dosagem das citocinas e dos marcadores cardíacos.

Ao amigo Gilberto Nascimento pela companhia, pelas risadas e por seu imenso auxílio em todo o desenvolvimento deste projeto de pesquisa.

Aos meus irmãos, Marco, Tânia e Carla, pelo seu apoio ao longo destes anos, pelo sua compreensão, e pela atenção nos momentos que precisei.

Aos amigos Magali, Gilvandro e Nayane por me ajudarem desde meus primeiros dias em São Paulo e me receberem em sua casa diversas vezes, fazendo com que eu me sentisse como um membro da família.

Aos colegas de pós-graduação com quem compartilhei meu tempo nesta instituição e que se tornaram grandes amigos, em especial meus amigos Alessandro, Amadeu, Edgard, Felipe, Jenifer, Lara, Paulo e Thaís. Cada um de vocês teve sua importância e foi parte de meu crescimento pessoal e profissional.

Aos diversos colegas de profissão que conheci nestes anos, que se tornaram amigos importantes e que com quem compartilhei diversos momentos de trabalho, e que graças a vocês foi não somente um momento de trabalho, mas também de descontração. Agradeço imensamente a cada um de vocês.

Aos amigos Marcius e Andreia, que tornaram os momentos livres, mesmo que estes tenham sido poucos, extremamente mais agradáveis. Sua amizade é essencial.

À Claudia Pereira, pela paciência e ajuda essencial em diversas etapas da pós-graduação.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo auxílio financeiro destinado à execução deste estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa a mim atribuída e que foi de fundamental importância ao longo destes anos.

“Eu não sei como eu posso parecer ao mundo, mas para mim, eu pareço ser apenas como uma criança brincando na beira do mar, divertindo-me e encontrando um seixo mais liso ou uma concha mais bonita que o ordinário, enquanto o grande oceano da verdade permanece todo indescoberto diante de mim.”

Isaac Newton

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2011.

Sumário

Lista de figuras
Lista de tabelas
Lista de abreviaturas
Resumo
Summary

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	4
3 REVISÃO DA LITERATURA	6
3.1 O coração na sepse	8
3.2 Tratamento	9
3.3 Beta-bloqueadores	10
3.3.1 <i>Beta-bloqueadores na sepse</i>	11
4 MÉTODOS	14
4.1 Local de realização e Comitê de Ética	15
4.2 Animais	15
4.3 Protocolo anestésico	16
4.4 Preparo da solução de bactéria e indução da sepse	17
4.5 Preparo e monitoração	18
4.6 Parâmetros hemodinâmicos	19
4.7 Parâmetros hemogasométricos, eletrolíticos, de perfusão e oxigenação	22
4.8 Estudo ecodopplercardiográfico	24
4.9 Marcadores cardíacos e inflamatórios	24
4.10 Parâmetros ventilatórios	25
4.11 Débito urinário	26
4.12 Quantidade administrada de fluido, vasopressor e inotrópico	26
4.13 Análise de sobrevivência	26
4.14 Determinação de grupos, coletas e delineamento experimental	27
4.15 Tratamento	28
4.16 Análise estatística	29
4.17 Morte e descarte dos animais	30

5 RESULTADOS	32
5.1 Peso dos animais	33
5.2 Variáveis hemodinâmicas	33
5.3 Parâmetros respiratórios	43
5.4 Gases sanguíneos, eletrólitos e parâmetros de oxigenação e perfusão	46
5.5 Estudo ecodopplercardiográfico	55
5.6 Citocinas e marcadores cardíacos	57
5.7 Débito urinário	60
5.8 Quantidade total administrada de Ringer lactato, norepinefrina e dobutamina	61
5.9 Análise de sobrevivência	62
 6 DISCUSSÃO	 63
6.1 Limitações do estudo	75
 7 CONCLUSÃO	 76
 8 ANEXOS	 78
 9 REFERÊNCIAS	 81
 APÊNDICES	

Lista de figuras

Figura 01 –	Delineamento do estudo	28
Figura 02 –	Valores médios e desvio padrão da frequência cardíaca (bpm) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	37
Figura 03 –	Valores médios e desvio padrão da pressão arterial sistólica, média e diastólica (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	37
Figura 04 –	Valores médios e desvio padrão da pressão arterial pulmonar média (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	38
Figura 05 –	Valores médios e desvio padrão da pressão venosa central (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	39
Figura 06 –	Valores médios e desvio padrão do índice cardíaco (L/min.m ²) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	39
Figura 07 –	Valores médios e desvio padrão do índice de volume sistólico (mL/m ²) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	40
Figura 08 –	Valores médios e desvio padrão do índice de resistência vascular sistêmica (dinas-seg/cm ⁵ /m ²) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	42
Figura 09 –	Valores médios e desvio padrão do índice de resistência vascular pulmonar (dinas-seg/cm ⁵ /m ²) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	42
Figura 10 –	Valores médios e desvio padrão do nível sérico de lactato dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	50
Figura 11 –	Valores médios e desvio padrão do conteúdo de oxigênio arterial dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	53
Figura 12 –	Valores médios e desvio padrão da oferta de oxigênio dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	54

Figura 13 –	Valores médios e desvio padrão do consumo de oxigênio dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	54
Figura 14 –	Fator alfa de necrose tumoral (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-10 (IL-10) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	59
Figura 15 –	Troponina I (TNNI) e fator natriurético tipo-B (BNP) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	59
Figura 16 –	Valores médios e desvio padrão de débito urinário dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	61
Figura 17 –	Valores médios e desvio padrão da quantidade total de norepinefrina e dobutamina administrada aos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	62
Figura 16 –	Análise de sobrevivência em modelo experimental de choque séptico em suínos.....	62

Lista de tabelas

Tabela 01 –	Valores médios e desvio padrão dos parâmetros hemodinâmicos dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	35
Tabela 02 –	Valores médios e desvio padrão dos parâmetros respiratórios dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	45
Tabela 03 –	Valores médios e desvio padrão dos gases sanguíneos, eletrólitos, e parâmetros de oxigenação e perfusão dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	48
Tabela 04 –	Valores médios e desvio padrão dos parâmetros ecocardiográficos dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	56
Tabela 05 –	Mediana e valores extremos (valor mínimo-valores máximo) da concentração sérica de citocinas e marcadores cardíacos dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.....	60
Tabela 05 –	Quantidade total média e desvio padrão de Ringer lactato, norepinefrina e dobutamina administrada a cada animal dos grupos Controle e Metoprolol.....	61

Lista de abreviaturas e siglas

ANOVA	- Análise de Variância
BASES	- “Brazilian Sepsis Epidemiological Study”
BNP	- Peptídeo Natriurético Tipo-B
CaO ₂	- Conteúdo de Oxigênio Arterial
Cst	- Complacência Estática
CvO ₂	- Conteúdo de Oxigênio Venoso
DC	- Débito Cardíaco
DO ₂	- Oferta de Oxigênio
DU	- Débito Urinário
EtCO ₂	- Pressão Parcial de Dióxido de Carbono Expirado
FC	- Frequência Cardíaca
FEVE	- Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo
FiO ₂	- Fração Inspirada de Oxigênio
Hb	- Hemoglobina
HCO ₃	- Bicarbonato
IC	- Índice Cardíaco
ICEVAP	- Índice do Conteúdo Extravascular de Água Pulmonar
IL	- Interleucina
IRVP	- Índice de Resistência Vascular Pulmonar
IRVS	- Índice de Resistência Vascular Sistêmica
ITSVD	- Índice do Trabalho Sistólico do Ventrículo Direito

ITSVE	- Índice do Trabalho Sistólico do Ventrículo Esquerdo
IVS	- Índice do Volume Sistólico
IVSIT	- Índice do Volume Sanguíneo Intratorácico
LPS	- Lipopolissacarídeo
PaCO ₂	- Pressão Parcial de Dióxido de Carbono
PaO ₂	- Pressão Parcial de Oxigênio
PAD	- Pressão Arterial Diastólica
PAP	- Pressão Arterial Pulmonar
PAM	- Pressão Arterial Média
PAPm	- Pressão Arterial Pulmonar Média
PAPo	- Pressão Arterial Pulmonar Ocluída
PAS	- Pressão Arterial Sistólica
PEEP	- Pressão Positiva no Final da Expiração
pH	- Potencial de Hidrogênio
P _{méd}	- Pressão Média das Vias Aéreas
P _{pausa}	- Pressão de Platô das Vias Aéreas
P _{pico}	- Pressão de Pico das Vias Aéreas
PROGRESS	- “Promoting Global Research Excellence in Severe Sepsis”
PVC	- Pressão Venosa Central
PvO ₂	- Pressão Parcial de Oxigênio no Sangue Venoso Misto
RVS	- Resistência Vascular Sistêmica
SaO ₂	- Saturação Arterial de Oxigênio
SIRS	- Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica
SvO ₂	- Saturação Venosa Mista de Oxigênio
TeO ₂	- Taxa de Extração de Oxigênio
TNF	- Tumor Necrosis Factor
TSB	- Trypticase Soy Broth
UTI	- Unidade de Tratamento Intensivo

- VDFVE - Volume Diastólico Final do Ventrículo Esquerdo
- VO₂ - Consumo de Oxigênio
- VSFVE - Volume Sistólico Final do Ventrículo Esquerdo

Resumo

Corrêa AL. *Efeitos do metoprolol em modelo experimental de choque séptico* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

O uso de fármacos cardiovasculares tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, incluindo o uso de beta-bloqueadores como o metoprolol. E embora estudos experimentais e clínicos tenham demonstrado benefícios na utilização desta classe de fármacos em pacientes sépticos, o bloqueio de receptores beta-adrenérgicos continua sendo contraditório, especialmente no choque séptico. Vinte fêmeas suínas nas quais o choque séptico foi induzido através da infusão intravenosa de *Escherichia coli* (6×10^9 UFC/kg em duas horas), foram randomicamente distribuídas (n=10 por grupo) em um grupo Metoprolol (GM; 214.2 µg/kg de metoprol infundido em 45 minutos) ou grupo Controle (GC), o qual recebeu um volume correspondente de solução salina. Os parâmetros hemodinâmicos e de oxigenação foram avaliados no momento basal (TB), T30, T60, T120, T240 e T360 minutos. Amostras de sangue foram colhidas ainda em TB, T120 e T360 e armazenadas para posterior mensuração da concentração sérica de citocinas e marcadores cardíacos. Durante este período utilizou-se um protocolo de ressuscitação com Ringer lactato, norepinefrina (NE) e dobutamina para manutenção da pressão arterial média (PAM) > 65 mmHg, da pressão venosa central (PVC) em 8-12 mmHg e da saturação venosa mista de oxigênio (SvO_2) > 65%. Os dados paramétricos foram analisados utilizando ANOVA de duas vias para medidas repetidas, seguidas por Tukey quando necessário, enquanto para os dados não paramétricos utilizaram-se os testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. A quantidade de fluido, NE e dobutamina foi analisada pelo teste t de Student, e a

análise de sobrevivência foi realizada utilizando o Kaplan-Meier log-rank test. Exceto por um valor mais elevado do índice de resistência vascular sistêmica (IRVS) em T240 ($p=0,02$) nos animais tratados com metoprolol, todos os parâmetros analisados neste estudo apresentaram um comportamento similar em ambos os grupos. Nenhuma diferença foi observada também em relação ao volume total de fluido ($p=0,914$), à quantidade total de NE ($p=0,069$) e dobutamina ($p=0,560$) administrada, e ainda em relação à mortalidade. Embora estudos tenham demonstrado diversos benefícios na utilização de beta-bloqueadores em pacientes sépticos, e que estes tenham demonstrado resultados promissores, a administração de metoprolol não apresentou benefícios em nenhum dos parâmetros analisados em nosso modelo experimental. Porém, em um cenário onde a administração de beta-bloqueadores está em constante crescimento, é de grande importância saber que sua administração não apresenta efeitos deletérios nestes pacientes.

Descritores: Metoprolol; Antagonistas adrenérgicos beta; Choque séptico; Suínos.

Summary

Corrêa AL. *Effects of metoprolol in experimental model of septic shock* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2014.

The use of cardiovascular drugs considerably increased in recent years, including the use of β -blockers, such as metoprolol. And although experimental and clinical studies had demonstrated benefits on the administration of these drugs in septic patients, the β -blockade is still contradictory, especially in the septic shock. Twenty female pigs in which septic shock was induced through intravenous *E. coli* infusion (6×10^9 c.f.u/kg in 2h) were randomly assigned (n=10 per group) to the Metoprolol group ($214.2 \mu\text{g kg}^{-1}$ of metoprolol infused in 45 minutes) or Control group, which received a correspondent volume of normal saline. Hemodynamic and oxygenation parameters were then evaluated at baseline (TB), T30, T60, T120, T240 and T360 minutes. Blood samples were collected at TB, T120 and T360 for posterior mensuration of serum cytokines and cardiac markers. During this period, a resuscitation protocol with lactated Ringer's solution, norepinephrine and dobutamine was used to maintain the mean arterial pressure (MAP) > 65 mmHg, the central venous pressure (CVP) between 8-12 mmHg and the mixed venous oxygen saturation (SvO_2) $> 65\%$. Parametric data were compared using the two-way repeated measures ANOVA, followed by the Tukey test when necessary, while the nonparametric data were analyzed with the Kruskal-Wallis and the Mann-Whitney test. The total volume of fluid and total amount of norepinephrine and dobutamine infused were analyzed by the Student's t-test. Survival analysis was performed using Kaplan-Meier log-rank test. Except for the higher values of systemic vascular resistance index (SVRI) at T240 ($p=0.02$) in the animals that received

metoprolol, all the parameters analyzed in this study showed a similar behavior in both groups. No difference was also observed between groups in relation to the total volume of fluid ($p=0.914$), the total amount of norepinephrine ($p=0.069$) and dobutamine ($p=0.560$) infused, and related to the survival rate. Although some studies have demonstrated several benefits with the use of beta-blockers in patients with sepsis and show promising results, the administration of metoprolol did not improve any of the parameters analyzed in our experimental model. However, in a scenario where the administration of β -blockers is increasing constantly, it is important to know that its administration do not present deleterious effects in these patients.

Descriptors: Metoprolol; Adrenergic beta-antagonists; Septic shock; Swine.

1 INTRODUÇÃO

Doenças infecciosas estão entre as principais causas de morte em humanos desde os primeiros registros tabulados. O primeiro uso do termo “sepsé” no contexto médico ocorreu há mais de 2700 anos nos poemas de Homero, e Hipócrates foi um dos primeiros a examinar propriedades antissépticas de compostos potencialmente medicinais¹. Apesar destes registros datarem de milhares de anos atrás, somente em 1684 é que a teoria da geração espontânea de infecção começou a ser refutada, através da contribuição de Francisco Redi (1626-1697), o qual conduziu experimentos de putrefação em carnes².

Atualmente, apesar de grande evolução ter ocorrido no que se refere ao conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos da sepsé e de seu tratamento, e de centenas de milhares de estudos relacionados a este termo serem encontrados, esta síndrome ainda é responsável por índices inaceitáveis de mortalidade. Buscando alterar este cenário, novas abordagens e tratamentos vêm sendo estudados nestes quadros, entre eles o uso de beta-bloqueadores, sendo seu uso considerado uma opção interessante no sentido de contrabalançar a estimulação adrenérgica excessiva em pacientes críticos, uma vez que o estado hiperadrenérgico é um dos motivos para o estado catabólico elevado presente na sepsé.

Outro fator de crescente importância no cenário atual é o fato de que o número de pessoas que atinge a idade avançada vem aumentando

gradativamente, e com isso há um aumento considerável também na incidência de doenças cardiovasculares. No Brasil a idade média dos pacientes internados em unidades de terapia intensiva que desenvolve sepse é de 61,7 anos, aumentando a possibilidade desses pacientes estarem recebendo diversos tratamentos, incluindo os beta-bloqueadores. E, apesar do uso desta classe farmacológica ter demonstrado efeitos benéficos em pacientes sépticos, o risco de descompensação cardiovascular nestes pacientes deve ser levado em consideração.

Com base nestas afirmações, o presente estudo justifica-se devido ao fato de ser o primeiro a avaliar os efeitos da administração intravenosa de metoprolol, um antagonista seletivo de receptores β_1 -adrenérgicos, associado ao tratamento convencional com reposição volêmica e terapia vasopressora e inotrópica em um modelo experimental de sepse.

2 OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos da administração intravenosa de metoprolol nas variáveis hemodinâmicas, inflamatórias e nos marcadores cardíacos em modelo experimental de sepse em suínos.

3 REVISÃO DA LITERATURA

A expressão Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS) foi definida em 1991 por membros do “American College of Chest Physicians” e da “Society of Critical Care Medicine” como sendo o processo inflamatório envolvendo alguns sinais clínicos específicos, independentemente da causa. Outra recomendação proposta foi a definição do termo sepse, que seria a SIRS resultante de um processo infeccioso confirmado³.

A sepse é a principal geradora de custos nos setores público e privado para o Brasil de acordo com o estudo BASES⁴. Além disso, nosso país possui de 9 a 10 mil Unidades de Tratamento Intensivo (UTIs), das quais 25% dos leitos são ocupados por pacientes sépticos. Aqueles que desenvolvem sepse necessitam de um período médio de 7-14 dias de suporte em UTIs, grande parte sob ventilação mecânica, seguido por um período adicional de 10-14 dias em um leito hospitalar comum⁵.

Ao se comparar o Brasil a outros países, uma clara diferença pode ser observada nos índices de mortalidade, assim como foi demonstrado pelo estudo PROGRESS. De 12.570 pacientes avaliados, a média de mortalidade na UTI foi de 39,2%, com diferenças significativas entre países, sendo que esta média no Brasil foi de 56,1%⁶.

3.1 O coração na sepse

A disfunção cardíaca é uma ocorrência comum em pacientes com sepse grave ou choque séptico⁷. Parker e colaboradores fizeram o primeiro relato de depressão miocárdica após um estudo envolvendo 20 pacientes sépticos. Os pacientes não-sobreviventes deste estudo apresentaram frações de ejeção mais elevadas e volumes diastólicos finais menores em comparação aos sobreviventes, sugerindo que a dilatação ventricular e a depressão miocárdica conferem um efeito protetor cardíaco⁸.

Em um estudo realizado em pacientes com choque séptico sem doença cardíaca prévia, submetidos à ventilação mecânica e submetidos à avaliação ecocardiográfica transesofágica, 26 dos 67 pacientes avaliados apresentaram hipocinesia ventricular global, além de que 14 pacientes que receberam suporte vasopressor com norepinefrina desenvolveram disfunção ventricular esquerda⁹. É interessante observar que os estudos avaliando a função cardíaca em pacientes sépticos mostram que a disfunção ventricular é mais marcante nos pacientes que sobrevivem a esta condição^{9,10}.

Diversos fatores têm sido associados à depressão miocárdica na sepse, dentre eles a isquemia de miocárdio, a disfunção microvascular, substâncias depressoras do miocárdio, disfunção mitocondrial, endotoxinas, citocinas e o óxido nítrico^{9,11}. Citocinas inflamatórias como o TNF- α e a IL-1 desempenham um papel importante na disfunção miocárdica induzida pela sepse. A infusão de TNF- α reproduziu o perfil hemodinâmico de choque séptico em cães¹², enquanto a adição *in vitro* de IL-1 a células miocárdicas causou uma depressão

concentração-dependente da extensão máxima e da velocidade de encurtamento dos miócitos¹³.

Como a disfunção miocárdica induzida pela sepse provavelmente reflete uma hibernação cardíaca e deve ser uma resposta adaptativa, um uso sensato de catecolaminas é recomendado, uma vez que a estimulação adrenérgica leva a um aumento no trabalho cardíaco, podendo lesionar os cardiomiócitos¹⁴.

3.2 Tratamento

As recomendações da Surviving Sepsis Campaign (SSC) de 2012 servem como um guia para o tratamento da sepse grave ou choque séptico. Dentre os parâmetros sugeridos como guias se encontram a manutenção da pressão venosa central (PVC) entre 8-12 mmHg, pressão arterial média (PAM) > 65 mmHg e saturação venosa mista de oxigênio acima de 65%. Como recomendação para ressuscitação volêmica em casos de sepse grave ou choque séptico, recomendam-se os cristaloides como fluido de escolha inicial, sendo que o desafio volêmico em pacientes com hipoperfusão tecidual com suspeita de hipovolemia deve ser realizado com uma infusão mínima inicial de 30 mL/kg, o que pode variar de acordo com a necessidade individual do paciente¹⁵.

Após ressuscitação volêmica inicial, o uso de suporte vasopressor para atingir e manter uma adequada pressão sanguínea e perfusão tecidual orgânica é um dos pilares da estratégia de suporte hemodinâmico.

Recomendações internacionais colocam tanto a norepinefrina como a dopamina como vasopressores de primeira linha durante o choque séptico¹⁶. Em um estudo comparando a eficácia e a segurança da norepinefrina e dopamina no tratamento de adultos com choque séptico e volemicamente ressuscitados, observou-se que apesar de não apresentarem diferença na taxa de sobrevivência em um período de 28 dias, a incidência de arritmias foi significativamente menor com o uso de norepinefrina¹⁷, sendo este o fármaco vasopressor inicial de escolha em pacientes sépticos¹⁵.

A instituição de terapia inotrópica isolada ou associada ao uso de vasopressores é recomendada pela SSC na presença de: (a) disfunção miocárdica, sugerida por pressões elevadas de enchimento cardíaco e baixo débito cardíaco, ou (b) sinais contínuos de hipoperfusão, mesmo após atingir volume intravascular ou pressão adequados. Como fármaco inotrópico, recomenda-se a infusão de dobutamina em uma taxa de até 20 µg/kg/min¹⁵. Rosário e colaboradores realizaram um estudo guiando a ressuscitação pela SvO₂, e a manutenção deste parâmetro acima de 65% com o uso de ressuscitação volêmica e terapia inotrópica esteve associado a um melhor perfil hemodinâmico¹⁸.

3.3 Beta-bloqueadores

Os fármacos conhecidos como beta-bloqueadores possuem a característica de antagonizar competitivamente os efeitos das catecolaminas

em receptores β . Uma das principais diferenças encontradas entre os fármacos deste grupo está relacionada à seletividade destes por receptores β_1 e β_2 , sendo a maior seletividade por receptores β_1 de grande importância clínica. Portanto, fármacos como o atenolol, o esmolol e o metoprolol, por serem seletivos para estes receptores, apresentam uma vantagem sobre beta-bloqueadores não seletivos, evitando ou reduzindo efeitos indesejáveis, como o aumento na resistência das vias aéreas causado pelo bloqueio de receptores β_2 na musculatura lisa brônquica¹⁹.

O metoprolol, apesar de não ser completamente isento de ação em receptores β_2 , possui uma maior seletividade por receptores β_1 , sendo considerado um beta-bloqueador cardiosseletivo, e usualmente indicado em diversas situações clínicas, como em casos de infarto agudo do miocárdio, em alguns distúrbios do ritmo cardíaco, como fármaco anti-hipertensivo, entre outras.

3.3.1 Beta-bloqueadores na sepse

A sepse é responsável por um estado catabólico global, sendo a excessiva estimulação adrenérgica considerada uma das causas deste hipermetabolismo. O estresse adrenérgico excessivo, seja por altos níveis plasmáticos de catecolaminas, ou pela infusão de catecolaminas exógenas para controle da hipotensão, possui múltiplos efeitos adversos, incluindo resistência à insulina, trombogenicidade, imunossupressão, crescimento bacteriano elevado, além de estar implicado na depressão miocárdica relacionada à sepse^{14,20}. Com base

nisto, o bloqueio de receptores beta tem sido proposto como uma estratégia para contrabalançar as consequências deste estado hiperadrenérgico²¹.

Diversos estudos vêm sendo realizados há algum tempo fazendo uso de fármacos beta-bloqueadores em diferentes modelos animais de sepse, alguns deles demonstrando efeitos benéficos, com melhora na taxa de sobrevivência, enquanto outros apresentaram resultados negativos^{22,23}. Porém, metodologias diferentes foram utilizadas nos diferentes estudos, com administração do fármaco em momentos diferenciados, bem como o uso de diferentes agentes. Beta-bloqueadores não seletivos, como o propranolol por exemplo, inibem a ativação de receptores β_2 , os quais possuem propriedades cardioprotetoras²⁴.

Em um estudo utilizando o landiolol, um antagonista altamente seletivo de receptores β_1 , em uma infusão de 24 horas em ratos submetidos à endotoxemia por infusão de lipopolissacarídeo (LPS), foram observados menores elevações dos níveis séricos de TNF- α e IL-6, além de menor lesão tecidual pulmonar²⁵. Outro antagonista seletivo de receptores β_1 , o esmolol, quando titulado em uma dose suficiente para reduzir a frequência cardíaca em 20%, demonstrou ser bem tolerado em suínos com choque endotóxico, não causando colapso cardiovascular em nenhum dos animais envolvidos no estudo, além de ter sido capaz de contrabalançar a disfunção cardíaca²⁶.

Entre os anos de 2010 e 2012, um estudo randomizado de fase 2 foi realizado utilizando esmolol em infusão titulada para manter a frequência cardíaca dos pacientes sépticos entre 80 e 94 batimentos por minuto. Neste estudo, a infusão de beta-bloqueador era iniciada após 24 horas de otimização hemodinâmica, em pacientes que ainda necessitavam de norepinefrina, e que a frequência cardíaca continuava acima de 95 batimentos por minuto. Nestes

pacientes, mesmo com importante redução da quantidade de norepinefrina no grupo que recebeu esmolol, a PAM foi mantida. Outro dado de grande importância nestes pacientes foi a mortalidade após 28 dias, que foi de 49,4% no grupo tratado com beta-bloqueador, comparado com 80,5% no grupo controle²⁷.

Já em um estudo retrospectivo realizado em humanos, dados de 12594 pacientes internados em unidades de tratamento intensivo com diagnóstico de sepse, foram avaliados buscando uma possível correlação entre a prescrição prévia de beta-bloqueadores e a mortalidade em até 28 dias após admissão na UTI. Com base nestes registros, observou-se que pacientes recebendo tratamento prévio com beta-bloqueadores tiveram menor mortalidade (17,7%) quando comparados com pacientes que não foram previamente expostos a esta classe de medicamentos (22,1%), reforçando a evidência de que o uso destes fármacos em pacientes sépticos pode representar uma vantagem²⁸.

4 MÉTODOS

4.1 Local de realização e Comitê de Ética

Este estudo foi realizado no Laboratório de Investigação Médica nº 08 (LIM-08) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), após aprovação do Protocolo de Pesquisa nº 492/11 pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FMUSP (Anexos A, Anexo B).

4.2 Animais

Foram utilizadas 20 fêmeas suínas, com peso médio de 22,5 kg, provenientes de granjas de produção comercial de alto padrão sanitário e submetidas a exame clínico completo e gasometria arterial para descartar qualquer alteração que pudesse comprometer os resultados do estudo.

4.3 Protocolo anestésico

Todos os animais foram pré-medicados com uma associação de midazolam (0,25 mg/kg) e cetamina (5 mg/kg), pela via intramuscular. Foi realizado o acesso venoso na veia marginal da orelha com cateter 20G e a indução anestésica foi realizada utilizando-se propofol (5 mg/kg), pela via intravenosa. Subsequentemente realizou-se a intubação com sonda endotraqueal de diâmetro adequado e os animais foram mantidos sob anestesia geral através da administração de isoflurano a 1,4%, administrado por meio de vaporizador calibrado, sendo a concentração monitorada por meio da avaliação da fração expirada do agente anestésico.

Instaurou-se então o bloqueio neuromuscular com pancurônio, na dose inicial de 0,1 mg/kg e infusão contínua de 5 µg/kg/minuto. Os animais foram então posicionados em decúbito dorsal e mantidos sob ventilação mecânica controlada a volume, a qual foi ajustada inicialmente em 20 movimentos respiratórios por minuto, volume corrente de 8 mL/kg, e pressão expiratória final positiva (PEEP) de 5 cmH₂O. Após a estabilização da ventilação para que a FiO₂ atingisse o valor de 60%, uma amostra de sangue arterial foi coletada para avaliação de gases sanguíneos. Somente os animais que apresentaram relação PaO₂/FiO₂ > 400 foram incluídos no estudo. A frequência respiratória e o volume corrente foram ajustados quando necessário para manutenção da pressão parcial de dióxido de carbono no gás expirado (EtCO₂) entre 35 e 45 mmHg.

Independentemente do grupo, todos os animais receberam Ringer lactato a uma taxa de 5 mL/kg/h como solução de manutenção, administrada através de bomba de infusão durante todo o período experimental.

4.4 Preparo da solução de bactéria e indução da sepse

Para o preparo da solução de bactéria, utilizou-se uma cepa de *Escherichia coli* enteropatogênica viva (EPEC, sorogrupo O55), a qual foi cultivada no laboratório de doenças infecciosas do departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (VPS-FMVZ-USP). As cepas foram estocadas em meio de conservação e ativadas em meio Trypticase Soy Broth (TSB) durante 24 horas para posteriormente ser armazenado sob refrigeração. A cada semana uma porção desse meio foi inoculada em uma nova placa de Trypticase Soy Agar (TSA) e incubadas por mais 24 horas em estufa a 32°C. Após crescimento, alíquotas de bactérias foram suspensas e diluídas em solução salina a 0,9% até que se observasse a última escala visual de contagem do método McFarland. Pronta esta suspensão, sua espectrofotometria foi realizada e sua absorbância padronizada (0,95 a 0,99 em 625 nanômetros (nm) de comprimento de onda), através de diluições com solução fisiológica a 0,9%. Esta absorbância neste comprimento de onda

representou uma suspensão com 3×10^9 células/mL ou $0,6 \times 10^{10}$ UFC/mL de *E. coli* vivas²⁹.

A suspensão foi então conservada a uma temperatura de 4°C por um período máximo de 36 horas, e então retirada da geladeira e deixada em temperatura ambiente por um período de dez minutos para sua posterior administração nos animais. A indução da sepse foi realizada através da administração contínua desta solução na taxa de 0,5 mL/kg/hora utilizando uma bomba de infusão, administrada durante um período total de 120 minutos, técnica esta adaptada de Rahal et al.³⁰.

4.5 Preparo e monitoração

Com os animais em plano anestésico adequado, realizou-se a infiltração de 5mL de solução de lidocaína sem vasoconstritor para dissecação da veia jugular direita para a introdução de um catéter de artéria pulmonar (7F), o qual foi acoplado ao monitor de débito cardíaco. O cateter foi posicionado no tronco da artéria pulmonar, sendo o transdutor de pressão posicionado ao nível da linha axilar média e zerado à pressão atmosférica. Sua correta localização foi confirmada pela observação das curvas de pressão características e pelo “achatamento da curva” quando da insuflação do balão localizado em sua extremidade.

Foi dissecada também a artéria femoral para a introdução de um cateter 5F (Pulsiocath PV2015L20, Pulsion Medical Systems, München, Alemanha) para monitoração contínua da pressão arterial, débito cardíaco transpulmonar e parâmetros associados. Já a veia femoral foi dissecada para a colocação de um cateter de polietileno nº 8, através do qual foi administrada a solução de bactéria e feita a ressuscitação volêmica.

A temperatura dos animais foi mantida entre 37 e 38 °C, controlada com o uso de colchão térmico. Foi realizada ainda a cateterização vesical com sonda uretral nº 8 para mensuração do débito urinário.

4.6 Parâmetros hemodinâmicos

Frequência (FC) e ritmo cardíacos

A frequência cardíaca, em batimentos por minuto (bpm), e o ritmo cardíaco, foram avaliados diretamente através de monitor multiparamétrico (IntelliVue MP50, Phillips, Boeblingen, Alemanha).

Pressões Arterial Sistólica (PAS), Média (PAM) e Diastólica (PAD)

A mensuração destes parâmetros, em mmHg, foi realizada por meio do cateter de artéria femoral acoplado ao transdutor de pressão invasiva do monitor multiparamétrico (IntelliVue MP50, Phillips, Boeblinger, Alemanha).

Débito (DC) e Índice Cardíacos (IC)

O débito cardíaco (L/min) foi mensurado pelo método de termodiluição, por meio de cateter de Swan-Ganz posicionado na artéria pulmonar e conectado ao monitor de débito cardíaco (Vigilance II; Edwards Lifesciences Inc., Irvine, CA, EUA). As mensurações foram realizadas através da infusão de 10mL de solução de glicose a 5% em temperatura ambiente pela luz proximal do cateter. Foram realizadas três medidas consecutivas, sendo o valor adotado a média aritmética dos valores obtidos. Mensurações com mais de 10% de diferença em relação à mensuração anterior foram excluídas e uma nova medida realizada.

O índice cardíaco foi calculado automaticamente pelo monitor de débito cardíaco através de fórmula padrão.

Pressão Venosa Central (PVC), Pressão Arterial Pulmonar Média (PAPm) e Ocluída (PAPO)

A aferição destes parâmetros, todos em mmHg, foi obtido através do cateter de artéria pulmonar conectado ao monitor multiparamétrico (Phillips Intellivue MP50; Phillips, Boeblingen, Alemanha), sendo a PAPO obtida pela insuflação do balão localizado na extremidade distal deste cateter.

Índice de Resistência Vascular Sistêmica (IRVS) e Pulmonar (IRVP), Índice do Volume Sistólico (IVS), Índice do Trabalho Sistólico do Ventrículo Esquerdo (ITVE) e Direito (ITVD)

Todos os índices acima foram calculados automaticamente pelo monitor de débito cardíaco (Vigilance II; Edwards Lifesciences Inc., Irvine, CA, EUA) através do uso de fórmulas padrão.

Índice do Conteúdo Extravascular de Água Pulmonar (ICEVAP) e Índice do Volume Sanguíneo Intratorácico (IVSIT)

O ICEVAP e o IVSIT foram obtidos diretamente também de monitor multiparamétrico (Phillips Intellivue MP50; Phillips, Boeblingen, Alemanha) após a mensuração do débito cardíaco por termodiluição transpulmonar.

4.7 Parâmetros hemogasométricos, eletrolíticos, de perfusão e oxigenação

pH arterial (pHa), Pressão Parcial de Dióxido de Carbono (PaCO₂) e Oxigênio (PaO₂) Arterial, Saturação Arterial de Oxigênio (SaO₂), Bicarbonato (HCO₃), Potássio (K⁺), Sódio (Na⁺) e Lactato

Para mensuração dos parâmetros supracitados, foi retirada uma amostra de 1mL de sangue arterial através do cateter fixado na artéria femoral e que foi analisada pelo analisador de gases sanguíneos (ABL 555, Radiometer, Copenhagen, Dinamarca).

Saturação Venosa Mista de Oxigênio (SvO₂) e Pressão Parcial de Oxigênio no Sangue Venoso Misto (PvO₂)

Para mensuração da SvO₂ (%) e da PvO₂ (mmHg), foi realizada a coleta de uma amostra de sangue venoso misto a partir da extremidade distal do cateter de artéria pulmonar.

Conteúdo de Oxigênio Arterial (CaO₂) e Venoso (CvO₂), Oferta (DO₂) e Consumo de Oxigênio (VO₂) e Taxa de Extração de Oxigênio (TeO₂)

Estas variáveis foram calculadas manualmente a partir das fórmulas demonstradas abaixo.

Conteúdo de oxigênio arterial:

$$\text{CaO}_2 = (\text{SaO}_2 \times \text{Hb} \times 0,0134) + (0,003 \times \text{PaO}_2), \text{ expresso em mg/dL}$$

Conteúdo de oxigênio venoso:

$$\text{CvO}_2 = (\text{SvO}_2 \times \text{Hb} \times 0,0134) + (0,003 \times \text{PvO}_2), \text{ expresso em mg/dL}$$

Oferta de oxigênio:

$$\text{DO}_2 = \text{CaO}_2 \times \text{DC} \times 10, \text{ expresso em mL/min}$$

Consumo de oxigênio:

$$\text{VO}_2 = \text{C(a-v)O}_2 \times \text{DC} \times 10, \text{ expresso em mL/min}$$

Taxa de extração de oxigênio:

$$\text{TeO}_2 = \text{SaO}_2 - \text{SvO}_2 / \text{SaO}_2, \text{ expresso em \%}$$

4.8 Estudo ecodopplercardiográfico

Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (FEVE), Volume Diastólico Final do Ventrículo Esquerdo (VDFVE) e Volume Sistólico Final do Ventrículo Esquerdo (VSFVE), Área Diastólica Final do Ventrículo Esquerdo (ADVFE) e Área Sistólica Final do Ventrículo Esquerdo (ASFVE)

O estudo ecodopplercardiográfico foi realizado por um profissional habilitado, utilizando um meio de sistema de ultrassonografia com transdutor transesofágico de 7,5/5,0MHz.

Os parâmetros acima citados foram calculados utilizando o método de Simpson, posicionando o transdutor na posição média do coração, o que permitiu a visualização das quatro câmaras cardíacas.

4.9 Marcadores cardíacos e inflamatórios

Para dosagem de citocinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10), amostras de sangue colhidas em tubo com gel ativador de coágulo foram centrifugadas em centrífuga refrigerada (4°C) a 2000 rpm durante 10 minutos. As amostras de soro obtidas foram aliquotadas em microtubos e armazenadas em freezer - 80°C até o momento da dosagem das citocinas.

As citocinas foram dosadas pelo método *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA), seguindo todas as recomendações do fabricante, e utilizando pares de anticorpos monoclonais comerciais (Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, EUA).

A troponina I cardíaca e o peptídeo natriurético do tipo B foram avaliados com kits ELISA específicos para suínos (Life Sciences Advanced Technologies, Sain Petesburg, EUA), a partir de uma amostra de plasma com EDTA. Estas amostras foram aliquotadas e, após centrifugação, armazenadas também em freezer -80°C até o momento de sua dosagem.

4.10 Parâmetros ventilatórios

Foram monitorados os parâmetros de complacência estática (Cst), pressão parcial de dióxido de carbono expirado (ETCO₂) e pressão de pico, pausa e média de vias aéreas (Ppico, Ppausa, Pméd). Todos estes parâmetros foram monitorados pelo módulo de ventilação do aparelho de anestesia (Primus, Dräger, Lübeck, Alemanha).

4.11 Débito urinário

Para a avaliação do débito urinário introduziu-se uma sonda uretral nº 8 e em cada momento avaliado a quantidade de urina formada foi registrada.

4.12 Quantidade administrada de fluido, vasopressor e inotrópico

Ao final do procedimento calculou-se o total administrado de Ringer Lactato (mL), norepinefrina (μg) e dobutamina (μg), para verificar possíveis diferenças entre grupos quanto à necessidade de fármacos para o tratamento.

4.13 Análise de sobrevivência

O número de óbitos ocorrido durante o período experimental foi registrado para posterior análise de sobrevivência dentro de ambos os grupos.

4.14 Determinação de grupos, coletas e delineamento experimental

Antes de iniciarmos o estudo, todos os animais foram previamente randomizados e distribuídos em dois grupos: Controle e Metoprolol, detalhados logo abaixo. Este foi um estudo cego, sendo que o avaliador não sabia se estava administrando o metoprolol ou então solução fisiológica a 0,9% em volume correspondente.

Após a indução da anestesia e preparo do animal conforme citado anteriormente, aguardou-se um período de 30 minutos de estabilização seguido da coleta de dados hemodinâmicos e respiratórios basais (TB). Uma amostra de sangue arterial e venoso misto também foi obtida para avaliação de gases sanguíneos.

A sepse foi induzida em todos os animais, sendo este procedimento realizado através da infusão da solução de *Escherichia coli* previamente descrita. Esta infusão foi feita a uma taxa de 0,5 mL/kg/h, totalizando 120 minutos de infusão. Durante este período de infusão, todos os parâmetros foram avaliados trinta minutos após o início da infusão (T30), uma hora após o início da mesma (T60) e ao término desta (T120). Somente os parâmetros obtidos continuamente através dos monitores multiparamétricos e do aparelho de anestesia foram também registrados aos 15 minutos de infusão (T15).

As mensurações dos parâmetros hemodinâmicos, respiratórios e de hemogasometria arterial ocorreram ainda a cada uma hora após o término da infusão de bactérias, totalizando seis horas de avaliação (T180, T240, T300 e T360) (Figura 01).

Figura 01 - Delineamento do estudo; A = anestesia e instrumentação com duração de 30 a 60 minutos, B = período de 30 minutos para estabilização, C = período de infusão do metoprolol (214,2 $\mu\text{g/kg}$, IV) ou de volume correspondente de solução salina durante 45 minutos, D = infusão da solução de bactérias (6×10^9 UFC/kg infundido a uma taxa de 0,5 mL/kg/h); TB = tempo basal, T15, T30, T60, T120, T180, T240, T300 e T360 minutos; círculos pretos = momentos de avaliação dos parâmetros hemodinâmicos, respiratórios e de oxigenação, sendo que somente os parâmetros contínuos foram avaliados em T15; triângulos pretos = colheita de sangue para mensuração sérica de citocinas e marcadores cardíacos

4.15 Tratamento

Os animais de ambos os grupos foram tratados para manter valores de PAM > 65 mmHg, PVC em 8-12 mmHg e SvO₂ acima de 65%. Se a pressão arterial média assumisse valores abaixo de 65 mmHg, o protocolo estipulado consistia inicialmente na utilização de solução de Ringer Lactato à taxa de 20 mL/kg administrados em um período de 20 minutos, caso os valores de PVC se apresentassem abaixo de 12 mmHg. Se a ressuscitação volêmica não fosse suficiente para elevar o valor da PAM acima de 65 mmHg ou então se os valores de PVC excedessem o valor convencionado de 12 mmHg, era instituído o início da infusão de norepinefrina na taxa de 0,1 $\mu\text{g/kg/min}$, com incrementos de 0,1 $\mu\text{g/kg/min}$ a cada 2 minutos até a obtenção de valores adequados de PAM, não ultrapassando a dose máxima de 2,0 $\mu\text{g/kg/min}$.

Em qualquer momento do estudo, caso fossem observados valores de SvO₂ contínua abaixo de 65%, era instituído o tratamento com inotrópico, neste caso a dobutamina, iniciando a infusão a uma taxa de 2,5 µg/kg/min, com incrementos de 2,5 µg/kg/min realizados a cada cinco minutos até a estabilização deste parâmetro ou até atingir-se a dose máxima de 20 µg/kg/min.

No grupo Metoprolol, juntamente com o início da infusão da solução de bactérias, era administrado uma solução contendo tartarato de metoprolol. O fármaco em questão foi administrado na dose total de 214,2 µg/kg – dose esta extrapolada a partir da dose administrada a humanos (dose total de 15 mg para um adulto de 70kg). O volume presente na seringa foi diluído em solução fisiológica a 0,9% totalizando 50 mL e então administrou-se um terço desta solução nos primeiros cinco minutos e o restante nos 40 minutos subsequentes, com o auxílio de uma bomba de infusão contínua. Para tornar o estudo cego para o avaliador, um volume correspondente de solução fisiológica a 0,9% foi puxado também em uma seringa sem identificação e administrado aos animais do grupo Controle.

4.16 Análise estatística

Os resultados hemodinâmicos, ventilatórios, hemogasométricos, eletrolíticos e de oxigenação e perfusão obtidos nos diferentes tempos e grupos foram confrontados estatisticamente por meio de provas paramétricas,

utilizando a análise de variância de duas vias para medidas repetidas (two-way repeated measures ANOVA). O teste de Tukey foi utilizado na ocorrência de diferença estatística significativa, para a comparação dos diferentes tempos de observação de um mesmo grupo e entre grupos.

Os dados referentes à concentração sérica de citocinas e marcadores cardíacos, por não apresentarem distribuição normal, foram analisados através de testes não paramétricos. Neste caso, para comparação entre tempos de um mesmo grupo e entre grupos, utilizaram-se os teste de Kruskal-Wallis e de Mann-Whitney, respectivamente.

O volume total de fluido administrado, bem como o volume total de vasopressor e inotrópico administrado a cada grupo foi comparado pelo teste *t* de Student, enquanto a análise de sobrevivência foi realizada utilizando-se o teste de Kaplan-Meier log-rank. Os testes estatísticos foram realizados por meio do software SigmaPlot 11.0 (Systat Software, San Jose, EUA).

O grau de significância estabelecido foi de 5% ($p < 0,05$).

4.17 Morte e descarte dos animais

Os animais foram eutanasiados por sobredose anestésica e posterior injeção de cloreto de potássio, administrado pela via intravenosa. O descarte das carcaças foi feito de acordo com as recomendações do Grupo de Gerenciamento de Resíduos da FMUSP, devidamente acondicionados e

identificados para posterior encaminhamento ao setor de coleta de resíduos infectantes da instituição.

5 RESULTADOS

5.1 Peso dos animais

O peso médio dos animais, com seu respectivo desvio-padrão, foi de $22,3 \pm 1,7$ kg para o grupo Controle e de $22,8 \pm 2,0$ kg para o grupo Metoprolol.

5.2 Variáveis hemodinâmicas

A Tabela 01 contém as informações relativas às alterações hemodinâmicas desde o tempo basal até o término do período experimental.

Frequência Cardíaca (FC)

Os valores de FC apresentaram-se aumentados aos 30 minutos após o início da infusão de bactéria (T30) no grupo Controle, e em ambos os grupos de T120 a T360, quando comparados aos valores basais, não apresentando diferenças significativas entre os grupos (Figura 02).

Pressão Arterial Sistólica (PAS), Média (PAM) e Diastólica (PAD)

Os valores médios de PAS apresentaram uma elevação estatisticamente significativa em relação ao TB no tempo T30 em ambos os grupos, com posterior redução em T180 e T300 somente no grupo Controle, como pode ser observado na Tabela 01 e na Figura 03.

Em relação à pressão arterial média, também observou-se aumento significativo aos 30 minutos da infusão de bactérias tanto no grupo Controle como no Metoprolol, enquanto somente nos animais do grupo Controle foram observados valores reduzidos deste parâmetro de T120 ao T300, quando comparados ao TB.

Valores de PAD significativamente diferentes de TB foram encontrados em ambos os grupos em T15 e T30, e ainda de T120 ao T300 no grupo Controle.

Pressão Arterial Pulmonar Média (PAPm) e Pressão da Artéria Pulmonar Ocluída (PAPO)

A PAPm apresentou aumento de seus valores médios desde T15 até o término do período experimental quando comparados aos valores basais, tanto no grupo Controle como no grupo Metoprolol (Figura 04).

Não foram observadas diferenças estatísticas entre grupos ou entre tempos para a pressão da artéria pulmonar ocluída.

Tabela 01 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros hemodinâmicos dos animais dos grupos Controle e Metoprolol

Parâmetro	Grupo	Tempo								
		TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
FC (bpm)	Controle	105±12	110±20	142±26 ^a	151±30	170±22 ^a	192±18 ^a	192±21 ^a	193±31 ^a	188±26 ^a
	Metoprolol	111±24	116±20	138±28	131±20	163±23 ^a	177±38 ^a	186±21 ^a	173±25 ^a	187±23 ^a
PAS (mmHg)	Controle	94±9	110±21	115±21 ^a	96±10	74±12	71±12 ^a	75±18	72±28 ^a	82±28
	Metoprolol	94±11	108±15	118±15 ^a	93±11	80±8	82±19	89±10	76±22	75±23
PAM (mmHg)	Controle	74±9	89±16	97±16 ^a	75±8	56±8 ^a	54±8 ^a	57±12 ^a	55±20 ^a	65±20
	Metoprolol	74±6	89±13	98±11 ^a	71±10	60±6	64±16	73±7	60±16	60±16
PAD (mmHg)	Controle	61±9	76±15 ^a	87±15 ^a	61±8	42±5 ^a	41±5 ^a	43±9 ^a	42±14 ^a	51±15
	Metoprolol	60±4	77±14 ^a	86±11 ^a	56±9	44±4 ^a	48±13	58±10	48±14	46±11
PAPm (mmHg)	Controle	20±2	42±9 ^a	56±6 ^a	43±5 ^a	40±5 ^a	42±6 ^a	41±3 ^a	36±8 ^a	39±3 ^a
	Metoprolol	20±1	47±11 ^a	56±3 ^a	40±6 ^a	39±4 ^a	43±5 ^a	44±7 ^a	40±7 ^a	41±5 ^a
PAPO (mmHg)	Controle	12±1	13±2	14±4	12±1	12±1	13±2	12±1	13±2	12±1
	Metoprolol	12±2	12±2	12±2	13±2	13±1	13±2	13±2	13±1	12±1
PVC (mmHg)	Controle	9±2	12±2	14±3 ^a	10±3	10±2	11±2	10±1	10±2	10±1
	Metoprolol	10±1	14±2 ^a	15±2 ^a	11±1	11±1	11±2	11±2	10±2	11±2
IC (L/min/m ²)	Controle	3,8±0,9	-	2,9±1,3	3,7±1,0	5,1±1,5 ^a	4,7±1,0	4,1±1,3	3,7±1,2	3,9±1,5
	Metoprolol	4,2±0,8	-	3,0±0,6 ^a	3,5±0,8	4,5±0,9	4,6±1,2	3,6±0,8	2,5±0,3 ^a	2,6±1,2 ^a

continua

Tabela 01 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros hemodinâmicos dos animais dos grupos Controle e Metoprolol (conclusão)

Parâmetro	Grupo	Tempo								
		TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
IRVS (dina-seg/cm ⁻⁵ /m ²)	Controle	1405±300	-	2588±1004 ^a	1465±294	773±186 ^a	761±103 ^a	929±174	1224±540	1167±351
	Metoprolol	1244±260	-	2364±784 ^a	1398±280	932±208	1024±268	1382±403 ^b	1780±548	1569±459
IRVP (dina-seg/cm ⁻⁵ /m ²)	Controle	174±46	-	1317±562 ^a	697±148 ^a	466±159 ^a	536±192 ^a	602±207 ^a	585±156 ^a	618±192 ^a
	Metoprolol	158±46	-	1236±234 ^a	671±226 ^a	502±121 ^a	536±109 ^a	693±101 ^a	865±286 ^a	1021±374 ^a
ITSVE (g/m ² /batimento)	Controle	31±7	-	24±12	22±9	19±8 ^a	14±6 ^a	15±9 ^a	15±11 ^a	17±15 ^a
	Metoprolol	34±8	-	26±10	23±9 ^a	20±7 ^a	19±7 ^a	16±5 ^a	10±4 ^a	10±9 ^a
ITSVD (g/m ² /batimento)	Controle	5±1	-	12±6 ^a	11±4 ^a	13±5 ^a	10±2 ^a	9±3 ^a	8±4	9±5
	Metoprolol	5±2	-	13±4 ^a	11±3 ^a	12±4 ^a	11±4 ^a	9±4	6±2	6±2
IVS (mL/m ² /batimento)	Controle	37±7	-	22±11 ^a	25±8 ^a	31±10	25±6 ^a	22±8 ^a	20±9 ^a	22±12 ^a
	Metoprolol	40±9	-	22±7 ^a	28±9 ^a	30±9 ^a	25±7 ^a	20±5 ^a	14±2 ^a	14±8 ^a
ICEVAP (mL/kg)	Controle	11,9±1,5	-	11,8±1,5	11,8±3,3	13,9±3,3	16,6±6,8 ^a	14,8±3,3	12,0±1,6	12,9±3,8
	Metoprolol	11,2±1,3	-	12,7±1,3	13,3±3,1	13,9±2,4	15,3±6,1 ^a	13,0±2,9	13,6±3,0	11,8±0,9
IVSIT (mL/m ²)	Controle	635,4±91,8	-	584,9±67,1	574,0±63,7	513,8±56,3	518,6±52,3	472,4±74,1 ^a	481,0±145,9 ^a	445,0±159,8 ^a
	Metoprolol	624,4±66,8	-	540,3±70,4	557,2±59,0	533,0±74,3	540,9±44,3	499,8±78,4	406,8±61,3 ^a	417,0±79,7 ^a

FC = Frequência Cardíaca / PAS = Pressão Arterial Sistólica / PAM = Pressão Arterial Média / PAD = Pressão Arterial Diastólica / PAPm = Pressão Arterial Pulmonar Média / PAPO = Pressão da Artéria Pulmonar Ocluída / PVC = Pressão Venosa Central / IC = Índice Cardíaco / IRVS = Índice de Resistência Vascular Sistêmica / IRVP = Índice de Resistência Vascular Pulmonar / ITSVE = Índice do Trabalho Sistólico do Ventrículo Esquerdo / ITSVD = Índice do Trabalho Sistólico do Ventrículo Direito / IVS = Índice do Volume Sistólico / ICEVAP = Índice do Conteúdo Extravascular de Água Pulmonar / IVSIT = Índice do Volume Sanguíneo Intra Torácico. ^a indica valor diferente de TB (p<0,05). ^b indica valor diferente no grupo Metoprolol em relação ao grupo Controle (p<0,05).

Figura 02 - Valores médios e desvio padrão da frequência cardíaca (bpm) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.
* Significativamente diferente de TB ($p < 0,05$).

Figura 03 - Valores médios e desvio padrão da pressão arterial média (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.
* Significativamente diferente de TB ($p < 0,05$).

Figura 04 - Valores médios e desvio padrão da pressão arterial pulmonar média (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.
* Significativamente diferente de TB ($p < 0,001$).

Pressão Venosa Central (PVC)

Houve um aumento significativo dos valores de pressão venosa central nos tempos T15 e T30 em ambos os grupos em relação a seus valores em TB (Figura 05).

Índice Cardíaco (IC)

Aumento estatístico significativo nos valores de índice cardíaco foi observado no tempo T120 do grupo Controle, enquanto no grupo Metoprolol

observou-se redução deste parâmetro nos tempos T30, T300 e T360, quando comparados à avaliação basal (Figura 06).

Figura 05 - Valores médios e desvio padrão da pressão venosa central (mmHg) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.
* Significativamente diferente de TB ($p < 0,001$).

Figura 06 - Valores médios e desvio padrão do índice cardíaco (L/min.m²) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.
* Significativamente diferente de TB ($p < 0,05$).

Índice de Volume Sistólico (IVS)

Foi observada uma redução significativa dos valores de IVS em relação ao TB em T30 somente no grupo Controle e ainda de T120 até o término do período experimental em ambos os grupos (Figura 07).

Figura 07 - Valores médios e desvio padrão do índice de volume sistólico (mL/m²) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol.
* Significativamente diferente de TB ($p < 0,05$).

Índice de Resistência Vascular Sistêmica (IRVS) e Pulmonar (IRVP)

Em relação ao índice de resistência vascular sistêmica, o grupo Metoprolol apresentou valores significativamente diferentes do basal somente no T30, enquanto no grupo Controle estes foram observados em T30, T120 e T180.

Ainda em T240, o valor médio do IRVS foi maior no grupo Metoprolol quando comparado ao Controle (Figura 08).

Valores significativamente maiores em relação aos valores médios basais de IRVP foram observados em ambos os grupos em todos os momentos avaliados (Figura 09).

Índice do Trabalho Sistólico do Ventrículo Esquerdo (ITSVE) e Direito (ITSVD)

Uma redução do ITSVE foi observada de T60 a T360 no grupo Metoprolol e de T120 a T360 no grupo Controle, quando comparado ao momento basal.

Aumento dos valores médios do índice do trabalho sistólico do ventrículo direito foi observado também em ambos os grupos em relação aos valores de TB. No grupo Metoprolol estes valores mais elevados foram observados desde os 15 minutos de infusão até o tempo T180, enquanto no grupo Controle este fato foi observado até o momento T240.

Índice do Conteúdo Extravascular de Água Pulmonar (ICEVAP)

Em ambos os grupos somente foi observado aumento significativo deste parâmetro em T180, quando comparado ao basal.

Figura 08 - Valores médios e desvio padrão do índice de resistência vascular sistêmica (dinas-seg/cm⁵/m²) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol. * Significativamente diferente de TB (p<0,05). # Significativamente diferente do grupo Controle (p<0,05).

Figura 09 - Valores médios e desvio padrão do índice de resistência vascular pulmonar (dinas-seg/cm⁵/m²) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol. * Significativamente diferente de TB (p<0,05).

Índice do Volume Sanguíneo Intratorácico (IVSIT)

Os valores do IVSIT apresentaram valores significativamente menores em relação ao TB de T240 até o término do período experimental no grupo Controle, enquanto no grupo Metoprolol o mesmo foi observado somente nos dois últimos tempos avaliados (T300 e T360).

5.3 Parâmetros respiratórios

As variáveis respiratórias com suas respectivas alterações podem ser observadas na Tabela 02.

Frequência Respiratória (FR)

Neste estudo, conforme citado na metodologia do mesmo, os animais foram mecanicamente ventilados, sendo a frequência respiratória inicialmente ajustada de maneira semelhante para todos os animais. Entretanto, na grande maioria deles foi necessário um aumento da FR para manutenção dos valores adequados de pressão parcial de dióxido de carbono expirado (EtCO_2), e este ajuste se mostrou estatisticamente significativo nos momentos T120, T180 e T240 no grupo Controle, quando em comparação aos valores inicialmente programados.

Pressão Parcial de Dióxido de Carbono Expirado (EtCO₂)

Os valores de EtCO₂ não apresentaram nenhuma diferença estatisticamente significativa, seja entre tempos ou entre grupos.

Complacência Estática (Cst)

Os valores médios de complacência estática apresentaram uma queda importante em relação a TB, e este fato foi observado em ambos os grupos desde o primeiro momento avaliado, aos 15 minutos de infusão de bactéria, até o término do procedimento.

Pressão de Pico (Ppico), de Platô (Pplat) e Média (Pmed)

Em relação à avaliação basal, tanto a pressão de pico como a pressão de platô apresentaram um aumento significativo de seus valores em ambos os grupos, sendo esta ocorrência observada desde os primeiros 30 minutos de avaliação até o término do procedimento experimental.

Tabela 02 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros respiratórios dos animais dos grupos Controle e Metoprolol

Parâmetro	Grupo	Tempo								
		TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
FR (mpm)	Controle	23±3	24±3	24±3	25±3	27±3 ^a	27±3 ^a	28±3 ^a	26±4	26±4
	Metoprolol	24±4	24±3	24±4	25±4	26±4	26±4	25±3	25±3	25±4
EtCO₂ (mmHg)	Controle	41±3	42±4	40±4	45±2	46±2	43±2	42±3	41±4	42±2
	Metoprolol	42±1	40±2	42±4	45±3	44±1	41±5	42±2	39±4	41±3
Cst (mL/cmH ₂ O)	Controle	17,8±2,2	15,4±2,4	13,0±1,7	13,7±1,4	11,9±1,7	10,5±1,6	10,4±2,3	11,5±3,1	11,9±2,5
	Metoprolol	20,8±3,0	17,0±3,0	15,2±3,1	16,0±3,5	13,7±3,7	11,8±3,6	11,9±3,1	12,4±2,9	13,5±2,2
Ppico (mmHg)	Controle	17±1	19±2	21±2 ^a	20±2 ^a	22±2 ^a	25±3 ^a	25±3 ^a	24±2 ^a	24±3 ^a
	Metoprolol	16±2	18±2	20±2 ^a	19±2 ^a	21±3 ^a	24±4 ^a	24±4 ^a	23±4 ^a	21±2 ^a
Pplat (mmHg)	Controle	17±1	18±2	21±2 ^a	20±2 ^a	22±2 ^a	24±3 ^a	24±4 ^a	23±3 ^a	23±3 ^a
	Metoprolol	15±1	18±2	19±2 ^a	18±2 ^a	21±3 ^a	23±5 ^a	23±4 ^a	23±4 ^a	21±2 ^a
Pmed (mmHg)	Controle	8±0	8±1	9±1 ^a	9±0 ^a	9±0 ^a	10±1 ^a	10±0 ^a	10±1 ^a	10±1 ^a
	Metoprolol	8±1	8±0	9±1 ^a	8±1	9±1 ^a	9±1 ^a	9±1 ^a	9±1 ^a	9±0 ^a

FR = Frequência Respiratória / EtCO₂ = Pressão Parcial de Dióxido de Carbono Expirado / Cst = Complacência Estática / Ppico = Pressão de Pico das Vias Aéreas / Pplat = Pressão de Platô das Vias Aéreas / Pmed = Pressão Média das Vias Aéreas. ^a indica valor diferente de TB (p<0,05).

Os valores de pressão média apresentaram aumento semelhante ao que ocorreu com a Ppico e Pplat, com exceção do tempo T60 no grupo Metoprolol que não apresentou diferença em relação ao TB.

5.4 Gases sanguíneos, eletrólitos e parâmetros de oxigenação e perfusão

pH arterial (pHa)

Ambos os grupos apresentaram redução significativa do pH arterial em relação ao valor basal, sendo esta observada a partir de uma hora da infusão de bactérias (T60) e se mantendo até o término dos tempos experimentais avaliados (Tabela 03).

Pressão Parcial de Oxigênio (PaO₂) e de Dióxido de Carbono (PaCO₂) Arterial

Valores significativamente menores de pressão parcial de oxigênio arterial em relação aos valores basais foram observados durante todo o período avaliado no grupo Metoprolol e a partir de uma hora de infusão de bactérias no grupo Controle.

Em relação à PaCO_2 , observou-se aumento em relação ao tempo basal em todos os momentos nos quais este parâmetro foi avaliado no grupo Metoprolol, enquanto no grupo Controle esta alteração foi observada a partir de uma hora da infusão de bactéria (T60).

Bicarbonato (HCO_3)

Ambos os grupos apresentaram valores médios da concentração de bicarbonato significativamente menores do que os observados no basal desde o término da infusão de bactérias (T120) até o fim do período analisado.

Saturação Venosa Mista (SvO_2)

Dentro dos momentos avaliados, os valores de SvO_2 somente apresentaram valores significativamente reduzidos em relação ao basal no último momento de avaliação (T360), sendo este fato observado tanto no grupo Controle como no grupo Metoprolol.

Tabela 03 - Valores médios e desvio padrão dos gases sanguíneos, eletrólitos, e parâmetros de oxigenação e perfusão dos animais dos grupos Controle e Metoprolol

Parâmetro	Grupo	Tempo							
		TB	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
pHa	Controle	7,430±0,027	7,374±0,047	7,352±0,033 ^a	7,295±0,032 ^a	7,265±0,056 ^a	7,235±0,061 ^a	7,197±0,101 ^a	7,193±0,131 ^a
	Metoprolol	7,416±0,018	7,355±0,052	7,329±0,035 ^a	7,305±0,044 ^a	7,302±0,072 ^a	7,285±0,072 ^a	7,253±0,111 ^a	7,241±0,083 ^a
PaCO₂ (mmHg)	Controle	41,4±2,8	45,7±4,9	47,4±3,9 ^a	50,6±3,6 ^a	50,4±3,8 ^a	48,4±4,1 ^a	50,1±3,6 ^a	49,8±4,3 ^a
	Metoprolol	40,7±1,8	46,8±6,3 ^a	47,9±4,3 ^a	48,6±4,8 ^a	45,4±6,6 ^a	47,6±5,7 ^a	47,5±8,4 ^a	47,9±6,0 ^a
PaO₂ (mmHg)	Controle	243,0±9,0	212,5±61,8	188,9±45,8 ^a	143,2±44,4 ^a	128,4±58,5 ^a	135,6±53,6 ^a	133,1±66,6 ^a	150,8±61,2 ^a
	Metoprolol	248,8±18,8	197,3±56,1 ^a	195,6±47,8 ^a	165,2±60,2 ^a	142,8±57,6 ^a	144,4±46,9 ^a	138,6±53,0 ^a	148,6±54,9 ^a
HCO₃ (mmol/L)	Controle	26,9±2,1	25,8±1,9	25,3±2,0	23,5±1,2 ^a	21,7±2,1 ^a	19,6±2,4 ^a	18,7±3,7 ^a	18,7±5,5 ^a
	Metoprolol	25,6±1,8	25,2±2,1	24,2±1,8	23,1±1,5 ^a	21,3±1,8 ^a	21,6±2,0 ^a	20,0±2,8 ^a	19,8±3,1 ^a
K⁺ (mmol/L)	Controle	4,3±0,3	4,6±0,5	4,4±0,5	4,4±0,4	4,7±0,6	4,8±0,4	5,6±0,4 ^a	6,7±0,9 ^a
	Metoprolol	4,2±0,4	4,7±0,5 ^a	4,3±0,4	4,5±0,4	4,9±0,9 ^a	5,2±0,3 ^a	5,7±0,4 ^a	5,9±0,3 ^a
SvO₂ (%)	Controle	80,1±4,4	77,0±10,0	81,2±4,2	78,5±7,1	72,7±17,2	73,0±9,7	73,1±9,9	65,6±20,3 ^a
	Metoprolol	82,1±2,4	73,2±8,7	78,7±8,1	79,0±10,3	77,1±11,1	73,8±9,4	73,7±8,1	68,3±15,7 ^a
Lactato (mmol/L)	Controle	1,3±0,4	1,6±0,4	2,1±0,7	3,8±1,1 ^a	5,7±2,2 ^a	6,9±2,6 ^a	7,4±2,9 ^a	7,8±3,9 ^a
	Metoprolol	1,5±0,4	2,1±0,6	2,5±0,7	3,5±1,2 ^a	4,9±2,1 ^a	4,9±2,0 ^a	5,3±3,1 ^a	5,7±2,1 ^a
EB (mEq/mL)	Controle	2,9±2,0	0,8±2,2	0,0±2,0	-2,7±1,5 ^a	-4,9±2,9 ^a	-7,5±3,3 ^a	-9,2±5,5 ^a	-9,3±7,8 ^a
	Metoprolol	1,6±1,7	-0,1±2,4	-1,4±1,9	-2,8±2,1 ^a	-4,4±2,7 ^a	-4,6±3,3 ^a	-6,8±5,0 ^a	-7,3±4,4 ^a

continua

Tabela 03 - Valores médios e desvio padrão dos gases sanguíneos, eletrólitos, e parâmetros de oxigenação e perfusão dos animais dos grupos Controle e Metoprolol (conclusão)

Parâmetro	Grupo	Tempo							
		TB	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Hematócrito (%)	Controle	26±2	32±4 ^a	33±4 ^a	32±4 ^a	33±4 ^a	34±4 ^a	38±5 ^a	38±3 ^a
	Metoprolol	26±2	32±2 ^a	32±2 ^a	30±1 ^a	32±4 ^a	37±4 ^a	38±4 ^a	38±3 ^a
CaO₂ (mL/dL)	Controle	11,59±0,94	14,47±1,74 ^a	14,92±2,02 ^a	14,07±1,86 ^a	14,10±2,04 ^a	15,14±1,95 ^a	14,14±6,44 ^a	13,91±6,93 ^a
	Metoprolol	11,73±1,11	14,59±1,08 ^a	14,29±1,02 ^a	13,28±0,56	14,20±2,01 ^a	16,33±2,10 ^a	16,42±2,90 ^a	16,85±1,70 ^a
CvO₂ (mL/dL)	Controle	9,33±1,02	11,24±1,66	12,22±1,82 ^a	11,36±2,01	10,80±2,96	11,47±2,25	10,85±5,09 ^a	9,47±5,79
	Metoprolol	9,67±1,07	10,87±1,89	11,40±1,77	10,98±1,34	11,36±2,44	12,38±2,40	12,86±1,75	11,95±3,08
DO₂ (mL/min)	Controle	317,9±86,5	292,5±106,9	389,4±102,3	504,3±138,6 ^a	470,3±125,7 ^a	448,2±153,5	473,3±152,5	464,0±162,7
	Metoprolol	357,7±68,9	309,2±70,6	366,2±102,2	429,1±98,3	473,9±119,5	421,0±43,1	317,7±36,4	306,8±99,8
VO₂ (mL/min)	Controle	60,68±15,15	62,68±25,57	68,51±15,24	92,18±19,24 ^a	102,44±45,80 ^a	100,27±16,44 ^a	92,35±14,19 ^a	102,35±20,71 ^a
	Metoprolol	63,19±15,75	78,27±26,24	71,44±22,60	70,27±19,45	90,87±29,14 ^a	101,93±34,13 ^a	85,65±29,18 ^a	82,51±27,98 ^a
TeO₂ (%)	Controle	19,62±4,42	22,12±8,66	18,13±3,93	19,61±7,11	24,06±15,20	24,52±8,97	23,31±7,63	24,55±10,96
	Metoprolol	17,62±2,43	25,87±8,60	20,62±8,02	17,51±7,48	20,61±9,81	24,48±8,65	26,55±6,84 ^a	29,49±13,94 ^a
PaO₂/FiO₂	Controle	405±15	354±103	314±77 ^a	238±74 ^a	213±97 ^a	226±90 ^a	221±111 ^a	251±102 ^a
	Metoprolol	414±31	328±94 ^a	326±80 ^a	275±100 ^a	238±96 ^a	240±78 ^a	254±67 ^a	247±92 ^a

pHa = pH Arterial / PaCO₂ = Pressão Parcial de CO₂ Arterial / PaO₂ = Pressão Parcial de O₂ Arterial / HCO₃ = Bicarbonato / SvO₂ = Saturação Venosa Mista / K⁺ = Potássio / Na⁺ = Sódio / CaO₂ = Teor de Oxigênio Arterial / CvO₂ = Teor de Oxigênio Venoso / DO₂ = Fornecimento de Oxigênio / VO₂ = Consumo de Oxigênio / TeO₂ = Taxa de Extração de Oxigênio / PaO₂/FiO₂ = Relação PaO₂/FiO₂. ^a indica valor diferente de TB (p<0,05).

Lactato

Os valores séricos de lactato apresentaram um aumento significativo em relação aos valores basais em ambos os grupos, sendo este fato observado a partir de T120 e mantido até o término do período experimental (Figura 10).

Figura 10 - Valores médios e desvio padrão do nível sérico de lactato dos animais dos grupos Controle e Metoprolol. * Significativamente diferente de TB ($p < 0,05$).

Potássio (K^+)

Os níveis séricos de potássio apresentaram um aumento significativo em relação ao TB em ambos os grupos. Enquanto no grupo Metoprolol este foi observado inicialmente em T30 e depois novamente de T120 até T360, no

grupo Controle este aumento só foi observado nos últimos dois tempos avaliados (T300 e T360).

Excesso de base (EB)

Diferença significativa dos valores médios de excesso de base em relação aos valores basais foi observada em ambos os grupos. Tanto no grupo Controle como no grupo Metoprolol estes valores apresentaram-se significativamente reduzidos de T120 até o término do período experimental.

Hematócrito

Os valores médios de hematócrito estiveram significativamente mais elevados que no momento da avaliação basal deste parâmetro em ambos os grupos e em todos os momentos avaliados.

Conteúdo de Oxigênio Arterial (CaO_2) e Venoso (CvO_2)

Com exceção do tempo T120 do grupo Metoprolol, todos os outros momentos avaliados em ambos os grupos apresentaram valores significativamente mais elevados de conteúdo de oxigênio arterial que os observados em TB, conforme visto na Figura 11.

No que diz respeito ao CvO_2 , somente o grupo Controle apresentou aumento importante nos valores médios deste parâmetro quando comparado aos valores basais, sendo este observado com uma hora de infusão de bactérias e então no penúltimo momento avaliado (T300).

Oferta (DO_2) e Consumo (VO_2) de Oxigênio

Aumento significativo na oferta de oxigênio somente foi observado no grupo Controle ao término da infusão de bactérias (T120) e uma hora após o fim desta (T180), não diferindo entre grupos (Figura 12).

Já o consumo de oxigênio apresentou diferenças significativas em ambos os grupos quando comparado aos seus valores médios basais. No grupo Controle este parâmetro apresentou alteração significativa inicialmente ao término da infusão de bactérias, permanecendo assim até o término do período analisado. No grupo Metoprolol o primeiro momento avaliado onde esta alteração foi observada foi o T180, mantendo-se alterado também até T360 (Figura 13).

Taxa de Extração de Oxigênio (TeO_2)

A taxa de extração de oxigênio foi significativamente maior somente nos momentos T300 e T360 do grupo Metoprolol, quando comparado ao basal. Não houve diferença significativa entre os grupos.

Figura 11 - Valores médios e desvio padrão do conteúdo de oxigênio arterial dos animais dos grupos Controle e Metoprolol. * Significativamente diferente de TB ($p<0,05$).

Figura 12 - Valores médios e desvio padrão da oferta de oxigênio dos animais dos grupos Controle e Metoprolol. * Significativamente diferente de TB ($p<0,05$).

Figura 13 - Valores médios e desvio padrão do consumo de oxigênio dos animais dos grupos Controle e Metoprolol. * Significativamente diferente de TB ($p < 0,05$).

5.5 Estudo ecodopplercardiográfico

Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (FEVE)

A fração de ejeção do ventrículo esquerdo não apresentou nenhuma alteração nem ao longo do tempo e nem entre grupos, conforme demonstrado na Tabela 04.

Volume Diastólico (VDFVE) e Sistólico (VSFVE) Final do Ventrículo Esquerdo

Os animais do grupo Controle apresentaram uma redução importante do VDFVE em relação ao basal a partir dos 30 minutos de infusão de bactéria, o qual se manteve reduzido até o término do período experimental, enquanto os animais que receberam o metoprolol apresentaram esta redução somente a partir de T180. Entretanto, nenhuma diferença significativa foi observada entre grupos.

Assim como o volume diastólico, o volume sistólico final do VE também apresentou redução significativa em relação ao basal em ambos os grupos, sendo que esta foi observada a partir de T120 no grupo Controle e a partir de T180 no grupo Metoprolol.

5.6 Citocinas e marcadores cardíacos

Fator de Necrose Tumoral (TNF)-alfa

O TNF-alfa apresentou em ambos os grupos um aumento significativo ao término da infusão de bactérias (T120) quando comparado aos seus valores iniciais. Em T360 este aumento já não foi mais observado (Figura 14).

Tabela 04 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros ecocardiográficos dos animais dos grupos Controle e Metoprolol

Parâmetro	Grupo	Tempo							
		TB	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
FEVE	Controle	59,4±5,4	55,8±10,1	60,6±7,9	66,3±11,5	67,0±6,6	69,7±8,6	62,8±10,0	57,4±18,5
(%)	Metoprolol	61,3±4,5	59,7±7,0	65,2±6,7	65,6±7,9	66,2±8,5	59,3±6,9	62,9±9,1	62,3±16,2
VDFVE	Controle	30,6±4,7	22,1±8,6 ^a	22,7±8,0 ^a	17,9±4,0 ^a	14,0±4,1 ^a	14,3±5,8 ^a	11,5±5,2 ^a	14,0±9,9 ^a
(mL)	Metoprolol	27,1±4,0	22,6±5,8	24,5±6,2	21,5±6,6	16,8±6,1 ^a	14,2±4,9 ^a	12,4±3,7 ^a	10,5±7,4 ^a
VSFVE	Controle	12,4±2,8	9,6±4,0	9,8±3,3	6,0±2,7 ^a	4,6±1,6 ^a	4,8±3,3 ^a	4,0±1,6 ^a	5,5±5,0 ^a
(mL)	Metoprolol	10,5±2,1	9,4±2,8	8,5±2,9	7,5±2,7	5,8±2,9 ^a	5,7±2,1 ^a	4,7±2,2 ^a	4,4±4,4 ^a
ADFVE	Controle	13,3±1,3	10,9±2,6 ^a	11,1±2,7	9,8±1,6 ^a	8,6±1,6 ^a	8,4±1,9 ^a	7,5±2,5 ^a	7,5±2,9 ^a
(cm ²)	Metoprolol	12,4±0,9	11,0±2,0	11,5±1,9	10,8±2,1	9,1±1,9 ^a	8,2±1,7 ^a	7,5±1,3 ^a	6,7±2,9 ^a
ASFVE	Controle	7,4±1,1	6,4±1,6	6,2±2,1	4,8±1,2 ^a	4,2±1,0 ^a	4,1±1,5 ^a	3,8±1,1 ^a	4,2±2,2 ^a
(cm ²)	Metoprolol	6,7±0,6	6,2±1,5	6,0±1,5	5,6±1,6	4,7±1,4 ^a	4,5±1,0 ^a	4,1±1,3 ^a	3,8±2,4 ^a

FEVE = Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo / VDFVE = Volume Diastólico Final do Ventrículo Esquerdo / VSFVE = Volume Sistólico Final do Ventrículo Esquerdo / ADFVE = Área Diastólica Final do Ventrículo Esquerdo / ASFVE = Área Sistólica Final do Ventrículo Esquerdo. ^a indica valor diferente de TB (p<0,05).

Interleucina-1 β (IL-1 β)

Ambos os grupos apresentaram um aumento significativo nos valores de interleucina-1 β a partir de T120, sendo que este perdurou até o término do período analisado.

Interleucina-6 (IL-6)

Em relação aos valores de IL-6, estes também apresentaram um aumento significativo de seus valores médios desde T120 até T360 em ambos os grupos, sem diferença estatística significativa entre grupos.

Interleucina-10 (IL-10)

Ambos os grupos apresentaram uma elevação significativa dos valores de interleucina-10, tanto em T120 quanto em T360, não diferindo estatisticamente entre grupos.

Troponina I

Tanto os animais do grupo Controle como os do grupo Metoprolol apresentaram um aumento na concentração de troponina I sérica ao final da

infusão de bactérias, entretanto, somente nos animais do grupo Controle este aumento foi significativo (Figura 15).

Peptídio Natriurético do Tipo B (BNP)

Não foram observadas diferenças entre tempos ou entre grupos em relação ao peptídeo natriurético do tipo B.

Figura 14 - Fator alfa de necrose tumoral (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-10 (IL-10) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol. * Significativamente diferente de TB ($p < 0,05$).

Figura 15 - Troponina I (TNNI) e fator natriurético tipo-B (BNP) dos animais dos grupos Controle e Metoprolol. * Significativamente diferente de TB ($p < 0,05$).

Tabela 05 - Mediana e valores extremos (valor mínimo-valor máximo) da concentração sérica de citocinas e marcadores cardíacos dos animais dos grupos Controle e Metoprolol

Parâmetro	Grupo	Tempo		
		TB	T120	T360
TNF-alfa	Controle	119(48-277)-	235598(84953-292280) ^a	10483(4459-13522)
	Metoprolol	133(92-250)	128939(44869-393412) ^a	8321(1048-14535)
IL-1β	Controle	0,0(0,0-0,0)	361,3(41,2-732,0) ^a	4478,0(292,0-8414,0) ^a
	Metoprolol	0,0(0,0-0,0)	121,7(18,3-830,2) ^a	1518,0(931,2-1892,0) ^a
IL-6	Controle	0,0(0,0-0,9)	8033,0(2667,0-17997,0) ^a	28559,0(276,0-118571) ^a
	Metoprolol	0,0(0,0-10,2)	6411,0(3096,0-32150,0) ^a	18804,0(932,3-31551,0) ^a
IL-10	Controle	0,0(0,0-0,0)	61,2(25,6-93,1) ^a	26,8(12,2-52,1) ^a
	Metoprolol	0,0(0,0-0,0)	49,3(17,6-113,7) ^a	35,7(18,8-70,9) ^a
TNNI	Controle	1,0(0,6-1,7)	1,8(1,3-3,7) ^a	0,9(0,7-1,7)
	Metoprolol	1,1(0,7-3,6)	2,2(1,3-3,0)	1,0(0,8-1,5)
BNP	Controle	142(93-312)	122(99-299)	104(95-335)
	Metoprolol	164(68-440)	112(60-514)	161(97-485)

TNF- α = Fator de Necrose Tumoral Alfa / IL-1 β = Interleucina-1 β / IL-6 = Interleucina-6 / IL-10 = Interleucina-10 / TNNI = Troponina I / BNP = Peptídeo Natriurético do Tipo B. ^a indica valor diferente de TB ($p < 0,05$).

5.7 Débito urinário

O débito urinário, em mL/kg/h, reduziu significativamente ao longo do tempo em comparação com a primeira hora de estudo, se tornando nulo em alguns momentos, como pode ser observado na Figura 16.

Figura 16 - Valores médios e desvio padrão de débito urinário dos animais dos grupos Controle e Metoprolol. * Significativamente diferente da primeira hora ($p < 0,05$).

5.8 Quantidade total administrada de Ringer lactato, norepinefrina e dobutamina

A quantidade total administrada de fluido, vasopressor e inotrópico está listada na Tabela 06, sendo que a quantidade destes não diferiu significativamente entre grupos (Figura 17).

Tabela 06 – Quantidade total média e desvio padrão de Ringer lactato, norepinefrina e dobutamina administrada a cada animal dos grupos Controle e Metoprolol

Grupo	Tratamento		
	Ringer Lactato (mL)	Norepinefrina (μ g)	Dobutamina (μ g)
Controle	2323 $\pm$ 864	5840 $\pm$ 4027	857 $\pm$ 1540
Metoprolol	2368 $\pm$ 615	3049 $\pm$ 2154	547 $\pm$ 591

Figura 17 - Valores médios e desvio padrão da quantidade total de norepinefrina e dobutamina administrada aos animais dos grupos Controle e Metoprolol

5.9 Análise de sobrevivência

Embora não tenha havido diferença estatística significativa em relação à taxa de mortalidade neste estudo, quatro animais do grupo Metoprolol foram a óbito comparado a seis animais do grupo Controle, conforme observado na figura abaixo.

Figura 18 – Análise de sobrevivência em modelo experimental de choque séptico em suínos. A terapia com metoprolol não aumentou significativamente a taxa de sobrevivência quando comparado ao grupo Controle (Kaplan-Meier log rank test)

6 DISCUSSÃO

A sepse é uma resposta sistêmica e deletéria do hospedeiro a um estímulo infeccioso e que pode levar à sepse severa com disfunção secundária aguda de órgãos, ou ainda a um quadro de choque séptico (sepse severa com hipotensão não reversível por ressuscitação volêmica)¹⁵. A sepse é a principal geradora de custos nos setores público e privado do Brasil, e de acordo com o estudo PROGRESS, o índice de mortalidade em UTIs brasileiras por esta causa está acima de 50%^{4,6}. Por todos estes motivos, a busca por novas alternativas terapêuticas é constante e justificada.

Agentes bloqueadores de receptores beta-adrenérgicos são comumente utilizados em diversas situações onde alterações cardíacas importantes estão presentes. Sabe-se, por exemplo, que a exposição prolongada do coração a altas concentrações de catecolaminas circulantes tem sido associada à disfunção cardíaca e ao remodelamento cardíaco, e que a estimulação excessiva de receptores beta-adrenérgicos está diretamente relacionada com a falência cardíaca, justificando portanto, o uso destes agentes^{31,32}.

Na sepse, além da excessiva ativação do sistema nervoso adrenérgico, pacientes que estão em choque séptico recebem uma quantidade substancial de catecolaminas exógenas, e esse excesso de estimulação adrenérgica, assim como na insuficiência crônica, é prejudicial à função cardíaca³³. A quase totalidade dos estudos realizados com beta-bloqueadores em pacientes sépticos demonstrou benefícios em relação a diversos fatores, porém, mesmo

que esta terapia se mostre adequada, uma dosagem excessiva de beta-bloqueador pode apresentar efeitos inotrópicos negativos e causar uma falha da bomba cardíaca em um coração já deprimido pela sepse, levando a um débito cardíaco inapropriadamente baixo e à congestão pulmonar^{34,35}.

Este estudo foi o primeiro a avaliar o uso de um beta-bloqueador no modelo de sepse em suínos através da infusão intravenosa de *E. coli*, em especial associado ao uso do tratamento convencional com vasopressores e inotrópicos. A escolha pela avaliação da terapia com fármacos bloqueadores de receptores β 1-adrenérgicos foi devido a diversos estudos e revisões que demonstram ou citam vantagens quando do uso destes fármacos em pacientes sépticos, incluindo uma redução dos níveis séricos de citocinas inflamatórias, menor ocorrência de lesão tecidual pulmonar, citando que estes poderiam ser benéficos em pacientes com doenças coronarianas e disfunção miocárdica devido à sepse, além de reduzir inclusive a taxa de mortalidade^{21,26,33,36}. A escolha do metoprolol se deve primeiramente ao fato deste ser seletivo para receptores β 1-adrenérgicos, poupando o bloqueio de receptores β 2, os quais podem possuir propriedades cardioprotetoras²⁴. E em segundo lugar, estudos como o de Ackland e colaboradores demonstraram que o bloqueio de receptores adrenérgicos β 1 pelo metoprolol demonstrou efeitos antiinflamatórios e cardioprotetores, inclusive associado à uma redução da mortalidade quando se iniciou a administração deste antes do insulto séptico³⁶. Este estudo demonstrou a viabilidade do uso de metoprolol em uma situação de alteração cardiovascular extrema, neste caso uma situação de choque séptico.

Como esperado em casos de sepse, um estado hiperadrenérgico foi inicialmente observado em nosso estudo. Até os 30 minutos da infusão de bactérias esse quadro foi marcante, com um aumento de diversos parâmetros hemodinâmicos. A frequência cardíaca, por exemplo, aumentou progressivamente, sendo que aos 30 minutos esta havia tido um aumento de 40% no GC ($p=0,03$) e de 34% no GM ($p=0,324$). Simultaneamente, as pressões arterial sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) também aumentaram tanto no GC como no GM [PAS: em média +22% ($p=0,049$) e 26% ($p=0,009$); PAM: em média +31% ($p<0,001$) e +32% ($p<0,001$), respectivamente e PAD: em média +43% ($<0,001$) para ambos os grupos]. Este aumento da pressão arterial sistêmica esteve relacionado ao aumento da FC em conjunto com o aumento da resistência vascular sistêmica ocorrido neste período em ambos os grupos (+84% no GC e +90% no GM; $p<0,001$). Esses dados corroboram com os obtidos por Aboab e colaboradores ao utilizaram um infusão de esmolol em suínos previamente submetidos à infusão de LPS durante um período de 30 minutos²⁶.

Essas alterações são comumente observadas em pacientes sépticos, uma vez que a sepse é responsável por uma excessiva estimulação adrenérgica³⁷, apresentando elevados níveis de catecolaminas na circulação sistêmica³⁸, sendo que o bloqueio beta-adrenérgico tem sido proposto como uma estratégia para contrabalançar as consequências devastadoras deste estado hiperadrenérgico²¹, conforme já citado anteriormente. Em nosso estudo, os animais que receberam terapia com beta-bloqueadores também apresentaram a fase hiperdinâmica, porém, alguns detalhes merecem nossa atenção neste período. Apesar dos animais do grupo Metoprolol haverem apresentado uma

frequência cardíaca maior na avaliação basal e de não ter ocorrido diferença estatística entre grupos, é interessante observar que este parâmetro se manteve com valores inferiores ao Controle desde os 30 minutos de infusão de bactéria até o penúltimo momento avaliado (T300), e apesar desta FC com valores médios mais reduzidos, apresentou melhores valores médios de PAM neste período, com exceção de T60. Era esperado o fato da manutenção de valores médios de frequência cardíaca mais baixos em animais tratados com beta-bloqueador, uma vez que esta é uma de suas finalidades³⁵. Contudo, em nosso estudo não titulamos a dose deste fármaco para reduzir a frequência cardíaca, mas, ao invés disto, extrapolamos a dose comumente administrada em humanos quando pela via intravenosa.

Assim também como observado por Aboab et al.²⁶, um aumento de mais de 100% nos valores médios de PAPm ocorreu no presente estudo. Suínos estão entre os modelos animais mais estudados, principalmente devido ao fato de ser muito semelhante aos humanos em várias funções, como as características cardiovasculares e respiratórias. Porém, suínos, assim como ovinos, são muito sensíveis à administração de endotoxinas. Relata-se que suínos demonstram um aumento dramático na pressão arterial pulmonar (PAP) mesmo em resposta a doses extremamente baixas de endotoxinas³⁹, sendo que o presente estudo demonstrou que esta afirmação também é verdadeira quando da infusão de bactérias ao invés de endotoxinas.

Esta diferença em relação a outras espécies explica-se em parte pela quantidade abundante de macrófagos pulmonares intravasculares e pela diferença da túnica média dos vasos pulmonares nos pulmões desta espécie^{40,41}. Os macrófagos pulmonares intravasculares, quando da infusão de

endotoxina, liberam rapidamente uma grande quantidade de tromboxano A₂, um potente vasoconstritor pulmonar, o que produz uma hipertensão pulmonar grave, que pode inclusive e eventualmente levar à disfunção do coração direito³⁹. Sendo assim, podemos facilmente afirmar que os efeitos pulmonares observados com infusão de endotoxina em suínos também são vistos neste modelo de infusão de bactérias, caracterizado aqui por um aumento inicial de 180% dos valores médios de PAPm aos 30 minutos de infusão e um aumento extremamente expressivo (mais de 600%) do IRVP em ambos os grupos ($p<0,001$), causando uma sobrecarga do ventrículo direito, inclusive com desvio de septo e redução do volume e da área do ventrículo esquerdo, conforme foi demonstrado na Tabela 04.

A sensibilidade do ventrículo direito (VD) a alterações da resistência vascular pulmonar é conhecida, sendo estas alterações induzidas por diversos fatores, incluindo a ventilação mecânica, a utilização de pressão positiva no final da expiração, hipoxemia, acidose, além do próprio uso de medicamentos vasoativos. Embora a disfunção de VD não apresente correlação com o tempo de sobrevida, pacientes com esta alteração apresentam baixo débito cardíaco, doses mais altas de norepinefrina, bem como níveis séricos mais elevados de troponina e lactato quando comparados a pacientes com função miocárdica normal⁴².

Esta hipertensão pulmonar grave inicial gerando um aumento de volume de coração direito, o qual pode ser visto através de ecocardiografia transesofágica, refletiu ainda em um aumento inicial significativo da pressão venosa central (PVC) em T30 tanto no grupo Controle como no grupo que recebeu metoprolol ($p<0,001$). Em todos os outros tempos deste estudo, os

parâmetros de PVC foram mantidos dentro da faixa de 8-12 mmHg. Optou-se pela manutenção deste parâmetro dentro destes limites para seguir as recomendações sugeridas pela Surviving Sepsis Campaign de 2012 e também seguindo o protocolo estabelecido por Rivers et al.^{15,43}. Embora haja limitações da PVC como um marcador do volume intravascular e da resposta à fluidoterapia, uma baixa PVC geralmente pode ser considerado um indicador confiável de que haverá uma resposta positiva ao desafio volêmico¹⁵. Alguns estudos têm demonstrado que pacientes com valores de PVC mantidos entre 8 e 12 mmHg apresentaram uma taxa de sobrevivência maior do que pacientes com valores mais elevados⁴⁴.

Ainda em relação a essa fase inicial de choque séptico, enquanto vários parâmetros hemodinâmicos costumam apresentar uma elevação de seus valores médios, é comum observar uma redução do índice cardíaco e do índice volume sistólico²⁶. Apesar dos valores médios de índice cardíaco de ambos os grupos estarem muito próximos em T30 no presente estudo, e destes não apresentarem diferença entre grupos, somente no grupo Metoprolol este parâmetro se apresentou reduzido significativamente em relação ao basal neste tempo [IC: em média -29% no GM ($p=0,018$) e -24% no GC ($p=0,191$)].

Em relação aos parâmetros ecocardiográficos, nenhum dos grupos apresentou alteração importante da fração de ejeção do ventrículo esquerdo, apesar de terem apresentado importante redução tanto das áreas quanto dos volumes diastólico e sistólico finais do VE, sendo esta alteração um pouco mais tardia no grupo Metoprolol, como pode ser visto na Tabela 04. Parâmetros ecocardiográficos são usados para acessar a disfunção miocárdica, a qual é comum em casos de sepse severa e choque séptico. Pulido e colaboradores

classificaram a disfunção sistólica em seu estudo como leve (FEVE, 41-50%), moderada (FEVE, 31-40%) e grave (FEVE<30%), porém, sugere que os diâmetros e volumes do VE são melhores marcadores prognósticos do que a fração de ejeção, por muitas vezes apresentarem maior correlação com a taxa de mortalidade do que este último⁴². A disfunção diastólica do ventrículo esquerdo é frequente na sepse e pode complicar o manejo desta síndrome, uma vez que reduz o índice terapêutico para a ressuscitação volêmica⁴⁵. Parte dos pacientes sépticos apresentam a FEVE e a função do ventrículo direito preservados, mesma na presença de disfunção diastólica. Já a disfunção sistólica, caracterizada por baixa fração de ejeção do ventrículo esquerdo e referida muitas vezes como a disfunção miocárdica "clássica" da sepse, algumas vezes não é observada, como foi o caso do estudo previamente citado e também de nosso estudo⁴².

Todos os animais apresentaram alterações semelhantes dos parâmetros respiratórios, com redução da complacência pulmonar, apesar desta não ter sido significativa em relação ao basal, e aumento significativo da pressão de platô. Cursando em conjunto com estas alterações, ambos os grupos apresentaram valores correspondentes a uma hipoxemia arterial moderada ($200 \text{ mmHg} < \text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300 \text{ mmHg}$)⁴⁶. Estes sinais, com seu início agudo, podem indicar a presença da instalação de um possível quadro de lesão pulmonar aguda (LPA)/síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) pelo fato de a sepse de origem não pulmonar ser um dos fatores de risco comum para o desenvolvimento deste quadro^{46,47}, porém não temos outros parâmetros para confirmar estes achados, como análise radiográfica ou

histológica, uma vez que este não era o foco de nosso estudo, sendo este somente um achado complementar.

Redução significativa do pH arterial foi observada em ambos os grupos como visto anteriormente. Apesar de não ser observada diferença significativa entre grupos também neste parâmetro, é interessante notarmos que exceto pelos valores médios da primeira hora de infusão de bactéria, no restante dos tempos analisados, os valores de pH permaneceram mais elevados no grupo Metoprolol, enquanto os níveis séricos de lactato, que eram mais baixos do que o do grupo Controle até T60, se mostraram menores até o término do período experimental, sendo que estes dois parâmetros podem estar diretamente relacionados. O lactato é um comumente utilizado como indicador de hipoperfusão tecidual, particularmente em casos de sepse. A mensuração dos níveis séricos de lactato é considerada um marcador de hipóxia tecidual e o seu valor prognóstico, bem como sua correlação com a mortalidade no choque já está bem estabelecida em vários modelos humanos e animais⁴⁸, sendo esta portanto uma importante observação e que talvez pudesse ser melhor explorada em estudos futuros juntamente com os outros dados destacados anteriormente para o grupo Metoprolol.

Muitos dos parâmetros observados, desde os hemodinâmicos até os parâmetros de oxigenação, apesar de não terem apresentado diferença estatística significativa entre grupos, mostram claramente uma diferença em seus valores médios, em especial nos últimos momentos analisados, como pode ser facilmente observado nas figuras acima, citando como exemplos o índice cardíaco e o volume sistólico mais baixos e os valores mais elevados dos índices de resistência vascular. Embora não saibamos a farmacocinética

do metoprolol na espécie suína, sabe-se que após sua administração intravenosa em humanos, este apresenta uma meia-vida de eliminação de cerca de três horas e meia⁴⁹. Esta falta de informação específica para a espécie torna mais difícil a análise destes achados e uma correlação destes com a administração do fármaco, não nos permitindo afirmar se estes são em função de um efeito já pouco pronunciado do metoprolol ou então consequência dos efeitos produzidos por este durante a fase inicial de nosso estudo.

Outra ocorrência importante e que não apresentou diferença na análise estatística foi a quantidade total de norepinefrina e dobutamina utilizada. A quantidade média de norepinefrina administrada no grupo Metoprolol foi 48% menor do que a quantidade média administrada ao grupo Controle, enquanto a quantidade de dobutamina foi 36% menor neste mesmo grupo. Embora a norepinefrina seja a primeira linha no tratamento da hipotensão relacionada à sepse¹⁵, a excessiva administração de catecolaminas e estimulação adrenérgica apresenta numerosos efeitos adversos na função cardíaca⁵⁰⁻⁵². Sendo assim, terapias adjuvantes que permitam a redução do uso destes fármacos são desejáveis e merecem nossa atenção. Em um estudo clínico de fase 2, Morelli et al.²⁷ demonstraram que a associação do esmolol ao tratamento convencional aumentou o volume sistólico, não promoveu redução da pressão arterial média, e ainda reduziu o requerimento de norepinefrina sem aumentar a necessidade de suporte inotrópico. Manutenção adequada dos parâmetros hemodinâmicos e de oxigenação foi também observada por Balik e colaboradores⁵³ em um estudo onde a infusão de esmolol foi mantida por 24 horas em pacientes com choque séptico e tratados com norepinefrina. Esta

administração foi considerada segura, desde que os pacientes sejam monitorados apropriadamente.

Outro mecanismo que parece desempenhar um papel central na injúria do miocárdio é a produção excessiva de citocinas^{12,20}. Está bem estabelecido que receptores β -adrenérgicos estão envolvidos na modulação do sistema imune⁵⁴, e portanto, o bloqueio destes receptores poderia influenciar na resposta inflamatória de pacientes sépticos. Porém, ao contrário de outros estudos que obtiveram uma redução da concentração sérica de citocinas pró-inflamatórias com o uso de beta-bloqueadores^{25,55}, em nosso estudo todas as citocinas avaliadas (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10) apresentaram um aumento significativo em ambos os grupos de nosso estudo ($p < 0,001$), não apresentando vantagem na administração do metoprolol.

Marcadores biológicos específicos de injúria e disfunção cardiovascular incluem a troponina cardíaca e os peptídeos natriuréticos. Tanto os animais do grupo Controle como os que receberam metoprolol apresentaram um comportamento semelhante para ambos os marcadores cardíacos avaliados neste estudo. Entretanto, somente no grupo Controle houve um aumento significativo da TNNI em T120 quando comparado ao basal. A utilidade da troponina como um marcador de lesão miocárdica se deve à sua origem especificamente da musculatura cardíaca, havendo uma correlação entre a elevação sérica da troponina I cardíaca e o desenvolvimento de disfunção miocárdica no choque séptico⁵⁶. Apesar de não reduzir a concentração de troponina em nosso modelo, o uso de metoprolol já demonstrou em outro estudo algum grau de proteção miocárdica, sendo a concentração de troponina mais baixa no grupo que recebeu este medicamento e com menor ocorrência

de lesão miocárdica⁵⁷. E apesar do mecanismo da elevação deste marcador ainda não ser completamente compreendido no choque séptico, a troponina elevada identifica um subconjunto de pacientes com sepse que apresenta maior risco de mortalidade⁵⁸.

Já o peptídeo natriurético do tipo B (BNP) é secretado predominantemente por miócitos ventriculares, e que se encontra em concentrações elevadas em diversas condições, tais como disfunção sistólica e diastólica, alterações cardíacas que causem aumento de volume do coração, entre outras^{59,60}. Porém, mesmo com importantes alterações cardíacas observadas através de ecocardiografia em nosso estudo, nenhuma alteração significativa foi observada nos animais avaliados.

O grupo Metoprolol apresentou dois óbitos a menos (quatro animais) do que o grupo Controle, entretanto esta diferença não apresentou significância estatística, o que pode estar associado à forma e tempo de administração, e/ou à dose administrada. Em um estudo utilizando metoprolol em ratos submetidos à sepse experimentalmente através da administração de lipopolissacarídeo (LPS), o uso deste fármaco esteve associado a um incremento na taxa de sobrevivência quando administrado 48 horas antes do LPS, porém este não apresentou nenhuma vantagem quando administrado após o a indução da sepse³⁶. Outro estudo publicado recentemente e avaliando dados de mais de 9000 pacientes, demonstrou uma importante redução na mortalidade em pacientes pré-tratados com beta-bloqueadores e que posteriormente desenvolveram sepse grave²⁸. A administração de metoprolol iniciou-se concomitantemente à infusão de bactérias no presente estudo, o que talvez possa representar a ausência de diferenças significativas na taxa de

sobrevivência. Porém, nosso objetivo era estudar a utilização do metoprolol como adjuvante no tratamento da sepse, e não estudá-lo como um modelo de pacientes pré-tratados com beta-bloqueadores e que desenvolveram um quadro de sepse.

6.1 Limitações do estudo

Beta-bloqueadores são utilizados como parte de protocolos que visam reduzir alterações cardíacas devido à estimulação beta-adrenérgica excessiva e prolongada, e uma vez que nosso modelo é um estudo agudo, talvez não seja suficiente para observar alterações realmente importantes na função miocárdica. Além disso, a utilização de um modelo experimental agudo de sepse grave em suínos causa uma elevação extremamente exacerbada da pressão arterial pulmonar média e da IRVP, levando a um aumento ventricular direito agudo, o que pode interferir em um estudo onde a função miocárdica é de extrema importância. Esse aumento excessivo da PAPm pode ser atenuado com modelos mais “crônicos”, como o de peritonite fecal⁶¹.

Sabe-se que a farmacocinética de qualquer fármaco é alterada em função de diversos fatores, dentre eles a espécie onde está sendo utilizado. Pelo que sabemos, até o momento não existem estudos de farmacocinética do metoprolol em suínos, e além disso, diferentes estudos utilizam doses diferenciadas deste fármaco. Um possível ajuste de dose talvez pudesse possibilitar a obtenção de diferentes resultados.

7 CONCLUSÃO

A administração intravenosa de metoprolol não apresentou diferença significativa em nenhum dos parâmetros analisados nos animais deste modelo de choque séptico, quando comparada ao grupo que recebeu solução salina. Porém, em um cenário onde a administração de beta-bloqueadores está em constante crescimento, é de grande importância verificar que a terapia com estes fármacos não apresenta efeitos deletérios em pacientes sépticos. Além disso, alguns dados deste estudo merecem atenção, dentre os quais podemos ressaltar os níveis mais baixos de lactato no grupo tratado com metoprolol, com valores mais adequados de pH arterial e a menor quantidade de norepinefrina e dobutamina necessária.

8 ANEXOS

Anexo A - Aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

A CEUA do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 14/12/2011, APROVOU o Protocolo de Pesquisa nº 492/11 intitulado: "ESTUDO DOS EFEITOS CARDIOPROTETORES DO ESMOLOL EM MODELO EXPERIMENTAL DE CHOQUE SÉPTICO" que utilizará 20 animais da espécie suínos, apresentado pelo Departamento de CIRURGIA

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, o relatório final sobre a pesquisa, (Lei Procedimentos para o Uso Científico de Animais - Lei Nº 11.794 -8 de outubro de 2008).

Pesquisador (a) Responsável: José Otávio Costa Auler Junior

Pesquisador (a) Executante: André Luis Corrêa

CEP-FMUSP, 15 de Dezembro de 2011.

Dr. Eduardo Pompeu
Coordenador
Comissão de Ética no Uso de Animais

Prof. Dr. Paulo Eurípedes Marchiori
Vice-Coordenador interino
Comitê de Ética em Pesquisa

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina
e-mail: cep.fmusp@hcnet.usp.br

Anexo B - Aprovação da alteração de título do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

CIÊNCIA

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 22 de Agosto de 2013, **TOMOU CIÊNCIA** do(s) documento(s) abaixo mencionado(s) no Protocolo de Pesquisa nº 492/11, intitulado: "ESTUDO DOS EFEITOS CARDIOPROTETORES DO ESMOLOL EM MODELO EXPERIMENTAL DE CHOQUE SÉPTICO" apresentado pelo Departamento de CIRURGIA.

•Mudança de título para: Estudo dos efeitos cardioprotetores do metoprolol em modelo experimental de choque séptico

Pesquisador (a) Responsável: **Dra. Denise Aya Otsuki**

Pesquisador (a) Executante: **André Luis Correa**

CEP-FMUSP, 22 de Agosto de 2013

Prof. Dr. Roger Chammas
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

9 REFERÊNCIAS

1. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin*. 2009 Jan;25(1):83-101.
2. Karamanou M, Panayiotakopoulos G, Tsoucalas G, Kousoulis AA, Androutsos G. From miasmas to germs: a historical approach to theories of infectious disease transmission. *Infez Med*. 2012 Mar;20(1):58-62.
3. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003 Apr;31(4):1250-6.
4. Silva E, Pedro Mde A, Sogayar AC, Mohovic T, Silva CL, Janiszewski M, et al. Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). *Crit Care*. 2004 Aug;8(4):R251-60.
5. Martin JB, Wheeler AP. Approach to the patient with sepsis. *Clin Chest Med*. 2009 Mar;30(1):1-16.
6. Beale R, Reinhart K, Brunkhorst FM, Dobb G, Levy M, Martin G, et al. Promoting Global Research Excellence in Severe Sepsis (PROGRESS): lessons from an international sepsis registry. *Infection*. 2009 Jun;37(3):222-32.
7. Zanotti-Cavazzoni SL, Hollenberg SM. Cardiac dysfunction in severe sepsis and septic shock. *Curr Opin Crit Care*. 2009 Oct;15(5):392-7.

8. Parker MM, Shelhamer JH, Bacharach SL, Green MV, Natanson C, Frederick TM, et al. Profound but reversible myocardial depression in patients with septic shock. *Ann Intern Med.* 1984 Apr;100(4):483-90.
9. Vieillard-Baron A, Caille V, Charron C, Belliard G, Page B, Jardin F. Actual incidence of global left ventricular hypokinesia in adult septic shock. *Crit Care Med.* 2008 Jun;36(6):1701-6.
10. Jardin F, Fourme T, Page B, Loubieres Y, Vieillard-Baron A, Beauchet A, et al. Persistent preload defect in severe sepsis despite fluid loading: A longitudinal echocardiographic study in patients with septic shock. *Chest.* 1999 Nov;116(5):1354-9.
11. Hunter JD, Doddi M. Sepsis and the heart. *Br J Anaesth.* 2010 Jan;104(1):3-11.
12. Natanson C, Eichenholz PW, Danner RL, Eichacker PQ, Hoffman WD, Kuo GC, et al. Endotoxin and tumor necrosis factor challenges in dogs simulate the cardiovascular profile of human septic shock. *J Exp Med.* 1989 Mar 1;169(3):823-32.
13. Kumar A, Thota V, Dee L, Olson J, Uretz E, Parrillo JE. Tumor necrosis factor alpha and interleukin 1beta are responsible for in vitro myocardial cell depression induced by human septic shock serum. *J Exp Med.* 1996 Mar 1;183(3):949-58.
14. Singer M. Catecholamine treatment for shock--equally good or bad? *Lancet.* 2007 Aug 25;370(9588):636-7.

15. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med*. 2013 Feb;41(2):580-637.
16. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit Care Med*. 2008 Jan;36(1):296-327.
17. Patel GP, Grahe JS, Sperry M, Singla S, Elpern E, Lateef O, et al. Efficacy and safety of dopamine versus norepinephrine in the management of septic shock. *Shock*. 2010 Apr;33(4):375-80.
18. Rosario AL, Park M, Brunialti MK, Mendes M, Rapozo M, Fernandes D, et al. SvO₂-guided resuscitation for experimental septic shock: effects of fluid infusion and dobutamine on hemodynamics, inflammatory response, and cardiovascular oxidative stress. *Shock*. 2011 Dec;36(6):604-12.
19. Katzung BG. Basic & clinical pharmacology. 9th ed. Michigan University: Lange Medical Books; 2003. 1202 p.
20. Rudiger A, Singer M. Mechanisms of sepsis-induced cardiac dysfunction. *Crit Care Med*. 2007 Jun;35(6):1599-608.
21. Novotny NM, Lahm T, Markel TA, Crisostomo PR, Wang M, Wang Y, et al. beta-Blockers in sepsis: reexamining the evidence. *Shock*. 2009 Feb;31(2):113-9.
22. Berk JL, Hagen JF, Beyer WH, Gerber MJ, Dochat GR. The treatment of endotoxin shock by beta adrenergic blockade. *Ann Surg*. 1969 Jan;169(1):74-81.

23. Leroy MJ, Dallot E, Czerkiewicz I, Schmitz T, Breuiller-Fouche M. Inflammation of choriodecidua induces tumor necrosis factor alpha-mediated apoptosis of human myometrial cells. *Biol Reprod.* 2007 May;76(5):769-76.
24. Patterson AJ, Zhu W, Chow A, Agrawal R, Kosek J, Xiao RP, et al. Protecting the myocardium: a role for the beta2 adrenergic receptor in the heart. *Crit Care Med.* 2004 Apr;32(4):1041-8.
25. Hagiwara S, Iwasaka H, Maeda H, Noguchi T. Landiolol, an ultrashort-acting beta1-adrenoceptor antagonist, has protective effects in an LPS-induced systemic inflammation model. *Shock.* 2009 May;31(5):515-20.
26. Aboab J, Sebillé V, Jourdain M, Mangalaboyi J, Gharbi M, Mansart A, et al. Effects of esmolol on systemic and pulmonary hemodynamics and on oxygenation in pigs with hypodynamic endotoxin shock. *Intensive Care Med.* 2011 Aug;37(8):1344-51.
27. Morelli A, Ertmer C, Westphal M, Rehberg S, Kampmeier T, Ligges S, et al. Effect of heart rate control with esmolol on hemodynamic and clinical outcomes in patients with septic shock: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2013 Oct 23;310(16):1683-91.
28. Macchia A, Romero M, Comignani PD, Mariani J, D'Ettorre A, Prini N, et al. Previous prescription of beta-blockers is associated with reduced mortality among patients hospitalized in intensive care units for sepsis. *Crit Care Med.* 2012 Oct;40(10):2768-72.

29. Garrido AG, Poli de Figueiredo LF, Cruz RJ, Jr., Silva E, Rocha ESM. Short-lasting systemic and regional benefits of early crystalloid infusion after intravenous inoculation of dogs with live *Escherichia coli*. *Braz J Med Biol Res*. 2005 Jun;38(6):873-84.
30. Rahal L, Garrido AG, Cruz RJ, Jr., Silva E, Poli-de-Figueiredo LF. Fluid replacement with hypertonic or isotonic solutions guided by mixed venous oxygen saturation in experimental hypodynamic sepsis. *J Trauma*. 2009 Dec;67(6):1205-12.
31. Babick A, Elimban V, Zieroth S, Dhalla NS. Reversal of Cardiac Dysfunction and Subcellular Alterations by Metoprolol in Heart Failure Due to Myocardial Infarction. *J Cell Physiol*. 2013 Oct;228(10):2063-70.
32. Adameova A, Abdellatif Y, Dhalla NS. Role of the excessive amounts of circulating catecholamines and glucocorticoids in stress-induced heart disease. *Can J Physiol Pharmacol*. 2009 Jul;87(7):493-514.
33. de Montmollin E, Aboab J, Mansart A, Annane D. Bench-to-bedside review: Beta-adrenergic modulation in sepsis. *Crit Care*. 2009;13(5):230.
34. Rudiger A. Beta-block the septic heart. *Crit Care Med*. 2010 Oct;38(10 Suppl):S608-12.
35. Schmittinger CA, Dunser MW, Haller M, Ulmer H, Luckner G, Torgersen C, et al. Combined milrinone and enteral metoprolol therapy in patients with septic myocardial depression. *Crit Care*. 2008;12(4):R99.

36. Ackland GL, Yao ST, Rudiger A, Dyson A, Stidwill R, Poputnikov D, et al. Cardioprotection, attenuated systemic inflammation, and survival benefit of beta1-adrenoceptor blockade in severe sepsis in rats. *Crit Care Med*. 2010 Feb;38(2):388-94.
37. Bergmann M, Gornikiewicz A, Sautner T, Waldmann E, Weber T, Mittlbock M, et al. Attenuation of catecholamine-induced immunosuppression in whole blood from patients with sepsis. *Shock*. 1999 Dec;12(6):421-7.
38. Annane D, Trabold F, Sharshar T, Jarrin I, Blanc AS, Raphael JC, et al. Inappropriate sympathetic activation at onset of septic shock: a spectral analysis approach. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999 Aug;160(2):458-65.
39. Schmidhammer R, Wassermann E, Germann P, Redl H, Ullrich R. Infusion of increasing doses of endotoxin induces progressive acute lung injury but prevents early pulmonary hypertension in pigs. *Shock*. 2006 Apr;25(4):389-94.
40. Winkler GC, Cheville NF. Monocytic origin and postnatal mitosis of intravascular macrophages in the porcine lung. *J Leukoc Biol*. 1985 Oct;38(4):471-80.
41. Tucker A, Rhodes J. Role of vascular smooth muscle in the development of high altitude pulmonary hypertension: an interspecies evaluation. *High Alt Med Biol*. 2001 Summer;2(2):173-89.
42. Pulido JN, Afessa B, Masaki M, Yuasa T, Gillespie S, Herasevich V, et al. Clinical spectrum, frequency, and significance of myocardial dysfunction in severe sepsis and septic shock. *Mayo Clin Proc*. 2012 Jul;87(7):620-8.

43. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*. 2001 Nov 8;345(19):1368-77.
44. Boyd JH, Forbes J, Nakada TA, Walley KR, Russell JA. Fluid resuscitation in septic shock: a positive fluid balance and elevated central venous pressure are associated with increased mortality. *Crit Care Med*. 2011 Feb;39(2):259-65.
45. Brown SM, Pittman JE, Hirshberg EL, Jones JP, Lanspa MJ, Kuttler KG, et al. Diastolic dysfunction and mortality in early severe sepsis and septic shock: a prospective, observational echocardiography study. *Crit Ultrasound J*. 2012;4(1):8.
46. Force ADT, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA*. 2012 Jun 20;307(23):2526-33.
47. Ferguson ND, Fan E, Camporota L, Antonelli M, Anzueto A, Beale R, et al. The Berlin definition of ARDS: an expanded rationale, justification, and supplementary material. *Intensive Care Med*. 2012 Oct;38(10):1573-82.
48. Jones AE, Puskarich MA. Sepsis-induced tissue hypoperfusion. *Crit Care Clin*. 2009 Oct;25(4):769-79.
49. Regardh CG, Borg KO, Johansson R, Johnsson G, Palmer L. Pharmacokinetic studies on the selective beta1-receptor antagonist metoprolol in man. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1974 Aug;2(4):347-64.

50. Burniston JG, Ellison GM, Clark WA, Goldspink DF, Tan LB. Relative toxicity of cardiostatic agents: some induce more cardiac and skeletal myocyte apoptosis and necrosis in vivo than others. *Cardiovasc Toxicol*. 2005 Fall;5(4):355-64.
51. Chopra M, Das P, Golden H, Dostal DE, Watson LE, Sharma AC. Norepinephrine induces systolic failure and inhibits antiapoptotic genes in a polymicrobial septic rat model. *Life Sci*. 2010 Dec 18;87(23-26):672-8.
52. Singer M, Glynne P. Treating critical illness: the importance of first doing no harm. *PLoS Med*. 2005 Jun;2(6):e167.
53. Balik M, Rulisek J, Leden P, Zakharchenko M, Otahal M, Bartakova H, et al. Concomitant use of beta-1 adrenoreceptor blocker and norepinephrine in patients with septic shock. *Wien Klin Wochenschr*. 2012 Aug;124(15-16):552-6.
54. Schmitz D, Wilsenack K, Lendemanns S, Schedlowski M, Oberbeck R. beta-Adrenergic blockade during systemic inflammation: impact on cellular immune functions and survival in a murine model of sepsis. *Resuscitation*. 2007 Feb;72(2):286-94.
55. Ulleryd MA, Bernberg E, Yang LJ, Bergstrom GM, Johansson ME. Metoprolol reduces proinflammatory cytokines and atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice. *Biomed Res Int*. 2014;2014:548783.
56. Mehta NJ, Khan IA, Gupta V, Jani K, Gowda RM, Smith PR. Cardiac troponin I predicts myocardial dysfunction and adverse outcome in septic shock. *Int J Cardiol*. 2004 May;95(1):13-7.

57. Rossi Neto JM, Gun C, Ramos RF, Almeida AFS, Issa M, Amato VL, et al. Myocardial protection with prophylactic oral metoprolol during coronary artery bypass grafting surgery: evaluation by troponin I. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2013;28(4):6.
58. Bessiere F, Khenifer S, Dubourg J, Durieu I, Lega JC. Prognostic value of troponins in sepsis: a meta-analysis. *Intensive Care Med.* 2013 Jul;39(7):1181-9.
59. Domico M, Checchia PA. Biomarkers of cardiac injury and performance: B-type natriuretic peptide and troponin as monitors of hemodynamics and oxygen transport balance. *Pediatr Crit Care Med.* 2011 Jul;12(4 Suppl):S33-42.
60. Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic peptides. *N Engl J Med.* 1998 Jul 30;339(5):321-8.
61. Correa TD, Vuda M, Blaser AR, Takala J, Djafarzadeh S, Dunser MW, et al. Effect of treatment delay on disease severity and need for resuscitation in porcine fecal peritonitis. *Crit Care Med.* 2012 Oct;40(10):2841-9.

APÊNDICES

Apendicê A – Valores individuais de alguns dos parâmetros avaliados neste estudo, com as respectivas médias e desvios padrão (DP) dos grupos Controle e Metoprolol.

FC

	Controle								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 1	111	108	130	132	142	171	151	138	155
Animal 4	93	101	160	202	153	211	-	-	-
Animal 7	94	107	97	114	167	183	-	-	-
Animal 11	107	108	147	160	203	186	204	204	197
Animal 12	111	109	135	141	163	174	178	-	-
Animal 14	98	118	117	130	167	217	218	226	-
Animal 15	97	71	164	144	202	210	205	-	-
Animal 18	125	128	181	204	163	175	185	195	183
Animal 19	121	147	165	153	190	210	208	215	217
Animal 20	91	100	120	132	145	186	185	179	-
Média	105	110	142	151	170	192	192	193	188
DP	12	20	26	30	22	18	21	31	26

	Metoprolol								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 2	134	129	138	134	152	163	205	209	205
Animal 3	115	116	120	152	156	194	189	-	-
Animal 5	119	126	143	142	175	92	-	-	-
Animal 6	106	117	132	131	159	182	-	-	-
Animal 8	74	92	97	100	116	145	155	186	216
Animal 9	116	114	115	117	170	193	172	171	172
Animal 10	92	99	160	120	183	201	208	135	-
Animal 13	160	160	184	158	195	235	212	182	158
Animal 16	89	96	116	107	143	175	170	149	198
Animal 17	105	108	172	153	176	186	179	180	170
Média	111	116	138	131	163	177	186	173	187
DP	24	20	28	20	23	38	21	25	23

PAM

	Controle								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 1	69	78	87	82	66	64	75	81	85
Animal 4	72	64	63	68	46	46	-	-	-
Animal 7	74	96	89	65	57	51	-	-	-
Animal 11	76	78	90	72	59	55	67	65	66
Animal 12	67	81	101	79	62	64	60	-	-
Animal 14	66	91	101	67	60	56	56	59	-
Animal 15	77	115	113	76	52	43	38	19	-
Animal 18	93	98	96	86	42	46	43	44	38
Animal 19	83	108	112	71	63	61	64	67	70
Animal 20	65	77	117	87	57	57	55	50	-
Média	74	89	97	75	56	54	57	55	65
DP	9	16	16	8	8	8	12	20	20

	Metoprolol								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 2	66	80	97	65	66	87	80	39	42
Animal 3	69	76	101	89	47	62	73	-	-
Animal 5	84	99	88	58	55	28	-	-	-
Animal 6	70	102	111	67	58	48	-	-	-
Animal 8	76	97	104	80	65	72	73	67	56
Animal 9	77	114	113	69	64	65	68	67	39
Animal 10	70	75	86	67	61	67	60	36	-
Animal 13	81	76	92	76	59	67	69	67	70
Animal 16	77	86	105	80	65	76	84	81	72
Animal 17	71	84	79	62	63	66	75	63	78
Média	74	89	98	71	60	64	73	60	60
DP	6	13	11	10	6	16	7	16	16

SvO₂

	Controle								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 1	74	79	76	78	84	84	79	76	78
Animal 4	79	86	74	74	73	64	-	-	-
Animal 7	86	85	77	78	83	47	-	-	-
Animal 11	79	86	66	85	67	80	88	86	85
Animal 12	86	76	81	82	80	79	63	-	-
Animal 14	84	79	65	8	87	81	78	64	43
Animal 15	77	73	86	90	77	86	65	62	-
Animal 18	90	89	64	81	65	64	64	67	61
Animal 19	80	79	62	73	79	83	81	81	69
Animal 20	73	63	90	88	88	85	76	66	-
Média	81	80	74	74	78	75	74	72	67
DP	6	8	10	24	8	13	9	9	16

	Metoprolol								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 2	79	82	83	78	85	81	69	73	66
Animal 3	80	81	78	74	76	65	56	-	-
Animal 5	87	63	69	71	-	-	-	-	-
Animal 6	82	80	72	-	-	-	-	-	-
Animal 8	85	86	80	91	93	93	89	76	52
Animal 9	87	86	77	88	86	78	79	66	48
Animal 10	86	80	70	86	89	84	78	33	-
Animal 13	80	73	68	75	79	84	81	79	81
Animal 16	82	71	80	85	89	89	84	73	70
Animal 17	81	59	63	76	78	81	77	60	86
Média	83	76	74	80	84	82	77	66	67
DP	3	9	6	7	6	8	10	16	15

IC

Controle									
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 1	5,0	-	5,7	5,3	6,8	6,2	5,3	5,0	5,9
Animal 4	3,9	-	2,3	4,3	5,6	3,9	-	-	-
Animal 7	3,3	-	2,7	3,1	5,3	4,4	-	-	-
Animal 11	3,4	-	2,3	2,8	6,5	5,6	6,3	5,0	4,1
Animal 12	4,5	-	3,6	4,7	6,4	5,1	3,4	-	-
Animal 14	3,1	-	1,9	3,4	5,7	4,9	3,4	1,8	-
Animal 15	2,8	-	2,6	2,6	3,3	3,7	2,4	-	-
Animal 18	5,5	-	1,7	3,3	2,4	2,8	3,1	3,3	2,5
Animal 19	3,4	-	1,9	2,9	4,0	5,0	5,2	4,0	2,9
Animal 20	3,5	-	4,2	4,7	5,0	5,0	3,9	3,0	-
Média	3,8	-	2,9	3,7	5,1	4,7	4,1	3,7	3,9
DP	0,9	-	1,3	1,0	1,5	1,0	1,3	1,2	1,5

Metoprolol									
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 2	4,5	-	3,4	5,0	5,9	4,0	2,7	3,0	2,1
Animal 3	5,3	-	3,2	3,9	3,7	5,3	5,3	-	-
Animal 5	5,4	-	2,8	2,6	5,1	-	-	-	-
Animal 6	4,2	-	1,8	2,8	3,4	3,2	-	-	-
Animal 8	3,9	-	3,1	4,4	5,8	5,0	4,0	2,1	1,9
Animal 9	4,4	-	3,5	3,8	4,1	4,1	3,7	2,4	1,6
Animal 10	4,6	-	3,9	3,7	5,3	7,0	3,7	-	-
Animal 13	3,7	-	2,5	3,0	4,3	3,9	3,1	2,3	2,4
Animal 16	3,2	-	2,7	3,0	4,4	5,5	3,5	2,6	2,5
Animal 17	3,2	-	2,6	3,0	3,4	3,7	3,1	2,6	5,0
Média	4,2	-	3,0	3,5	4,5	4,6	3,6	2,5	2,6
DP	0,8	-	0,6	0,8	0,9	1,2	0,8	0,3	1,2

IRVS

	Controle								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 1	966	-	1083	1097	673	711	992	1162	1033
Animal 4	1237	-	1706	1145	532	724	-	-	-
Animal 7	1610	-	2385	1501	743	758	-	-	-
Animal 11	1582	-	2486	1679	579	581	723	855	1057
Animal 12	1067	-	1944	1200	696	879	1221	-	-
Animal 14	1512	-	3679	1345	715	792	1132	2289	-
Animal 15	1874	-	3084	1969	1013	691	921	-	-
Animal 18	1199	-	3649	1763	1030	955	829	834	895
Animal 19	1737	-	4107	1656	1035	784	811	1130	1683
Animal 20	1264	-	1754	1290	717	738	803	1076	-
Média	1405	-	2588	1465	773	761	929	1224	1167
DP	300	-	1004	294	186	103	174	540	351

	Metoprolol								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 2	995	-	1982	883	777	1552	2090	763	1100
Animal 3	868	-	2126	1583	775	746	853	-	-
Animal 5	1103	-	2140	1403	659	-	-	-	-
Animal 6	1182	-	4374	1572	1146	929	-	-	-
Animal 8	1365	-	2274	1255	748	972	1238	2261	1940
Animal 9	1226	-	2292	1234	1060	1106	1232	1870	1362
Animal 10	1035	-	1441	1202	768	621	963	-	-
Animal 13	1504	-	2438	1691	1202	1125	1502	1935	1898
Animal 16	1705	-	2704	1840	1006	981	1720	2212	2077
Animal 17	1453	-	1867	1315	1183	1180	1460	1640	1034
Média	1244	-	2364	1398	932	1024	1382	1780	1569
DP	260	-	784	280	208	268	403	548	459

PVC

	Controle								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 1	9	10	10	9	9	9	9	9	9
Animal 4	11	11	14	6	9	11	-	-	-
Animal 7	7	8	10	6	8	9	-	-	-
Animal 11	9	15	17	14	12	14	10	12	12
Animal 12	7	13	14	9	6	8	8	-	-
Animal 14	8	10	12	9	9	8	8	7	-
Animal 15	11	15	12	13	10	11	10	-	-
Animal 18	11	12	18	14	11	13	11	10	10
Animal 19	10	14	15	12	11	12	11	11	10
Animal 20	10	14	13	12	12	11	10	10	-
Média	9	12	14	10	10	11	10	10	10
DP	2	2	3	3	2	2	1	2	1

	Metoprolol								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 2	10	12	13	10	9	10	9	10	9
Animal 3	11	11	16	12	11	13	16	-	-
Animal 5	10	16	14	12	13	15	-	-	-
Animal 6	8	15	12	12	9	11	-	-	-
Animal 8	10	14	15	11	11	11	11	9	9
Animal 9	10	14	14	10	10	9	11	10	12
Animal 10	10	16	15	11	10	13	12	14	-
Animal 13	11	15	15	12	12	12	10	11	13
Animal 16	9	13	14	11	10	8	8	8	8
Animal 17	12	17	19	13	12	11	9	10	13
Média	10	14	15	11	11	11	11	10	11
DP	1	2	2	1	1	2	2	2	2

PaCO₂

	Controle								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 1	42,3	-	40,2	44,5	49,0	45,4	43,0	44,0	46,8
Animal 4	43,2	-	47,3	51,2	54,9	56,7	-	-	-
Animal 7	36,5	-	38,1	41,0	45,6	49,6	-	-	-
Animal 11	39,7	-	49,5	44,3	49,5	45,9	45,3	48,6	46,1
Animal 12	40,8	-	45,1	49,1	50,5	49,3	52,7	-	-
Animal 14	44,2	-	53,0	53,9	57,5	56,5	52,0	49,7	48,2
Animal 15	44,5	-	52,0	46,2	48,9	49,7	46,0	-	-
Animal 18	43,0	-	42,9	49,1	51,4	48,8	52,4	51,5	51,2
Animal 19	42,5	-	43,0	50,2	52,5	50,2	51,4	53,9	56,7
Animal 20	37,1	-	45,4	44,6	46,6	51,5	44,4	53,1	-
Média	41,4	-	45,7	47,4	50,6	50,4	48,4	50,1	49,8
DP	2,8	-	4,9	3,9	3,6	3,8	4,1	3,6	4,3

	Metoprolol								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 2	40,0	-	41,7	45,7	47,1	44,6	43,2	46,3	43,0
Animal 3	41,9	-	46,5	51,5	48,9	49,5	50,4	-	-
Animal 5	38,9	-	57,1	54,2	60,1	31,6	-	-	-
Animal 6	39,5	-	42,0	50,2	48,7	54,7	-	-	-
Animal 8	38,0	-	37,8	40,8	44,3	44,5	45,7	43,1	49,6
Animal 9	39,2	-	42,3	43,1	48,5	42,5	43,0	43,5	57,6
Animal 10	42,2	-	51,1	48,2	52,9	53,6	60,3	65,7	-
Animal 13	40,8	-	45,6	49,8	43,8	47,5	45,2	41,1	41,0
Animal 16	43,3	-	48,0	44,2	46,9	41,0	44,7	43,9	50,6
Animal 17	42,7	-	55,5	51,5	45,2	44,3	48,1	48,6	45,7
Média	40,7	-	46,8	47,9	48,6	45,4	47,6	47,5	47,9
DP	1,8	-	6,3	4,3	4,8	6,6	5,7	8,4	6,0

PaO₂/FiO₂

	Controle								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 1	428	-	388	437	376	378	359	334	330
Animal 4	405	-	104	279	150	104	-	-	-
Animal 7	402	-	446	393	243	99	-	-	-
Animal 11	413	-	417	269	271	369	356	388	387
Animal 12	384	-	369	255	254	177	128	-	-
Animal 14	421	-	325	281	153	154	187	134	198
Animal 15	387	-	423	260	320	240	247	-	-
Animal 18	406	-	402	352	209	204	200	188	188
Animal 19	388	-	260	210	158	164	136	143	151
Animal 20	412	-	404	405	249	245	192	141	-
Média	405	-	354	314	238	213	226	221	251
DP	15	-	103	77	74	97	90	111	102

	Metoprolol								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 2	438	-	397	433	389	365	288	296	339
Animal 3	412	-	391	347	182	171	138	-	-
Animal 5	434	-	318	332	214	149	-	-	-
Animal 6	420	-	401	239	166	114	-	-	-
Animal 8	472	-	396	444	453	366	348	283	151
Animal 9	408	-	207	295	228	211	152	121	115
Animal 10	358	-	126	246	202	151	183	-	-
Animal 13	418	-	324	237	228	218	219	251	282
Animal 16	382	-	329	279	379	349	309	278	284
Animal 17	400	-	395	405	307	283	286	297	312
Média	414	-	328	326	275	238	240	254	247
DP	31	-	94	80	100	96	78	67	92

Lactato

	Controle								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 1	1,2	-	1,5	2,4	3,5	2,8	2,6	2,1	1,8
Animal 4	1,3	-	2,0	2,4	5,7	9,4	-	-	-
Animal 7	1,0	-	1,0	1,5	2,8	4,4	-	-	-
Animal 11	1,2	-	1,9	2,0	3,6	7,1	7,9	8,1	7,9
Animal 12	1,4	-	1,5	1,8	2,9	3,0	4,4	-	-
Animal 14	1,2	-	1,3	1,5	4,9	6,9	8,5	10,6	12,5
Animal 15	1,9	-	2,2	3,0	4,7	7,2	10,2	-	-
Animal 18	2,2	-	1,9	3,1	4,8	7,0	9,6	8,7	9,1
Animal 19	1,0	-	1,2	1,6	2,9	4,4	5,6	6,1	7,8
Animal 20	0,7	-	1,2	1,2	2,6	4,3	6,4	8,5	-
Média	1,3	-	1,6	2,1	3,8	5,7	6,9	7,4	7,8
DP	0,4	-	0,4	0,7	1,1	2,2	2,6	2,9	3,9

	Metoprolol								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 2	1,7	-	2,8	2,6	2,4	2,8	3,9	7,3	8,4
Animal 3	1,5	-	2,0	2,2	5,2	6,4	8,1	-	-
Animal 5	1,7	-	3,2	3,9	5,4	8,7	-	-	-
Animal 6	0,9	-	1,9	3,5	4,9	7,7	-	-	-
Animal 8	1,4	-	1,6	2,0	3,3	2,8	3,3	4,2	8,0
Animal 9	2,2	-	1,9	2,0	3,1	3,6	3,3	3,5	5,9
Animal 10	1,8	-	1,9	2,2	2,7	5,1	8,1	11,6	-
Animal 13	1,0	-	1,6	1,9	2,6	4,3	4,5	3,8	3,2
Animal 16	0,9	-	1,4	1,7	2,8	3,8	3,5	3,5	4,3
Animal 17	1,6	-	2,5	2,5	2,6	3,4	4,3	3,4	4,2
Média	1,5	-	2,1	2,5	3,5	4,9	4,9	5,3	5,7
DP	0,4	-	0,6	0,7	1,2	2,1	2,0	3,1	2,1

EB

	Controle								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 1	5,3	-	3,1	1,8	-1,3	1,5	0,4	0,8	2,5
Animal 4	4,6	-	1,9	0,7	-5,1	-8,7	-	-	-
Animal 7	3,7	-	1,7	1,6	-1,8	-3,1	-	-	-
Animal 11	1	-	-1,9	-1,6	-4,1	-7,9	-9,8	-9,7	-9,4
Animal 12	1,2	-	-0,8	-0,8	-3,8	-3,2	-7,5	-	-
Animal 14	5,7	-	3,3	3,4	-1,9	-6,5	-8,5	-15,1	-18,8
Animal 15	3,2	-	-0,6	-0,6	-1,4	-4,2	-9	-	-
Animal 18	3,4	-	3,3	1,1	-1	-5	-8,5	-7,9	-8,4
Animal 19	0,1	-	-2,6	-2,6	-4,3	-6,7	-7,4	-10,6	-12,5
Animal 20	0,9	-	0,2	-2,7	-2,4	-4,7	-9,4	-12,9	-
Média	2,9	-	0,8	0,0	-2,7	-4,9	-7,5	-9,2	-9,3
DP	2,0	-	2,2	2,0	1,5	2,9	3,3	5,5	7,8

	Metoprolol								
	TB	T15	T30	T60	T120	T180	T240	T300	T360
Animal 2	-0,2	-	-1,2	0	-0,9	-0,7	-4	-8,6	-11,2
Animal 3	3,8	-	3,5	1,9	-1,7	-4,8	-5,7	-	-
Animal 5	2,4	-	-3,2	-2,6	-5,2	-4,1	-	-	-
Animal 6	0,3	-	0,7	-3,6	-5,4	-9,9	-	-	-
Animal 8	-0,7	-	-2	-3,7	-4,8	-4,2	-5	-7,5	-12,7
Animal 9	1	-	1,9	0,3	-1,4	-1,6	-1,8	-4,8	-9,1
Animal 10	0,8	-	-1,7	-2,2	-3,7	-6,2	-10,8	-16,7	-
Animal 13	0,7	-	-2,4	-2,9	-3,8	-6,7	-6,9	-5,4	-3,9
Animal 16	3,4	-	3,2	-1,5	1	-1,9	-1,7	-3,4	-4,9
Animal 17	4	-	-0,1	0,1	-2,3	-3,4	-1	-1	-1,8
Média	1,6	-	-0,1	-1,4	-2,8	-4,4	-4,6	-6,8	-7,3
DP	1,7	-	2,4	1,9	2,1	2,7	3,3	5,0	4,4

Quantidade total de fluido (mL), norpinefrina (µg) e dobutamina (µg)

	Controle		
	Fluido	Norepinefrina	Dobutamina
Animal 1	1125	521	0
Animal 4	1723	2696	375
Animal 7	2700	2160	25
Animal 11	2175	10382	1180
Animal 12	3065	670	545
Animal 14	4218	9677	208
Animal 15	2175	7633	985
Animal 18	1756	8120	5080
Animal 19	2476	10711	0
Animal 20	1816	5825	173
Média	2323	5840	857
DP	864	4027	1540

	Metoprolol		
	Fluido	Norepinefrina	Dobutamina
Animal 2	2508	1279	290
Animal 3	2377	2634	178
Animal 5	1972	4248	790
Animal 6	3357	4128	0
Animal 8	2219	495	165
Animal 9	2831	993	700
Animal 10	3240	6112	890
Animal 13	1705	2555	115
Animal 16	1669	1422	355
Animal 17	1800	6628	1988
Média	2368	3049	547
DP	615	2154	591