LUCAS OLIVEIRA MARINO

Incidência de insuficiência de corticosteroides relacionada à doença crítica e avaliação prognóstica da função adrenal e de biomarcadores em pacientes com pneumonia comunitária grave

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

Programa de Ciências Médicas

Área de concentração: Processos Inflamatórios e
Alérgicos

Orientador: Prof. Dr. Heraldo Possolo de Souza

São Paulo
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Marino, Lucas Oliveira
Incidência de insuficiência de corticosteroides
relacionada à doença crítica e avaliação prognóstica da
função adrenal e de biomarcadores em pacientes com
pneumonia comunitária grave / Lucas Oliveira
Marino. -- São Paulo, 2019.
Tese(doutorado) – Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências Médicas. Área de
Concentração: Processos Inflamatórios e Alérgicos.
Orientador: Heraldo Possolo de Souza.

Descritores: 1.Hidrocortisona 2.Esfingosina
3.Sepse 4.Pneumonia 5.Insuficiência adrenal
6.Biomarcadores

USP/FM/DBD-394/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Este trabalho foi realizado na Unidade de Emergência Referenciada do Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e no Laboratório de Investigações Médicas da Disciplina de Emergências Clínicas (LIM/51) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, parcialmente subsidiado com o auxílio à pesquisa FAPESP 2016/14566-4.

Dedicatória

Dedico esta tese ao meu avô, Maurício de
Oliveira (*in memoriam*). Combinação mais
exitosa possível de honestidade,
perseverança, talento e superação.

Agradecimentos

É fundamental agradecer, em princípio, ao Prof. Dr. Heraldo Possolo de Souza, meu orientador nesta longa caminhada. Mais do que isso, após todos estes anos de convivência, tornou-se naturalmente um grande amigo. Ideias brilhantes só poderiam vir de uma mente com o mesmo brilhantismo. Obrigado por abrir as portas da pesquisa em minha carreira profissional, pelos ensinamentos e apoio, não restritos a este projeto, pelas críticas e correções. Saiba que o senhor é minha grande referência pessoal como pesquisador.

Agradeço ao amigo Rodrigo Antonio Brandão Neto, médico supervisor do Pronto Socorro de Clínica Médica do HCFMUSP, enorme influenciador de minha carreira assistencial, idealizador do embrião deste trabalho. Lembro com clareza quando em fevereiro de 2013, numa conversa no Pronto Socorro, questionou sobre meu interesse de conduzir um projeto com este tema quando eu nem mesmo cogitava iniciar um doutorado.

Aos Drs. Denise Frediani Barbeiro e Hermes Vieira Barbeiro, responsáveis por toda a operacionalização da metodologia no LIM/51 – Laboratório de Emergências Clínicas. Obrigado pelo primor e esmero no processamento e armazenamento das amostras, dosagens efetuadas e, sobretudo, pelas críticas e pelo auxílio no delineamento deste trabalho.

Agradeço à equipe de apoio técnico administrativo do LIM/51, nominalmente à Sra. Fátima Abatepaulo, ao Sr. Geraldo Gomes Sobrinho e à Sra. Kelli Cristina Theodoro Gouvea.

Não poderia deixar de mencionar a participação fundamental da Sra. Eliana Carvalho na coleta das amostras.

Às secretárias da pós-graduação, Angélica Belém de Souza e Rose Cler Ferreira, e da disciplina de Emergências Clínicas, Clélia Maria Pereira e Eliane de Cássia Silva, obrigado pela presteza e educação de sempre na resolução de qualquer problema.

Aos pacientes e suas famílias, que concederam autorização para participarem deste estudo e são, em última instância, o grande motivo para este esforço empenhado.

Aos Profs. Marcelo Park, Maria Cristina Avelar e Tania Aparecida Sartori Sanchez Bachega, integrantes da comissão julgadora do exame de qualificação. Obrigado pelas críticas e sugestões valiosas; espero ter feito jus a elas na conclusão deste trabalho.

Aos colegas da Disciplina de Emergências Clínicas do HCFMUSP, dos quais desejo ressaltar os de cotidiana convivência mesmo sob risco de cometer alguma injustiça por mero esquecimento: Francisco Torggler, Sabrina Correa, Tiago Kunitake, Júlio Marchini, Júlio Alencar, Patrick Aureo, Rafael Shiraiwa, Carlos Mineiro, Marcela Devido, Flávia Azevedo e Haroldo Rodrigues. Ao amigo Daniel Carvalho, pela disponibilidade imediata de ajudar sempre que solicitado.

Agradecimento especial ao amigo Rodrigo Bomeny pelo apoio de sempre, a quem recorri em momentos difíceis. Sempre de prontidão, ouviu com atenção e proferiu palavras de conforto e, sobretudo, de força. Obrigado pelos ensinamentos.

Ao querido amigo José Antonio Rocha Almeida, exemplo de retidão, profissionalismo e competência, com quem convivo quase diariamente. Abriu as portas para meu trabalho como intensivista e é, sem sombra de dúvidas, outro grande influenciador de minha carreira assistencial.

Agradeço aos médicos residentes que estagiam no Pronto Socorro do HCFMUSP, com quem muito mais aprendo do que ensino.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro.

À Leila Guastapaglia pelo carinho, companheirismo e paciência, sobretudo nestes últimos meses tão atribulados de dedicação quase exclusiva para conclusão deste projeto.

À minha família, alicerce da formação do meu caráter. Ao meu pai, Gerson, meu guia de honestidade, firmeza e perseverança; minha mãe, Ludmila, fonte infinita de amor e carinho; meu irmão, Eduardo, maior amigo que a vida me proporcionou; minha sobrinha Isabelle, cujo inocente sorriso alivia qualquer tristeza. Obrigado à Deus, pela constante bênção em minha vida.

“A persistência é o menor caminho para o êxito”

Charles Chaplin

Normatização adotada

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, Divisão 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 Documentação; 2011.
- Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

1. INTRODUÇÃO	26
1.1 Fisiologia do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal	27
1.2. Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal e doença crítica	29
1.3. Insuficiência de corticosteroides relacionada à doença crítica	34
1.4. Insuficiência de corticosteroides relacionada à doença crítica e pneumonia adquirida na comunidade	36
1.5. Estratificação de risco em pneumonia adquirida na comunidade	37
1.6. Pneumonia adquirida na comunidade e biomarcadores	40
1.7. A relação entre Esfingosina-1-fosfato e glicocorticoide	43
2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	46
3. HIPÓTESES	49
4. OBJETIVOS	51
4.1. Objetivo geral	52
4.2. Objetivos específicos	52
5. CASUÍSTICA E MÉTODO	53
5.1 População de estudo	54
5.2 Declaração ética	55
5.3 Desenho de estudo	55
5.4 Metodologia	56
6. RESULTADOS	61

6.1 Diagnóstico de CIRCI utilizando como corte o valor de cortisol sérico menor que 10 µg/dl	62
6.2 Análise dos biomarcadores conforme a presença de CIRCI.....	65
6.3 Análise dos receptores de glicocorticoide (GR α e GR β) em relação a ocorrência de CIRCI.....	73
6.4 Análise do cortisol e dos biomarcadores conforme a mortalidade	76
6.5 Análise do efeito da administração de glicocorticoide exógeno.....	88
7. DISCUSSÃO.....	94
8. CONCLUSÕES	113
9. SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS.....	116
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	120

LISTA DE SIGLAS

11 β -HSD2	11 β -Hidroxiesteroide Desidrogenase tipo 2
ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
ATS	American Thoracic Society
AUC	Area Under the Curve
AUROC	Area Under the Receiver-Operating-characteristic Curve
BNP	Brain Natriuretic Peptide
BTS	British Thoracic Society
CAPPesq	Comissão de Ética de Projetos de Pesquisa
CBG	Cortisol Binding Globulin
CIRCI	Critical Illness-Related – Corticosteroid Insufficiency
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina
CV	Coeficiente de Variação
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
GC	Glicocorticoide
GR	Receptor de Glicocorticoide
GRE	Glucocorticoid-Response Elements
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

HHA	Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IC	Intervalo de Confiança
IDSA	Infectious Diseases Society of America
IL	Interleucina
IQR	Interquartil Range
IRA	Injúria Renal Aguda
MRproADM	Mid-Regional Proadrenomedulina
nGRE	Negative Glucocorticoid-Response Elements
NICE	National Institute for Health and Care Excellence
PAC	Pneumonia Adquirida na Comunidade
PCR	Proteína C Reativa
PCT	Procalcitonina
PORT	Patients Outcome Research Team
PROADM	Proadrenomedulina
PSI	Pneumonia Severity Index
ROC	Receiver-Operating-characteristic Curve
RVSN	Razão de Verossimilhança Negativa
RVSP	Razão de Verossimilhança Positiva
S1P	Esfingosina-1-Fosfato

S1PR	Receptor de Esfingosina-1-Fosfato
SCAP	Severe Community-Acquired Pneumonia Score
SDRA	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
SphK1	Esfingosina-1-Quinase
USP	Universidade de São Paulo
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VIQ	Variação Interquartil
VM	Ventilação Mecânica

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Escore PSI.....	38
Tabela 2 – Classificação PSI	39
Tabela 3 – Variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais de acordo com a ocorrência de CIRCI, incluindo todos os pacientes*	63
Tabela 4 – Variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais de acordo com a ocorrência de CIRCI, incluindo somente os pacientes que não receberam glicocorticoide antes da coleta da amostra*	64
Tabela 5 – Comparação entre óbitos e sobreviventes, incluindo todos os pacientes	77
Tabela 6 – Comparação entre óbitos e sobreviventes, incluindo somente os pacientes que não receberam glicocorticoide antes da coleta da amostra *	78
Tabela 7 – Variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais conforme amostra estratificada por Cortisol total de 22,75 µg/dL, incluindo apenas os pacientes que não receberam glicocorticoide antes da inclusão	84
Tabela 8 – Variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais conforme amostra estratificada por Cortisol total de 22,85 µg/dL, incluindo todos os pacientes	87
Tabela 9 – Comparação entre pacientes que não receberam corticoide antes da dosagem, que receberam a medicação e que faziam uso crônico	92
Tabela 10 – Performance de predição de necessidade de suporte intensivo de diversos escores clínicos em pacientes com PAC*	105
Tabela 11 – Performance de predição de admissão em UTI da associação $PSI \geq 4$ e Cortisol total $> 22,75 \mu\text{g/dL}$	106

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Níveis de cortisol total nos grupos CIRCI e com Cortisol > 10 µg/dL. Conforme esperado, os valores de cortisol total sérico nos dois grupos são diferentes (8 µg/dL [VIQ 7,3 – 8,65 µg/dL] vs. 18,95 µg/dL [VIQ 15,05 – 23,5 µg/dL]; $p < 0,0001$) 66
- Figura 2 – Níveis de cortisol livre nos grupos CIRCI e com Cortisol > 10 µg/dL. Os valores de cortisol livre nos dois grupos são menores no grupo com CIRCI (0,09 µg/dL [VIQ 0,08 – 0,11 µg/dL] vs. 4,14 µg/dL [VIQ 1,97 – 5,35 µg/dL]; $p < 0,0001$) 67
- Figura 3 – Mortalidade estratificada por CIRCI e cortisol > 10 µg/dL. Não há diferença estatística entre os grupos 68
- Figura 4 – Níveis séricos de S1P nos grupos CIRCI e Cortisol > 10 µg/dl. Não encontramos diferença estatística entre pacientes com CIRCI (2,79 ng/ml [VIQ 2,25 – 4,52 ng/ml]) e com Cortisol > 10 µg/dl 3,74 ng/ml [VIQ 2,48 – 5,385 ng/ml]; $p = 0,38$) 69
- Figura 5 – Correlação entre o nível sérico de cortisol total e de S1P. Não há correlação estatisticamente significativa (correlação de Spearman rho 0,08; $p = 0,44$) . 70
- Figura 6 – Níveis séricos de procalcitonina nos grupos CIRCI e Cortisol > 10 µg/dl. Não encontramos diferença estatística entre pacientes com CIRCI [1285 pg/ml (VIQ 761,14 – 1636,06 pg/ml)] e com Cortisol > 10 µg/dl [1278,3 pg/ml (VIQ 889,30 – 1801,8 pg/ml)]; $p = 0,77$ 71
- Figura 7 – Níveis séricos de proadrenomedulina nos grupos CIRCI e Cortisol > 10 µg/dl. Não encontramos diferença estatística entre pacientes com CIRCI [587,45 pmol/ml (VIQ 439,57 – 994,58 pmol/ml)] e com Cortisol > 10 µg/dl [542,9 pmol/ml (VIQ 409,5 – 815,9 pmol/ml)]; $p = 0,4726$ 72
- Figura 8 – Concentrações de GRα em polimorfonucleares nos grupos CIRCI e Cortisol > 10 µg/d. Não encontramos diferença estatística entre os grupos CIRCI

(0,065 ng/ml [VIQ 0,057 – 0,118 ng/mL) e Cortisol > 10 µg/dl (0,057 ng/ml [VIQ 0,036 – 0,098 ng/ml]; p = 0,23)	73
Figura 9 – Concentrações de GRβ em polimorfonucleares nos grupos CIRCI e Cortisol > 10 µg/dl. Não encontramos diferença estatística entre os grupos CIRCI (7,17 pg/ml [VIQ 4,53 – 11,56 pg/ml]) vs. Cortisol > 10 µg/dl (9,02 pg/ml [VIQ 4,2 – 24,85 pg/ml]; p = 0,67).....	74
Figura 10 – Correlação entre o nível sérico de cortisol total e de GRα. Não há correlação estatisticamente significativa (correlação de Spearman rho -0,018; p 0,08)	75
Figura 11 – Correlação entre nível sérico de cortisol e concentração de GRβ em polimorfonucleares. Não há correlação estatisticamente significativa (rho 0,08; p 0,47).....	76
Figura 12 – Valores de SOFA em óbitos e sobreviventes. O SOFA na admissão foi significativamente maior nos pacientes que evoluíram a óbito (p<0,001). O gráfico A refere-se à amostra com todos os pacientes; o gráfico B à amostra com aqueles que não receberam glicocorticoide antes da inclusão.....	79
Figura 13 – Níveis de cortisol total sérico em sobreviventes e óbitos. Pacientes que sobreviveram apresentaram níveis menores de cortisol total (16,65 µg/dL [VIQ 13,9 – 20,2 µg/dL] vs. 23,4 µg/dL [VIQ 18,6 – 38,3 µg/dL]; p = 0,0038).....	80
Figura 14 – Níveis de cortisol livre estimado em sobreviventes e óbitos. Pacientes que sobreviveram apresentaram níveis menores de cortisol total (2,85 µg/dL [VIQ 1,87 – 4,66 µg/dL] vs. 3,96 µg/dL [VIQ 2,65 – 5,45 µg/dL]; p < 0,001)	81
Figura 15 – Curva ROC do score SOFA para predição de óbito [AUROC 0,747 (IC 0,593 – 0,9)].....	82
Figura 16 – Curva ROC do cortisol total sérico para predição de óbito [AUROC 0,751 (IC 0,593 – 0,91)]	82

Figura 17 – Curva ROC do cortisol livre estimado para predição de óbito [AUROC 0,77 (IC 0,613 – 0,927)]	83
Figura 18 – Curva ROC do cortisol total sérico para predição de óbito [AUROC 0,7 (IC 0,575 – 0,824)] ao se incluir toda a amostra. O nível de 22,85 µg/dL foi indentificado como o de melhor acurácia.....	86
Figura 19 – Níveis séricos de S1P conforme tratamento adjuvante com glicocorticoide. Nota-se queda nos níveis de S1P nos pacientes que receberam glicocorticoide exógeno: 1. Não recebeu glicocorticoide antes da dosagem [3,729 ng/ml (VIQ 1,55 – 3,276 ng/ml)]; 2. Recebeu glicocorticoide antes da dosagem [2,2 ng/ml (VIQ 2,35– 5,38 ng/ml)]; 3. Uso crônico de glicocorticoide [1,96 ng/ml (VIQ 1,65 – 2,5 ng/ml)]; p < 0,001)	88
Figura 20 – Níveis séricos de IL-6 conforme tratamento adjuvante com glicocorticoide. Nota-se queda nos níveis de IL-6 nos pacientes que receberam glicocorticoide exógeno: 1. Não recebeu glicocorticoide antes da dosagem [1,499 pg/mL (VIQ 0,899 – 1,89 pg/mL)]; 2. Recebeu glicocorticoide antes da dosagem [0,698 pg/mL (VIQ 0,272 – 1,279 pg/mL)]; p < 0,001	89
Figura 21 – Níveis séricos de cortisol total conforme tratamento adjuvante com glicocorticoide. Nota-se queda nos níveis de cortisol total nos pacientes que receberam glicocorticoide exógeno: 1. Não recebeu glicocorticoide antes da dosagem [17,7 µg/dL (13,9 – 22,75 µg/dL)]; 2. Recebeu glicocorticoide antes da dosagem [12,25 µg/dL (7,0 – 20,5 µg/dL)]; p = 0,008	90
Figura 22 – Níveis séricos de cortisol livre conforme tratamento adjuvante com glicocorticoide. Nota-se queda nos níveis de cortisol livre nos pacientes que receberam glicocorticoide exógeno: 1. Não recebeu glicocorticoide antes da dosagem [3,38 µg/dL (1,97 – 5,35 µg/dL)]; 2. Recebeu glicocorticoide antes da dosagem [1,3 (0,085 – 4,57 µg/dL)]; p = 0,003	91
Figura 23 – Correlação entre IL-6 e Cortisol total sérico. Não há correlação estatisticamente significante (correlação de Spearman rho 0,28; p 0,657)	93

RESUMO

Marino LO. *Incidência de insuficiência de corticosteroides relacionada à doença crítica e avaliação prognóstica da função adrenal e de biomarcadores em pacientes com pneumonia comunitária grave* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

Em indivíduos saudáveis, a secreção de cortisol é rigorosamente controlada pelo eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA). O cortisol, fisiologicamente, possui um padrão de secreção diurno e pulsátil, com níveis circulatórios máximos pela manhã e notável decréscimo ao longo do dia (variam de 5 – 24 µg/dL). A resposta ao estresse na doença aguda é caracterizada por ativação do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA) e do sistema simpatoadrenal e consequente hipercortisolismo. Em muitos pacientes críticos, entretanto, estas vias podem estar inibidas. Os mecanismos de disfunção do eixo HHA neste contexto são ainda pouco compreendidos. Nota-se uma complexa relação entre produção deficitária de glicocorticoides e resistência tissular a estes hormônios, o que caracteriza a Insuficiência de Corticosteroides Relacionada à Doença Crítica (CIRCI). A real definição, fisiopatologia, incidência e implicação prognóstica desta condição ainda são objeto de muita controvérsia. **Objetivos:** Determinar a incidência e o impacto prognóstico da CIRCI em pacientes com pneumonia comunitária (PAC) grave; identificar um nível de cortisol total discriminante de mortalidade; determinar a expressão de receptores de glicocorticoide [(GR) – isoformas α and β] em polimorfonucleares, os níveis séricos de esfingina-1-fosfato [(S1P) – um segundo mensageiro da ação do cortisol] e suas associações com morbimortalidade e suas correlações com os níveis séricos de cortisol. **Casuística e métodos:** Foram incluídos no estudo 149 pacientes com PAC grave (*Pneumonia Severity Index* $\geq$ IV), dos quais 91 não receberam nenhuma dose de glicocorticoide antes da coleta de amostra para análise. Trata-se de uma coorte prospectiva, em que os pacientes incluídos foram divididos em dois grupos: (1) CIRCI (Cortisol $\leq$ 10 µg/dL); e (2) Cortisol $>$ 10 µg/dL. O desfecho primário foi mortalidade hospitalar. Os desfechos secundários foram: sepse, choque séptico, ventilação mecânica invasiva, injúria renal aguda, internação em unidade de terapia intensiva (UTI) e tempo de internação. **Resultados:** A incidência de CIRCI foi de 12,08% (11/91); a mortalidade dos pacientes com CIRCI foi de 9,09%, e daqueles com Cortisol total $>$ 10 µg/dl de 15%, sem, contudo, diferença estatisticamente significativa, bem como em relação aos desfechos secundários. Não houve diferença nos níveis de biomarcadores inflamatórios (procalcitonina – PCT – e proadrenomedulina - PROADM), assim como na expressão de GR α e β e nas concentrações séricas de S1P. Não se observou correlação entre cortisol total e expressão de GRs, tampouco entre cortisol e S1P. O cortisol total foi mais elevado em pacientes que evoluíram à óbito [23,4 µg/dL (VIQ 18,6 – 38,3 µg/dL) vs. 16,65 µg/dL (VIQ 13,9 – 20,2); $p = 0,0038$], com AUROC 0,751 (0,593 – 0,91), comparável à do escore multissistêmico SOFA [(*Sequential Organ Failure Assessment*) - AUROC 0,747 (0,593 – 0,9)]. Pacientes com Cortisol $>$ 22,75 µg/dL apresentaram mortalidade substancialmente maior 39,13% vs. 5,88%; $p < 0,01$) e foram mais frequentemente internados na UTI (56,52% vs. 27,94%; $p = 0,027$). O tratamento adjuvante com glicocorticoide se associou a redução dos níveis de IL-6 ([1,499 pg/ml (0,899 – 1,89) vs. 0,698 pg/ml (0,272 – 1,279); $p < 0,001$]) e de cortisol total [(17,7 µg/dL (VIQ 7 – 20,5 µg/dL) vs. 12,25 µg/dL (VIQ 13,99 – 22,75 µg/dL); $p = 0,001$]. Não há correlação

estatisticamente significativa entre cortisol total e IL-6 (ρ 0,02; p 0,65). **Conclusões:** O diagnóstico de CIRCI baseado isoladamente em cortisol total $\leq 10 \mu\text{g/dL}$ não parece apresentar utilidade clínica. Em termos fisiopatológicos, este valor não é discriminatório para a atividade tissular do hormônio. Níveis de cortisol $> 22,75 \mu\text{g/dL}$ apresentam elevada acurácia para predição de óbito e podem ser úteis na indicação judiciosa de UTI. Por meio de mecanismos não esclarecidos e não mediados por alterações da expressão de GR α e β , o corticoide exógeno pode suscitar menor atividade celular de glicocorticoide, fenômeno corroborado pela menor concentração de S1P. A redução do nível sérico de cortisol secundário ao tratamento adjuvante não é decorrente da queda de IL-6 (ausência de correlação entre as variáveis).

Descritores: Hidrocortisona; Esfingosina; Seps; Pneumonia; Insuficiência adrenal; Biomarcadores.

ABSTRACT

MarinoLO. *Incidence of critical illness-related corticosteroid insufficiency and prognostical performance of adrenal function and biomarkers in patients with severe community acquired pneumonia [thesis].* São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2019.

In healthy subjects, cortisol secretion is tightly controlled by the Hypothalamus-Pituitary-Adrenal (HPA) axis. Cortisol, physiologically, has a circadian and pulsatile pattern of secretion, with maximum circulatory levels during the morning and remarkable decrease in the course of the day. The response to stress in acute disease is characterized by activation of the HPA axis and the sympathoadrenal system and consequent hypercortisolism. In many critical patients, however, these pathways may be inhibited. The mechanisms of HPA axis dysfunction in this context are still poorly understood. A complex relationship between deficient glucocorticoid production and tissue resistance to these hormones is noted, which characterizes Critical Illness Related Corticosteroid Insufficiency (CIRCI). The real definition, pathophysiology, incidence and prognostic implication of this condition are still subject of discussion. **Objectives:** To determine the incidence and prognostic impact of CIRCI in patients with severe community-acquired pneumonia (CAP); to identify a total cortisol level discriminant of mortality; to determine the expression of glucocorticoids receptors [(GRs) - α and β isoforms] in polymorphonuclears, serum sphingosine-1-phosphate [(S1P) - a second messenger of cortisol action] levels and their association with morbidity and mortality and their correlation with serum cortisol levels. **Patients and methods:** A total of 149 patients with severe CAP (Pneumonia Severity Index $\geq$ IV) were included in the study, 91 of whom haven't received any glucocorticoid dose before blood sample collection for analysis. This is a prospective cohort, in which the included patients were divided into two groups: (1) CIRCI (Cortisol $\leq$ 10 μ g/dl); and (2) Cortisol $>$ 10 μ g/dl. The primary outcome was in-hospital mortality. The secondary outcomes were: sepsis, septic shock, mechanical ventilation, acute kidney injury, hospitalization in intensive care unit (ICU) and duration of hospitalization. **Results:** The incidence of CIRCI was 12.08% (11/91); The mortality of patients with CIRCI was 9.09%, and of those with total cortisol $>$ 10 μ g/dl was 15%, with no statistically difference, as well as in relation to secondary outcomes. There was no difference in levels of inflammatory biomarkers (procalcitonin - PCT - and proadrenomedulin - PROADM), GR α and β expression and serum S1P. There was no correlation between total cortisol and expression of GRs, neither between cortisol and S1P. Total cortisol levels were superior in patients who died [23.4 μ g/dl (IQR 18.6 - 38.3 μ g/dl) vs. 16.65 μ g/dl (IQR 13.9 - 20.2 μ g/dl); $p = 0.0038$], with AUROC 0.751 (0.593 - 0.910), comparable to the performance of SOFA (sequential organ failure assessment) score [AUROC 0.747 (0.593 - 0.9)]. Patients with Cortisol $>$ 22.75 μ g/dl had substantially higher mortality (39.13% vs. 5.88%; $p < 0.001$) and were more often admitted to the ICU (56.52% vs. 27.94%; $p = 0.027$). Adjuvant treatment with glucocorticoids is associated with reduction in IL-6 [1,499 pg/ml (IQR 0.899 to 1.89 pg/ml) vs. 0.698 pg/ml (IQR 0.272 to 1.279 pg/ml), $p < 0,001$] and in total cortisol levels [(17.7 μ g/dl (IQR 7 - 20.5 μ g / dl) vs. 12.25 μ g/dl (IQR

13.99 - 22.75 $\mu\text{g/dl}$); $p = 0.001$]. There was no statistically significant correlation between total cortisol and IL-6 ($\rho = 0.02$, $p = 0.65$). **Conclusions:** The diagnostic of CIRCI based solely on total cortisol $\leq 10 \mu\text{g/dl}$ does not appear to have any clinical utility. In pathophysiological terms, this cutoff is not discriminatory for the tissular activity of cortisol. Levels of cortisol $> 22.75 \mu\text{g/dl}$ have high accuracy for prediction of death and could be useful for the indication of ICU hospitalization. Through unclear mechanisms and certainly not mediated by alterations in GR α and β expression, exogenous corticosteroids may cause lower glucocorticoid cellular activity, a phenomenon corroborated by reduction in S1P concentration. The reduction in serum cortisol secondary to GC adjuvant treatment has no relation with the decrease in IL-6 concentrations (there is no correlation between these variables).

Descriptors: Hydrocortisone; Sphingosine; Sepsis; Pneumonia; Adrenal insufficiency; Biomarkers

1. INTRODUÇÃO

O aumento do nível dos glicocorticoides nos tecidos durante doença aguda é uma importante resposta protetora do organismo. Muitas doenças e algumas medicações, entretanto, levam a alterações da resposta normal do cortisol ao estresse, com possível implicação no prognóstico destes pacientes.

Em situações clínicas como traumas, queimaduras e infecções, a necessidade de cortisol pode aumentar em até seis vezes, dependendo da gravidade da afecção, causando perda do ritmo circadiano de sua produção e consequente aumento de secreção (1).

A mortalidade em pacientes considerados graves parece estar associada com níveis de cortisol sérico elevados (2), possivelmente como reflexo da maior gravidade da doença, e também com níveis diminuídos, ratificando a ideia de que glicocorticoides são importantes para a sobrevivência na doença grave. Nesse contexto, torna-se difícil determinar qual a resposta adrenal adequada, que varia de acordo com a gravidade, com os níveis de proteínas séricas e com o grau de resistência à ação do hormônio nos diferentes tecidos.

1.1 Fisiologia do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal

Em indivíduos saudáveis, a secreção de cortisol é rigorosamente controlada pelo eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA). Em situações de desequilíbrio da homeostase (frio, infecção, hemorragia, hipotensão, estresse emocional, queimadura, dentre outros), o hipotálamo secreta o Hormônio Liberador de Corticotropina (CRH), que, por meio de sistema porta-hipofisário, atinge a adenohipófise e estimula células especializadas a liberarem o Hormônio Adrenocorticotrófico (ACTH). Este atua no córtex das suprarrenais estimulando a liberação de hormônios esteroides, principalmente o cortisol. O sistema é modulado pelo mecanismo de *feed-back* negativo tanto em nível hipofisário quanto hipotalâmico (3).

O cortisol, fisiologicamente, possui um padrão de secreção diurno e pulsátil, com níveis circulatórios máximos pela manhã e notável decréscimo ao longo do dia. Em condições fisiológicas, a adrenal secreta diariamente em torno de 20-30 mg de cortisol; sob estresse, esta secreção pode ser multiplicada por 10-12 vezes (4); as concentrações

séricas normais variam de 5 – 24 µg/dl, a depender do ciclo circadiano (5). Quase totalidade do cortisol circulante (90 – 95%) é carregada junto a proteínas plasmáticas [cortisol binding globulin (CBG) e albumina], sendo a fração livre a bioativa (3).

Em nível celular, os glicocorticoides (GC) atravessam livremente a membrana plasmática e se ligam a receptores citoplasmáticos (GR), formando o complexo dimérico GC-GR, que, ativado, muda sua conformação, desloca-se ao núcleo, liga-se a sequências de DNA específicas (*glucocorticoid-response elements* – GREs) e medeia a transcrição de genes anti-inflamatórios, como o da IL-10 (6). Alternativamente, o complexo GC-GR pode se ligar a sequências específicas que reprimem a transcrição de genes alvo proinflamatórios (*negative glucocorticoid-response elements* – nGRE) (7). A ação antiinflamatória do cortisol pode ocorrer também por um terceira via, indiretamente, por meio do “sequestro” de coativadores necessários para a transcrição de genes inflamatórios ou do bloqueio da ligação de fatores de transcrição proinflamatórios (NF-KappaB, AP1) a seus respectivos promotores (8).

De outro modo, em vez de ligação direta do complexo GC-GR aos GREs, pode haver modulação da transcrição gênica por meio de fatores específicos, como o AMP cíclico e o NF-KappaB, cuja atividade é regulada por sinais extracelulares mediados por receptores de superfície celulares, prevenindo a ativação de genes proinflamatórios (8).

Grande variedade interindividual da sensibilidade ao cortisol tem sido relatada em estudos populacionais. Embora ainda pouco compreendida, esta variabilidade parece estar realacionada, ao menos em parte, a variações genéticas nos GRs. Três isoformas de GR foram isoladas: GR- α , mais abundante, funcionalmente ativa; GR-P, otimiza a função do GR- α ; e GR- β , inibidor do GR- α . Acredita-se que mudanças nos níveis de cada isoforma dos GR regulam a sensibilidade tissular ao cortisol (9).

1.2. Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal e doença crítica

Na doença crítica, mediadores inflamatórios (destacam-se IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e TNF- α) ativam o eixo HHA em níveis hipotalâmico, hipofisário e adrenal de tal forma que se perde o padrão pulsátil e a variabilidade circadiana da secreção de cortisol (10, 11). O hipercortisolismo resultante inicialmente é protetor, por aumentar a gliconeogênese, manter o volume intravascular e modular a resposta inflamatória. Os níveis de cortisol permanecem elevados no decorrer da doença crítica, a despeito da redução do ACTH, sugerindo a participação de outras vias nesta regulação (12, 13). Uma vez ultrapassada a fase crítica da doença, os níveis de cortisol tendem a voltar ao normal. A permanência do hipercortisolismo, contudo, parece estar associado a complicações a longo prazo (hiperglicemia, miopatia, alterações psiquiátricas, má cicatrização de feridas) (14).

Paralelamente à ativação do eixo HHA, ocorrem alterações na função e no metabolismo do cortisol na doença crítica, a saber: 1. redução no metabolismo do cortisol, relacionado à supressão da expressão e ativação de enzimas associadas a este processo, o que contribui para a hipercortisolemia e redução do ACTH (15); 2. disfunção renal prolonga a meia vida do cortisol circulante; 3. as concentrações da CBG e albumina estão diminuídas, assim como sua afinidade pelo cortisol, o que aumenta a fração livre e bioativa do hormônio (16); 4. citocinas inflamatórias podem aumentar a afinidade do GR, inibir a ativação do cortisol e aumentar a conversão periférica de seus precursores (16, 17).

Dessa forma, a resposta ao estresse na doença aguda é caracterizada por ativação do eixo HHA e do sistema simpatoadrenal, aumento dos níveis séricos de cortisol, aumento do percentual de sua fração livre e maior translocação nuclear do complexo GC-GR. Em muitos doentes críticos, entretanto, estas vias podem estar inibidas. Os mecanismos de disfunção do eixo HHA neste contexto são complexos e ainda pouco compreendidos (18).

Insuficiência adrenal absoluta é incomum em pacientes críticos, com incidência estimada menor que 3% (19). Um subgrupo de pacientes pode desenvolver dano estrutural nas suprarrenais (infarto, hemorragia), o que determina insuficiência adrenal

primária e disfunção do eixo em longo prazo. Trauma abdominal, grandes cirurgias, coagulação intravascular disseminada, trombocitopenia induzida por heparina, HIV, infecções fúngicas e tuberculose são condições associadas à hemorragia adrenal (18, 20). A reposição exógena de glicocorticoide em doses supressoras do eixo é causa de insuficiência adrenal secundária. O tempo necessário para se suprimir o eixo varia conforme a dose e de paciente para paciente, devido às diferenças individuais no metabolismo dos glicocorticoides. Admite-se integridade do eixo naqueles pacientes que fazem uso de qualquer dose não parenteral por menos de três semanas ou doses fisiológicas em dias alternados independente do tempo (21). Considera-se eixo suprimido naqueles pacientes com manifestações clínicas de Síndrome de Cushing ou que utilizam 20 mg/dia de prednisona ou equivalente por mais de três semanas. A supressão do eixo é incerta naqueles pacientes que fazem uso de doses supra-fisiológicas de glicocorticoides por mais de 3 – 6 semanas (22). Diversas drogas também causam insuficiência adrenal. Indutores do citocromo P-450 (rifampicina, fenitoína) aumentam o metabolismo de cortisol, enquanto cetoconazol e etomidato deprimem secreção e síntese do hormônio (16, 23).

A maioria dos doentes críticos que desenvolvem insuficiência adrenal, contudo, fazem-no por disfunção reversível do eixo HHA. Redução na produção de cortisol e de ACTH por mecanismos ainda não completamente esclarecidos têm sido comumente relatadas em pacientes com sepse grave e choque séptico, condição conhecida como insuficiência adrenal relativa ou funcional (18).

O diagnóstico de insuficiência adrenal na vigência de doença crítica é um desafio. Avaliações laboratoriais convencionais, como o cortisol basal e pós-ACTH sintético, são incertas nesta circunstância.

- Cortisol total sérico: os níveis de cortisol que indicam falência do eixo são desconhecidos. Apesar de diferentes valores terem sido propostos para o diagnóstico de insuficiência adrenal, mais amplamente disponível na literatura está na faixa de normalidade de 10 – 34 µg/dl (18). Outro problema remete à alta taxa de ligação do hormônio a proteínas plasmáticas, de modo que níveis reduzidos poderiam representar simplesmente hipoalbuminemia ou redirecionamento de síntese proteica hepática (24). Adicionalmente, resultados

a respeito da predição de risco com base nos níveis séricos de cortisol são conflitantes na literatura. Aumento de mortalidade pode estar associado tanto a baixos títulos (resposta insuficiente ao estresse) quanto a altos títulos (reflexo de maior gravidade da doença) (25 – 27).

- Cortisol livre: a dosagem do cortisol livre resolveira o problema quanto à mudança nas concentrações de proteínas plasmáticas (CBG e albumina). Estudos sugerem que o cortisol livre reflete com maior acurácia a ativação do eixo HHA, enquanto ensaios padronizados para detecção de cortisol sérico parecem subestimar esta ativação. Um estudo evidenciou, em doentes críticos, aumento do cortisol total na ordem de 2 – 3 vezes e de cortisol livre de 7 – 10 vezes, comparado a voluntários sadios (28). Dessa forma, os ensaios tradicionais de cortisol total poderiam subestimar a ativação do eixo. A medida do cortisol livre com os métodos de diálise de equilíbrio ou de ultrafiltração é não automatizada, pouco disponível, complexa e laboriosa. O cortisol livre pode ser estimado, contudo, a partir do cortisol total, da CBG e da albumina, por meio de fórmulas, das quais se destaca a equação de Coolens. Parece haver boa correlação entre o cortisol livre medido e estimado pela equação de Coolens (29). Apesar da lógica supracitada, ainda não há dados suficientes que suportam o uso do cortisol livre.
- Teste da Cortrosina em altas doses: é utilizado para avaliação da integridade do eixo HHA. Consiste na administração de 250 µg de corticotropina intravenosa e dosagem de cortisol sérico após 30 – 60 min. Sugere-se diagnóstico de insuficiência adrenal se cortisol pós-estímulo < 20 µg/dl ou incremento (Δ cortisol) < 9 µg/dl (18, 30). Trata-se de uma dose elevada, capaz de suplantar uma eventual resistência adrenal ao ACTH e gerar resposta normal mesmo no paciente com má adaptação ao estresse (31). Por outro lado, a não resposta pode não ser indicativa de insuficiência, mas sim uma secreção de cortisol máxima e proporcionalmente apropriada ao estímulo.
- Teste da Cortrosina em baixas doses: uma vez que 250 µg de corticotropina é considerada dose suprafisiológica e capaz de estimular a secreção de cortisol mesmo com reserva adrenal diminuída, 1 µg de corticotropina tem sido

proposto como alternativa (32). Uma coorte prospectiva de 59 pacientes com choque séptico comparou ambos os testes e detectou insuficiência adrenal em 22% dos pacientes com 1 µg de corticotropina, enquanto se identificou 9% com 250 µg (31).

Uma outra coorte prospectiva foi efetuada com intenção de comparação de baixas e altas doses de corticotropina em 46 pacientes com choque séptico. Pacientes respondedores (Δ cortisol > 9 µg/dl), independente do teste, apresentaram maior sobrevida que não respondedores. Aqueles que responderam somente ao teste com 250 µg evidenciaram maior mortalidade. Sugere-se que o teste com 1 µg de corticotropina identifica um subgrupo de doentes com reserva adrenal inadequada negligenciado pelo teste com altas doses (33).

Annane et al. Dividiram uma coorte prospectiva de 189 pacientes com choque séptico em três grupos prognósticos, de acordo com o cortisol basal e resposta ao teste da cortrosina em altas doses: 1. bom prognóstico (26% mortalidade em 28 dias) – cortisol basal ≤ 34 µg/dl e Δ cortisol > 9 µg/dl; 2. mau prognóstico (82% mortalidade em 28 dias) – cortisol basal > 34 µg/dl e Δ cortisol ≤ 9 µg/dl; e 3. prognóstico intermediário (67% mortalidade em 28 dias) – cortisol basal > 34 µg/dL e Δ cortisol ≥ 9 µg/dl ou cortisol basal < 34 µg/dl e Δ cortisol ≤ 9 µg/dl (14).

Outras limitações da avaliação da função adrenal em doentes críticos são conhecidas. Pacientes podem apresentar incremento espontâneo (sem estímulo) no cortisol sérico ≥ 9 µg/dl, o que coloca em cheque a validade clínica deste dado (34); a reprodutibilidade do teste da cortrosina é questionável, com resultados variados quando efetuado no mesmo indivíduo em mais de uma ocasião (35); o metabolismo do cortisol é alterado, sendo este ao menos parcialmente responsável pela hipercortisolemia e não somente a ativação do eixo (15); o etomidato, droga comumente utilizada no contexto de doença crítica, pode interferir nos resultados dos testes (36); e a metodologia mais acurada de dosagem do cortisol (cromatografia líquida com espectrometria de massa) é pouco disponível e trabalhosa, comumente substituída assistencialmente por imunoensaio (37).

Em um estudo com 35 pacientes sépticos submetidos à ventilação mecânica, foi testada a correlação entre níveis séricos (total e livre) e tissulares de cortisol medidos por meio de cateter de microdiálise no tecido celular subcutâneo da coxa. Observou-se

correlação apenas moderada entre estes níveis, de modo que muitos pacientes apresentaram medidas discrepantes de concentrações intersticiais e circulantes de cortisol (38). Resistência tissular a glicocorticoides é uma condição classicamente descrita em afecções inflamatórias crônicas (DPOC, asma grave, lúpus eritematoso sistêmico, retocolite ulcerativa, artrite reumatoide). Dados recentes apontam para a participação desta condição, inclusive, em processos inflamatórios sistêmicos agudos, como sepse e síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA). Resultados de estudos clínicos e experimentais indicam que a ausência de melhora em sepse e SDRA pode se correlacionar com falha na ativação de GR em modular a resposta inflamatória, condição conhecida como resistência a GC associada à inflamação sistêmica (*systemic inflammation-associated glucocorticoid resistance*) (18). Meduri et al. demonstraram, em modelo ex vivo, redução da translocação nuclear do complexo GR-GC em pacientes com SDRA fatal, a despeito de concentrações plasmáticas adequadas de cortisol (39). Um estudo acompanhou 23 crianças admitidas numa UTI pediátrica com sepse e choque séptico. Isolados neutrófilos destes pacientes, observaram-se níveis reduzidos de RNA mensageiro (RNAm) de GR- α e GR-P nos primeiros dias de internação, com recuperação progressiva, sugerindo uma resposta adaptativa durante a sepse de aumento da resistência de neutrófilos ao cortisol (9). Diversos mecanismos têm sido implicados na resistência a GC associada à inflamação sistêmica: redução de GR, aumento da expressão da isoforma β , redução da afinidade de GR a ligantes, coativadores de receptores nucleares alterados, redução da ligação ao DNA, aumento da conversão de cortisol em cortisona, polimorfismos de GR, dentre outros. Acredita-se que mediadores liberados no decorrer da doença crítica possam tanto estimular como inibir a síntese e ação do cortisol a depender da gravidade da doença, tempo de evolução e do padrão dos mediadores, interferindo no eixo HHA e/ou na sinalização dos GRs (18).

1.3. Insuficiência de corticosteroides relacionada à doença crítica

Nota-se uma complexa relação entre produção deficitária de GCs e resistência tissular a estes hormônios. Recomenda-se, pois, a substituição das denominações insuficiência adrenal absoluta e/ou relativa por Insuficiência de Corticosteroides Relacionada à Doença Crítica (CIRCI, do inglês Critical Illness-Related Corticosteroid Insufficiency). Trata-se de uma condição dinâmica, usualmente reversível, caracterizada por atividade celular inadequada de corticosteroides em relação à gravidade da doença, que se manifesta com mediadores proinflamatórios persistentemente elevados. Não há consenso a respeito dos critérios diagnósticos e indicações de tratamento desta síndrome (18).

O quadro clínico destes pacientes, embora pouco estudado, parece ser inespecífico. Quando os sintomas clássicos de crise adrenal (ou addisoniana) estão presentes em pacientes com outros comemorativos clínicos de insuficiência adrenal, como hiperpigmentação, o diagnóstico pode ser suspeitado com maior facilidade, porém apenas a minoria destes pacientes apresenta tais achados. As manifestações clínicas da CIRCI são consequência de uma resposta inflamatória exacerbada. A hipotensão refratária à ressuscitação volêmica com necessidade de vasopressores é um marco para a suspeita. Laboratorialmente, pode haver eosinofilia e hipoglicemia. Hiponatremia e hipercalemia são incomuns (18).

No estudo de Annane et al., a incidência de insuficiência adrenal (Δ cortisol ≤ 9 μ g/dl após 250 μ g de cortrosina) em pacientes com choque séptico foi de 54% (14). Um estudo realizado na Austrália, no qual se excluíram pacientes que receberam etomidato, a incidência nos doentes com choque séptico foi de 24,5% (40).

Muitos ensaios clínicos randomizados controlados que avaliaram a reposição de glicocorticoides em pacientes críticos (sepse grave, choque séptico, SDRA) foram publicados nas últimas décadas. Doses, drogas, estratégias e tempo de tratamento diferentes foram testados. Dois trials são considerados os principais, ambos incluíram pacientes com choque séptico e realizaram teste de cortrosina em altas doses. No estudo multicêntrico francês, foram randomizados 300 pacientes, divididos em grupo intervenção (hidrocortisona 50 mg 6/6 hrs + Fludrocortisona 50 μ g/dia) e controle

(placebo). Houve diferença de mortalidade entre os grupos, 55% vs. 61%, respectivamente. Quando se estratificou quanto à função adrenal, aqueles pacientes com reserva adrenal adequada (Δ cortisol $> 9 \mu\text{g/dl}$) não tiveram benefício de mortalidade ou desmame de vasopressor, ao contrário do observado em pacientes com reserva adrenal diminuída (41). Por outro lado, o estudo CORTICUS randomizou 499 pacientes entre hidrocortisona e placebo. Não houve diferença entre os grupos (mortalidade em 28 dias de 35% vs. 32%, respectivamente), inclusive quando se analisou os subgrupos quanto à reserva adrenal. O grupo hidrocortisona evidenciou reversão mais rápida do choque (3,3 vs. 5,8 dias no grupo placebo). Assim, o CORTICUS não demonstrou diferença entre pacientes respondedores ou não respondedores a corticosteroide em altas doses quanto ao tratamento adjuvante com corticosteroide (42). Apesar de grandes diferenças metodológicas entre os dois trabalhos (janela terapêutica, fludrocortisona, tempo de tratamento, estratégia de desmame do corticoide, critérios de inclusão da amostra, gravidade dos pacientes incluídos, percentual de pacientes cirúrgicos, incidência de insuficiência adrenal) e dos resultados conflitantes, os guidelines de manejo de sepse e choque séptico publicados em seguida (*The Surviving Sepsis Campaign*) orientam que o tratamento adjuvante com corticosteroides não deve ser baseado na resposta a testes com ACTH sintético. Em resumo, recomenda-se o uso de hidrocortisona intravenosa nos casos de choque séptico com má resposta após ressuscitação volêmica e terapia vasopressora, com doses não superiores a 300 mg/dia; evita-se a dexametasona pela possível supressão imediata e prolongada do eixo HHA; fludrocortisona é dispensável quando se usa hidrocortisona pelo seu efeito mineralocorticoide intrínseco; sugere-se o desmame progressivo pelo risco do aumento de mediadores pro-inflamatórios e deterioração hemodinâmica com a suspensão abrupta (43).

Uma meta-análise publicada por Minneci et al. evidenciou uma relação linear inversa entre a gravidade da doença e o efeito de glicocorticoides na mortalidade. Sugere que esteroides são prejudiciais em pacientes menos graves e que, em baixas doses, aumentam a sobrevida em choque séptico com alto risco de morte (44). A heterogeneidade dos *trials* incluídos é alvo frequente de crítica e limita a confiabilidade deste efeito. Outra meta-análise publicada no mesmo ano, considerada de melhor qualidade, incluiu oito estudos (seis *trials* randomizados), 1876 pacientes com choque séptico; tratamento com corticosteroide não resultou em diferença na mortalidade em 28

dias, somente no tempo de choque, independente da função adrenal; conclui, ainda, que o GC não aumenta a incidência de infecções nosocomiais, ao contrário do que foi previamente sugerido pelo CORTICUS (45).

1.4. Insuficiência de corticosteroides relacionada à doença crítica e pneumonia adquirida na comunidade

Poucos estudos avaliaram a prevalência de insuficiência adrenal em subgrupos específicos de doentes; um destes, realizado em pacientes cirróticos com choque séptico, demonstrou prevalência de 76% de insuficiência adrenal em pacientes com Child C e 25% dos pacientes com Child B (46).

Um estudo brasileiro unicêntrico com 65 pacientes demonstrou que na pneumonia comunitária grave existia uma grande proporção de pacientes com insuficiência adrenal relativa, representando 65% do total de pacientes e 63% dos pacientes com choque séptico (47). Deve-se acrescentar, entretanto, que esse estudo usou um ponto de corte de 20 µg/dl para caracterizar os pacientes com insuficiência adrenal, um valor não consagrado pela literatura; o estudo também não realizou avaliação da função adrenal com teste da cortosina. Gotoh et al. demonstraram em 64 pacientes japoneses hospitalizados por pneumonia que níveis aumentados de cortisol basal e Δ cortisol < 9 µg/dl associam-se a maior mortalidade (48). Uma coorte unicêntrica brasileira foi publicada recentemente com o objetivo de determinar o que a função adrenal agrega em termos prognósticos em pacientes com pneumonia comunitária (PAC) grave. Foram incluídos 72 pacientes admitidos em UTI. CIRCI (cortisol basal < 15 µg/dl ou Δ cortisol < 9 µg/dl) foi diagnosticada em 40,8% da amostra e não foi associada a desfechos piores. Por outro lado, cortisol basal > 25,7 µg/dl foi preditor de morte; a pior combinação em termos de mortalidade se deu naqueles pacientes com cortisol > 34 µg/dl e Δ cortisol < 9 µg/dl. Salluh et al. sugeriram, então, que o nível sérico de cortisol é melhor preditor de mortalidade que escores já validados (APACHE II, CURB-65, SOFA), que o Δ cortisol e que outros marcadores laboratoriais (proteína C reativa, leucograma, D-dímero) (49). Posteriormente, o mesmo autor publicou uma revisão sistemática evidenciando uma prevalência de CIRCI de 0 – 48% em pacientes com PAC grave e que cortisol <10 µg/dl não está associado a pior evolução (50).

Assim, permanecem as controvérsias quanto a real definição e fisiopatologia da CIRCI e, por conseguinte, sua incidência e implicação prognóstica em pacientes com pneumonia comunitária.

1.5. Estratificação de risco em pneumonia adquirida na comunidade

O prognóstico de pacientes com Pneumonia Adquirida na Comunidade foi classicamente avaliado em um dos estudos PORT (*Patients Outcome Research Team*), observacional, prospectivo e multicêntrico, no qual se seguiram 1343 pacientes internados e 944 ambulatoriais. Os desfechos após 30 dias da apresentação foram os seguintes: 1. dentre os internados, identificou-se mortalidade de 8%, sendo 76% dos óbitos atribuídos propriamente à pneumonia, a maioria durante a internação; 2. dentre os ambulatoriais, houve 6 mortes (0,6%), 3 relacionadas à pneumonia (51).

De dados como estes, derivou-se o *Pneumonia Severity Index* (PSI), com o intuito de identificar pacientes com baixo risco de morte que pudessem ser tratados ambulatorialmente. Trata-se do score cuja eficácia e segurança para guiar o local de tratamento foram mais amplamente testadas por ensaios clínicos randomizados. O PSI estratificou adultos com evidência radiológica de pneumonia em cinco classes de risco de morte por qualquer causa em 30 dias após a apresentação. As variáveis incluídas se baseiam na história clínica, exame físico e achados complementares (laboratoriais e radiográficos) prontamente disponíveis à admissão. Seguem detalhes do score nas Tabelas 1 e 2 (52).

Tabela 1 – Escore PSI

CARACTERÍSTICAS	PONTOS
Fatores Demográficos:	
1. Idade homem	Nº anos
2. Idade mulher	Nº anos - 10
3. Residente em casa de repouso	Nº anos + 10
<i>Comorbidades</i>	
4. Câncer	+ 30
5. Doença hepática	+ 20
6. Insuficiência cardíaca congestiva	+ 10
7. Doença cérebro vascular	+ 10
8. Insuficiência renal	+ 10
<i>Exame físico</i>	
9. Estado mental alterado	+ 20
10. Frequência respiratória > 30/minuto	+ 20
11. PA sistólica < 90 mmHg	+ 20
12. Temperatura < 35°C ou > 40°C	+ 15
13. Pulso > 125/minuto	+ 10
<i>Laboratório e Radiografia</i>	
14. pH < 7.35	+ 30
15. Uréia > 64 mg/dl	+ 20
16. Sódio < 130 mEq/ L	+ 20
17. Glicemia > 250 mg/ dl	+ 10
18. Hematócrito < 30%	+ 10
19. PaO ₂ < 60 mmHg ou saturação O ₂ < 90%	+ 10
20. Derrame pleural	+ 10

Tabela 2 – Classificação PSI

Escala de risco	Pontos	Mortalidade	Local de tratamento
PORT I	Ausência de preditores	0,1-0,4%	Ambulatorial
PORT II	< 71 pontos	0,6-0,7%	Ambulatorial
PORT III	71- 90 pontos	0,9 - 2,8%	24 a 48 h no PS e alta hospitalar se estável
PORT IV	91-130 pontos	8,2 - 9,3%	Internado
PORT V	> 130 pontos	27,0 – 31,1%	Internado (considerar UTI)

É importante ressaltar que o instrumento deve servir como auxílio e não cegar o julgamento clínico. Uma baixa predição de mortalidade não deve ser o único fator a ser analisado quanto à decisão de admissão hospitalar. Um estudo multicêntrico observacional conduzido no Canadá incluiu 3065 pacientes de baixo risco (classes I e II). Aproximadamente um a cada cinco pacientes foi internado, metade por mais de 05 dias. Dos internados, 19% apresentaram uma ou mais complicações, incluindo necessidade de ventilação mecânica e empiema. Na análise multivariada, os seguintes fatores foram associados à internação: sexo feminino, apresentação em pequenos hospitais, funcionalidade reduzida, comorbidades, abuso de substâncias, doença psiquiátrica, frequência respiratória ≥ 28 ipm e sintomas como calafrio, respiração curta, náusea ou diarreia (53).

Uma limitação relevante remete à complexidade do escore, que inclui 20 variáveis, sistema de pontuação, divisão entre cinco classes, consumindo algum tempo para sua adequada execução.

Apesar do PSI ser plenamente validado e difundido, busca-se um instrumento de aplicabilidade mais simples. O escore CURB-65 é baseado em cinco fatores facilmente aplicáveis na definição de risco de morte em 30 dias. São eles:

- Confusão mental
- Ureia > 43 mg/dl
- Frequência respiratória > 30 ipm
- Pressão arterial sistólica < 90 mmHg ou diastólica $\leq$ 60 mmHg
- Idade $\geq$ 65 anos

Sugere-se que os pacientes que pontuem 0 (mortalidade de 0,7%) ou 1 (mortalidade de 2,1%) podem ser conduzidos ambulatorialmente, ao passo que $\geq$ 2 (mortalidade de 9,2%) em regime de internação. Para aqueles que pontuarem 3 (mortalidade de 14,5%) ou mais, considerar leito de terapia intensiva, especialmente para 4 (mortalidade de 40%) ou 5 (pequeno número de pacientes) (54).

1.6. Pneumonia adquirida na comunidade e biomarcadores

O PSI é o escore mais utilizado para a classificação de risco em PAC, porém, sugere-se que ele perde acurácia em pacientes com pneumonia grave. A variação intramédico na execução do PSI é estimada em aproximadamente 10%, sendo que classes de risco considerável como III e IV são as mais suscetíveis a subclassificações (60).

Por se tratar de uma doença infecciosa, classicamente se usam biomarcadores com proposta diagnóstica e prognóstica. Marcadores inflamatórios, como leucograma e proteína C reativa (PCR) continuam sendo amplamente utilizados a despeito de sua limitada relevância na capacidade de predição de risco em PAC.

No que tange a diagnóstico e guia de antibioticoterapia, a procalcitonina (PCT) apresenta melhor acurácia, conforme atestado por diversos estudos de intervenção no âmbito de infecções do trato respiratório inferior. A PCT tem sido alvo de estudos prospectivos para avaliar a indicação de antimicrobianos em pacientes com pneumonia e, nos casos indicados, sua interrupção segura. Encoraja-se a prescrição de antimicrobianos naqueles pacientes com concentrações maiores que 0,25 µg/L, enquanto não se recomenda se níveis menores que 0,1 µg/L. Esta abordagem está associada a menor exposição a antibióticos sem aumentar mortalidade ou falha de tratamento em pacientes com infecções do trato respiratório inferior (61, 62). Nos casos de PAC com PSI I e II, os níveis de PCT tendem a ser maiores (PCT > 0,15 µg/L) nos casos de pneumonia bacteriana, relação etiológica não identificada em classes de alto risco, nas quais houve correlação apenas prognóstica, como aumento da frequência de complicações em conformidade com as concentrações séricas do biomarcador (63). Um estudo observacional prospectivo incluiu 100 doentes críticos com PAC e observou que os níveis de PCT subiam entre os dias 1 e 3 de internação nos não sobreviventes, ao passo que decrescia nos sobreviventes; dentre os pacientes intubados, PCT < 0,95 µg/L no dia 3 é indicativo de bom prognóstico, com sobrevida de 95% (64). Dessa forma, a PCT pode ser um bom biomarcador para distinguir pneumonia viral de bacteriana, reduzir uso de antimicrobiano e prever gravidade e sobrevida.

Os peptídeos natriuréticos são hormônios vasoativos que se correlacionam fortemente com estresse cardiovascular, integrando funções sistólica e diastólica, frequência cardíaca, desempenho do ventrículo direito e função valvar. Adicionalmente, sua secreção parece ser estimulada por hipóxia, ocasionando vasoconstrição pulmonar, hipertensão pulmonar e sobrecarga ventricular direita. Acredita-se que os peptídeos natriuréticos em pacientes com PAC sejam capazes de integrar o grau de estresse cardiovascular agudo, a extensão do processo inflamatório sistêmico e a presença de comorbidades relevantes, principalmente disfunções renal e cardíaca (65). Pneumonia é, sabidamente, uma condição fortemente estressora cardiovascular devido a alterações importantes na microcirculação (redução da resistência vascular periférica e shunts arteriovenosos em áreas inflamadas). Uma revisão que avaliou a relação entre pneumonia pneumocócica e eventos cardiovasculares identificou que 19% da amostra apresentou pelo menos um evento cardíaco agudo (infarto agudo do miocárdio, fibrilação atrial,

taquicardia ventricular e insuficiência cardíaca descompensada) durante a internação, o que aumentou substancialmente a mortalidade neste subgrupo (66). Um estudo suíço incluiu 341 pacientes com PAC que se apresentaram ao departamento de emergência e comparou, em termos de mortalidade em curto e longo prazo, os níveis de peptídeos natriuréticos (NT-proBNP, MR-proANP e BNP) com o PSI e o CURB-65. Às análises de curva ROC, estes biomarcadores evidenciaram acurácia comparável ao PSI e melhor que o CURB-65. Na análise multivariada, o NT-proBNP foi identificado como preditor independente de mortalidade. Apesar do PSI e dos peptídeos natriuréticos, separadamente, inferirem prognóstico de maneira equivalente, sua associação confere informações adicionais. Esta abordagem permite subestratificar os pacientes classificados como alto risco pelo PSI, conforme os níveis dos peptídeos natriuréticos, com destaque para o NT-proBNP, sugerindo um tratamento mais intensivo e supervisionado além de um follow-up estrito (65).

A adrenomedulina (ADM) é um peptídeo de 52 aminoácidos sintetizado a partir do precursor pre-pro-adrenomedulina. O gene da ADM é expresso numa gama diversa de tecidos, incluindo medula adrenal, rins, ventrículos, pulmões e endotélio vascular. Seus níveis séricos estão elevados em diversos estados mórbidos, usualmente como resposta compensatória a distúrbios cardiovasculares, e se correlacionam com hipotensão em pacientes com choque séptico. O peptídeo possui meia-vida curta e, assim que liberado na circulação, se liga rapidamente a receptores nos tecidos circunvizinhos, o que dificulta a viabilidade técnica da dosagem. A MR-pro-ADM (*mid-regional proadrenomedullin*) é um fragmento inativo da ADM, mais estável, que reflete de maneira acurada os níveis séricos desta última, e, por isso, é a forma mais frequentemente utilizada nos estudos. Admitem-se diversos efeitos biológicos da ADM, dentre os quais se destacam seu potente efeito vasodilatador, imunomodulação e atividade bactericida (67). Num modelo experimental de peritonite induzida em ratos, o tratamento com ADM intraperitoneal reduziu o desenvolvimento de lesão pulmonar aguda, atenuando o recrutamento de leucócitos no tecido pulmonar e a expressão de citocinas pro-inflamatórias e de moléculas de adesão intercelular. Estes efeitos anti-inflamatórios estão associados à inibição da ativação do NF- κ B (nuclear fator κ B) (68). Um estudo alemão incluiu 728 pacientes com PAC com o objetivo avaliar a capacidade de predição de mortalidade em 28 e 180 dias de biomarcadores inflamatórios e cardiovasculares. Todos os biomarcadores

cardiovasculares (MR-pro-ADM, MR-pro-ANP, coceptina e pro-endotelina-1) foram bons preditores de mortalidade a curto e longo prazo, comparáveis ao CRB-65 e superiores aos biomarcadores inflamatórios (PCR, PCT e leucograma). A MR-pro-ADM foi preditora independente de mortalidade, tendo a melhor performance dentre os biomarcadores. Sua adição ao CRB-65 otimizou a acurácia da estratificação de risco, enquanto a adição do CRB-65 à MR-pro-ADM não resultou em melhora (69). À semelhança dos resultados supracitados, Courtais C. et al. evidenciaram que a proADM prediz risco de óbito em 30 dias após a admissão no departamento de emergência em pacientes com PAC PSI IV e V, de modo que a combinação PSI e proADM gera melhor avaliação de risco comparado ao PSI, isoladamente. Relatos apontam para uma alta mortalidade a longo prazo em pacientes após a fase aguda da PAC (70). Doenças cardiovasculares e respiratórias crônicas, neoplasias e insuficiência renal são as principais causas de óbito, porém em muitas ocasiões estas comorbidades são subclínicas na apresentação da pneumonia e até mesmo após o episódio. Dessa forma, a elevação de proADM pode ser atribuída a comorbidades e disfunções cardiovasculares ocultas agravadas pelo estresse inflamatório agudo e, por isso, trata-se de um promissor biomarcador na predição de mortalidade tanto a curto como a longo prazo.

1.7. A relação entre Esfingosina-1-fosfato e glicocorticoide

Diversos estudos clínicos recentes objetivaram analisar o efeito do tratamento adjuvante com glicocorticoides em pneumonia grave, assim como em outras condições inflamatórias e infecciosas, como a sepse e Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo. Um dos grandes obstáculos a esta conduta e causa de resultados controversos remete ao entendimento incompleto dos mecanismos moleculares pelos quais o GC modula a inflamação.

Os GC se ligam aos seus receptores nucleares (GR) e o monômero resultante (complexo GC – GR ativado) suprime as atividades inflamatórias de diversos fatores de transcrição, como por exemplo o NF- κ B, por meio de um mecanismo chamado transrepressão. Entretanto, foi demonstrado por diversos estudos experimentais que a inibição da inflamação não depende somente da repressão gênica, mas também da

ativação de regiões específicas do DNA, conhecidas com GREs (*glucocorticoid response elements*) por meio de uma ligação direta do complexo GC – GR dimerizado. Trata-se da transativação (71).

Em modelo experimental de lesão pulmonar aguda (LPA) em ratos, foi identificado um novo mecanismo de ação dos GC que contesta o dogma clássico da supressão de citocinas pró-inflamatórias. Estímulos pró-inflamatórios e dexametasona, sinergisticamente, induzem o gene da esfingosina-1-quinase (SphK1) através da ativação de GR em macrófagos, o que resultou na elevação dos níveis séricos de esfingosina-1-fostato (S1P). Este dado se demonstrou essencial para a regulação da inflamação. Os autores reforçam o eixo SphK1 – S1P – S1PR1 (receptor) como um importante regulador da integridade da barreira endotelial que previne a LPA através da ligação S1P – S1PR1 nas células endoteliais pulmonares (71).

Apesar de os macrófagos serem os grandes contribuidores para a elevação dos níveis de S1P na vigência de ativação gênica de SphK1 por GC, outras fontes de S1P são conhecidas, tais como as células endoteliais, as plaquetas e as hemácias, que, portanto, contribuem para o seu nível sérico basal (72).

A S1P é um esfingolípido bioativo que regula vários processos fisiológicos e fisiopatológicos, principalmente nos sistemas imune e vascular-endotelial. Encontra-se em altas concentrações plasmáticas, ligada principalmente a albumina e a lipoproteína de alta densidade (HDL). Sua atividade é mediada pela ligação a cinco tipos de receptores específicos (S1PR 1 – 5), dos quais o mais importante em termos de integridade endotelial é o S1PR1 (72).

A relação dos níveis séricos de S1P com a gravidade da sepse foi estudada em humanos. Em um estudo prospectivo observacional com 100 pacientes sépticos, a concentração de S1P nestes indivíduos foi aproximadamente 50% menor quando comparada a controles saudáveis e ainda menor nos pacientes mais graves (choque séptico). Houve correlação negativa entre S1P e marcadores inflamatórios, como PCR, PCT e IL-6, também observada com creatinina, lactato e balanço hídrico. Em modelo de regressão logística multivariada, a S1P foi o melhor preditor de choque séptico, seguido pelo escore SOFA (Sequential Organ Failure Assessment), com AUROC (*area under the receiver-operating-characteristic curve*) de 0,88, de modo que uma pequena redução nas

concentrações de S1P, da ordem de 1nmol/L, esteve associada a elevação de 1,2% no risco de desenvolver choque séptico (73).

O SOFA é um escore de avaliação de disfunção orgânica com acurada capacidade de predição de mortalidade em pacientes críticos que avalia seis diferentes sistemas: respiratório, cardiovascular, hepático, renal, neurológico e coagulação. Chama atenção o fato de um biomarcador isolado apresentar acurácia maior que um escore com tal magnitude.

Também há relatos de atividades proinflamatórias da S1P, principalmente no que tange ao egresso de linfócitos de órgãos linfáticos para o sangue mediado por S1PR1. Apesar de a apoptose de linfócitos ser a grande responsável pela linfopenia na sepse (74), níveis reduzidos de S1P podem contribuir para a fase de imunoparalisia e linfopenia que frequentemente segue a fase hiperinflamatória inicial (75). Dessa forma, a S1P pode ter diferentes efeitos de acordo com o estágio em que a sepse se apresenta.

Estudos experimentais apontam para a participação da S1P na regulação do tônus vascular (76). Em ratos anestesiados, a infusão intravenosa de S1P reduziu o fluxo sanguíneo nas artérias mesentérica e renal devido a vasoconstricção (77). Assim, níveis reduzidos de S1P em pacientes com sepse podem contribuir para a hipotensão no choque séptico.

Diante destas observações, seria lógico pensar em ensaios clínicos que suportassem o uso de análogos de S1P no tratamento da sepse. Vale ressaltar que o efeito deste mediador depende do padrão de expressão da classe de seu receptor específico. Portanto, ativar S1PR1 pode, de fato, antagonizar o aumento da permeabilidade capilar na sepse, o que não é reprodutível ao se ativar, todavia, S1PR2.

2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Pneumonia adquirida na comunidade é a principal causa de sepse e seu tratamento e prognóstico pouco mudou desde os anos 50, dado que a mortalidade hospitalar permanece elevada. Para combater este índice desafiador, um dos alicerces remete à adequada e rápida estratificação de risco. Um dos escores mais consagrados para este fim é o PSI, supradescrito, ora criticado pela sua alta complexidade e eventual dificuldade de implantação na prática clínica diária. Ademais, o PSI possui limitado potencial discriminatório na subpopulação de classes mais graves (III, IV e V), justamente os subgrupos que apresentam mortalidade relevante.

Considerável empenho tem sido empregado no desenvolvimento de novos biomarcadores com intuito diagnóstico, prognóstico e terapêutico nos últimos anos. Uma das principais variáveis mensuráveis em resposta fisiopatológica ao estresse é a ativação do eixo HHA via liberação de citocinas e outros mediadores proinflamatórios. Sabe-se, pois, que a elevação do cortisol total e livre apresenta boa correlação com desfechos desfavoráveis em PAC.

Cresce o interesse, contudo, na relação entre os baixos níveis de cortisol e a evolução destes pacientes. O termo insuficiência adrenal relativa deu espaço a Insuficiência de Corticosteroides relacionada a doença crítica (CIRCI) desde 2008, porém pouco se sabe do real mecanismo, impacto e necessidade de tratamento desta condição síndrome (18).

Em metanálise publicada em 2010 concluiu-se que o diagnóstico de CIRCI não trouxe efeito na mortalidade, mesmo com diferentes pontos de corte (cortisol total $< 10 \mu\text{g/dl}$ ou $< 15 \mu\text{g/dl}$) (50). Vale ressaltar que a suspeita padrão envolve a piora de desfechos relacionado a esta condição. Dos sete estudos incluídos nesta revisão, nenhum detinha poder estatístico considerável para identificar diferença de mortalidade entre os grupos. O maior estudo em questão, de Christ-Crain e colaboradores, incluiu 278 pacientes e evidenciou mortalidade de 6,6% no grupo CIRCI e 11,7% no grupo cortisol $> 10 \mu\text{g/dl}$, sem diferença entre eles (78).

Desenhemos um estudo com intenção de investigar as atuais definições de CIRCI, com cortisol total $< 10 \mu\text{g/dl}$, como um fator protetor e não de risco. O subgrupo de pacientes com níveis menores de cortisol seria aquele que apresenta menor estresse metabólico e menor resistência periférica ao hormônio e, por estas

razões, teria desfechos favoráveis. Se estivermos corretos, rotular pacientes com cortisol ≤ 10 µg/dl como insuficientes nos parece indevido.

3. HIPÓTESES

- Pacientes com PAC grave com cortisol ≤ 10 $\mu\text{g/dl}$ possuem melhores desfechos, inclusive menor mortalidade;
- O cortisol total é uma ferramenta útil para estratificar desfechos desfavoráveis em pacientes com PAC grave.
- Níveis séricos reduzidos de cortisol total e livre não se correlacionam com hipocortisolismo em nível celular;
- A S1P prediz com maior acurácia que escores consagrados a evolução de pacientes com pneumonia grave;
- O padrão de expressão de $\text{GR}\alpha$ e β à admissão é diferente entre pacientes sobreviventes e que evoluem a óbito.
- A prescrição de glicocorticoide exógeno altera a expressão de $\text{GR}\alpha$ e β e os níveis de S1P.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Determinar a incidência e o impacto prognóstico da CIRCI em pacientes com pneumonia comunitária grave.

4.2. Objetivos específicos

Identificar um nível de cortisol total discriminante de evolução adversa em pacientes com PAC grave.

Determinar a expressão de GR em polimorfonucleares e sua correlação com morbimortalidade em pacientes com PAC grave;

Avaliar os níveis séricos de S1P em pacientes com PAC grave e sua correlação com a expressão de GR e com os níveis séricos de cortisol;

Avaliar a relação entre os níveis séricos de cortisol e a função celular de glicocorticoide;

Identificar o efeito do glicocorticoide exógeno na resposta inflamatória, no padrão de expressão de GR α e β e nos níveis séricos de S1P.

5. CASUÍSTICA E MÉTODO

5.1 População de estudo

Este projeto previu a inclusão de uma amostra de conveniência de pacientes acometidos por PAC internados na Unidade de Emergência Referenciada do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo de Agosto de 2015 a Agosto de 2018.

Foram considerados critérios de inclusão:

- Maiores de 18 anos e;
- Infiltrado radiológico novo ou presumidamente novo em radiografia ou tomografia computadorizada de tórax compatível com pneumonia e;
- Evolução aguda dos sintomas (máximo de sete dias) totalizando pelo menos três de: 1. novos episódios ou piora de tosse; 2. escarro purulento ou mudança no padrão do escarro; 3. achados consistentes na ausculta respiratória; 4. dispnéia, taquipnéia ou hipoxemia ($\text{SatO}_2 < 90\%$ ou $\text{PaO}_2 < 60 \text{ mmHg}$ em ar ambiente); 5. febre (temperatura axilar $> 37,8^\circ\text{C}$) ou hipotermia ($< 35^\circ\text{C}$); leucograma $> 10.000 \text{ cels/mm}^3$ ou $< 4.000 \text{ cels/mm}^3$; $> 15\%$ de bastões e;
- $\text{PSI} \geq \text{IV}$ e;
- Origem da infecção adquirida na comunidade.

Foram critérios de exclusão:

- Pacientes elegíveis para cuidados paliativos exclusivos;
- Pacientes com condição clínica irreversível com morte esperada nos próximos três meses;
- Gestante (gravidez excluída com βHCG urinário ou sérico quando indicado)

5.2 Declaração ética

Este projeto foi submetido à Comissão de Ética de Projetos de Pesquisa – CAPPesq, aprovado à data de 05/02/2014. Todos os pacientes só foram incluídos após assinatura pelo próprio, quando possível, ou responsável do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

5.3 Desenho de estudo

Trata-se de uma coorte prospectiva, em que os pacientes incluídos foram divididos em dois grupos: (1) CIRCI (Cortisol ≤ 10 $\mu\text{g/dl}$); e (2) Cortisol > 10 $\mu\text{g/dl}$.

Calculamos a incidência de CIRCI somente dentre aqueles pacientes que não receberam glicocorticoide antes da inclusão e coleta da amostra de sangue, devido à reação cruzada com o imunoensaio do cortisol e potencial bloqueio de eixo secundários ao glicocorticoide exógeno.

O desfecho primário foi a mortalidade hospitalar. Os desfechos secundários foram: sepse, choque séptico, ventilação mecânica invasiva, injúria renal aguda, internação em unidade de terapia intensiva (UTI) e tempo de internação.

Analizamos estes grupos quanto à incidência dos desfechos supracitados e quanto à diferença nas concentrações de cortisol total e livre, S1P, PCT, PROADM, expressão de GR α e β em polimorfonucleares (cujas dosagens serão descritas adiante) e quanto à pontuação no escore SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*).

A amostra também foi dividida em: (1) Óbitos e (2) Sobreviventes; as análises seguiram as mesmas premissas citadas. Para as variáveis quantitativas que diferiram entre óbitos e sobreviventes, construímos curvas ROC para cada uma delas a fim de se avaliar sua acurácia de predição de óbito. A identificação de pontos de corte acurados por meio das curvas ROC permitiu nova estratificação da amostra para análises subsequentes.

Avaliamos ainda o efeito do tratamento adjuvante com glicocorticoide exógeno na resposta inflamatória, no padrão de expressão de GR α e β e nos níveis séricos de S1P.

5.4 Metodologia

Coleta e armazenamento das amostras

Foram coletados por meio de punção venosa periférica 40 ml de sangue, distribuídos em 8 tubos com EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) à vácuo. O plasma foi obtido por centrifugação e armazenado em tubo de criogenia em freezer a -80°C . Isolamos os leucócitos por densidade de gradiente de centrifugação com o reagente Ficoll e, pelo processo de separação celular por granulosidade, dividimos em linfomononucleares e polimorfonucleares.

Dosagem do cortisol total sérico e da CBG e cálculo do cortisol livre estimado

O cortisol total foi dosado no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular da Disciplina de Endocrinologia da FMUSP pelo método de quimioimunoensaio (*Immulite 2000*, Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Llanberis, Gwynedd, Reino Unido; CV intraensaio = 6,0%; CV interensaio = 7,8%; SA = 0,2 $\mu\text{g/dL}$). Coletamos as amostras sempre pela manhã na mesma punção venosa em que colhemos os 40 ml de sangue processados e armazenados conforme metodologia explicitada anteriormente.

As dosagens da CBG foram realizadas no plasma pelo método de ELISA com os kits *Human Costicosteroid Binding Globulin* (CBG) da MyBioSource®, catálogo MBS2600955. A sensibilidade do kit é de 0,6 ng/ml e o *range* de detecção varia de 3,12 ng/ml – 200 ng/ml. Não há reação cruzada ou interferência de outros análogos descritos pelo fabricante. A precisão intraensaio é $\leq 8\%$ e interensaio $\leq 12\%$.

As amostras e a curva padrão em diluições de concentrações conhecidas foram plaqueadas em 100 μl /poço e incubadas por 2 horas em 37°C . Após a lavagem das placas, 50 μl de anticorpo de detecção biotilado foram acrescentados por 1 hora a 37°C . Após a lavagem, as placas foram incubadas com conjugado streptoavidina peroxidase diluída em PBS 1:200 (50 μl) por 30 minutos à temperatura ambiente. As placas foram lavadas e incubadas com solução de tetrametilbenzidina durante 20 minutos. O bloqueio da reação ocorreu com o acréscimo de 25 μl /poço de ácido sulfúrico 2N. A densidade óptica das

amostras foi determinada em leitor de ELISA (Versa Max Molecular device®) com filtro de 450nm.

A medida do cortisol livre com os métodos de diálise de equilíbrio ou de ultrafiltração é não automatizada, pouco disponível, complexa e laboriosa. O cortisol livre pode ser estimado, contudo, a partir do cortisol total, da CBG e da albumina, por meio de fórmulas, das quais se destaca a equação de Coolens. Valores padrão para concentração e constante de dissociação de albumina para o cortisol são utilizados na equação de Coolens. Estimamos o cortisol livre, de porte das concentrações de CGB, com esta equação.

Dosagem da Esfingosina-1-fosfato (S1P)

As dosagens da S1P foram realizadas no plasma pelo método de ELISA, descrito detalhadamente acima, com os kits *Human Sphingosine 1 Phosphate (S1P)* da MyBioSource®, catálogo MBS069092. A sensibilidade do kit é de 1 ng/ml e a detecção varia de 6,25 ng/ml – 200 ng/ml. Não há reação cruzada ou interferência de outros análogos descritos pelo fabricante. Os coeficientes de variação intra e interensaio são menores que 15%.

Dosagem de GR α e β em polimorfonucleares

Com o kit *Human Glucocorticoid Receptor α* , catálogo MBS721078, da MyBioSource®, avaliamos os níveis de GR α em polimorfonucleares. A sensibilidade do kit é de 0,1 ng/mL. Os coeficientes de variação intra e interensaio são menores que 10%. O fabricante informa alta especificidade e não relata reação cruzada significativa ou interferência de outros análogos.

A avaliação quantitativa do GR β foi efetuada com o kit *Human glucocorticoid receptor β* , catálogo MBS702548, da MyBioSource®. A sensibilidade do kit é de 9,75

pg/ml, com range de detecção entre 39 pg/ml – 2500 pg/ml. A especificidade informada pelo fabricante é elevada, sem reação cruzada conhecida. Os coeficientes de variação intra e interensaio são menores que 8% e 10%, respectivamente.

Ambos os kits utilizam a metodologia de ELISA.

Dosagem da Procalcitonina

As dosagens da procalcitonina também seguiram a metodologia ELISA descrita acima e foram efetuadas no plasma. Os kits *Human Procalcitonin (PCT)*, catálogo MBS280180, da MyBioSource®, possuem sensibilidade de 50 pg/ml e range de detecção entre 62,5 pg/ml – 4000 pg/ml. O fabricante informa alta especificidade e nenhuma reação cruzada importante. Quanto à precisão, os coeficientes de variação intra e interensaio são menores que 8% e 12%, respectivamente.

Dosagem da Proadrenomedulina

O kit *Human Proadrenomedullin (PROADM)*, catálogo MBS9316018, MyBioSource®, utiliza o método de ELISA, possui sensibilidade de 10 pmol/L e range de detecção entre 125 pmol/L – 4000 pmol/L. Conforme informa o fabricante, não há reação cruzada significativa e os coeficientes de variação intra e interensaio são menores que 15%.

Quantificação de interleucinas por Milliplex

Para quantificação de interleucinas por Milliplex, foi utilizado o kit Millipore Rat Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel (RECYTMAG-65K). Foram dosados Interferon-gama (IFN-gamma), interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8) e interleucina-10 (IL-10).

Foram adicionados 200 μL de Assay Buffer em cada poço da placa, a qual foi selada e mantida em um agitador de placas durante 10 minutos, em temperatura ambiente (20 a 25° C). Decorridos 10 minutos, decantou-se a placa e removeu-se o volume residual, invertendo-a em toalha absorventes.

Foram adicionados 25 μL de cada Standard ou Controle nos poços adequados. Adicionaram-se também 25 μL de Assay Buffer nos poços da amostra. Acrescentaram-se 25 μL de solução de matriz (especial para dosagem sérica) nos poços dos controles, background e standards.

Acrescentaram-se 25 μL de amostra (diluída na proporção 1:2) nos seus poços específicos. Vortexamos o Mixing Bottle, tendo adicionado 25 μL das Premixed Beads em cada poço. Selou-se a placa, envolvendo-a com papel alumínio, para incubá-la em agitação por 2 horas à temperatura ambiente (20 a 25°C).

Após esse tempo, o conteúdo foi removido cuidadosamente, e a placa foi lavada duas vezes. Adicionaram-se 25 μL de Anticorpo de Detecção. Selou-se, cobriu-se com alumínio e incubou-se o conteúdo com agitação durante 1 hora.

Após incubação, foram adicionados 25 μL de Streptavidin-Phycoerythrin para cada poço da placa. Selou-se, cobriu-se com papel alumínio e incubou-se em agitação durante 30 minutos à temperatura ambiente (20 a 25°C).

Passado o tempo necessário, removeu-se cuidadosamente o conteúdo e lavou-se a placa duas vezes. Adicionaram-se 125 μL de Sheath Fluid (driving fluid MAGPIX) em todos os poços e, posteriormente, a placa foi lida no MAGPIX com software Xponent.

Análise estatística

A fim de descrever a amostra, estatísticas descritivas apropriadas para os tipos de dados e distribuições foram calculadas. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para avaliar a normalidade das variáveis. Os dados demográficos, clínicos e laboratoriais foram apresentados por meio de frequências e proporções para variáveis categóricas; e

medianas com suas respectivas variações interquartil (VIQ) para variáveis contínuas não normais.

Nas circunstâncias em que se dividiu a amostra em dois grupos, utilizamos o teste de de Kruskal-Wallis para variáveis quantitativas e o teste qui-quadrado para variáveis categóricas. Quando estratificamos em três grupos, também foram calculados testes de Kruskal-Wallis para variáveis quantitativas e teste qui-quadrado para variáveis categóricas, porém para aquelas com diferenças estatisticamente significativas, foram calculados pós-testes para Kruskal-Wallis (múltiplas comparações).

O coeficiente de correlação de Spearman foi calculado para estudar a associação do nível sérico de cortisol total com as concentrações de GR α , GR β , S1P e IL-6.

Para avaliar a acurácia a respeito da predição de óbito, elaboramos curvas ROC (*receiver-operating-characteristic*) para as variáveis SOFA, cortisol total e cortisol livre. A acurácia global foi representada como a área sob a curva ROC (AUROC – *area under the receiver-operating-characteristic curve*). Dessa forma, obtivemos pontos de corte que combinam melhores sensibilidade e especificidade das variáveis estudadas para predição de óbito, que permitiram nova estratificação da amostra sob análise dos mesmos preceitos estatísticos supracitados.

Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Todas as análises foram feitas com o programa RGui versão 3.36.

6. RESULTADOS

6.1 Diagnóstico de CIRCI utilizando como corte o valor de cortisol sérico menor que 10 µg/dl

Foram incluídos no estudo 149 pacientes, dos quais 91 não receberam nenhuma dose de glicocorticoide antes da coleta de amostra para análise. Destes indivíduos que receberam corticosteroide, 16 utilizavam cronicamente. Todos os pacientes receberam antimicrobiano conforme as rotinas assistenciais do serviço.

Inicialmente, foram avaliados os pacientes de acordo com o critério de CIRCI utilizado na literatura (Cortisol ≤ 10 µg/dl). Os pacientes foram divididos entre aqueles que receberam corticoides (cronicamente ou na entrada no serviço de emergência) e os que não receberam.

Confirmando a definição, observamos nas Figuras 1 e 2 que os pacientes com diagnóstico de CIRCI apresentavam níveis séricos de cortisol total e livre bem abaixo dos pacientes que não tinham esse diagnóstico. A incidência de CIRCI foi de 12,08% (11/91).

No entanto, quando observada a mortalidade nos dois grupos (Figura 3), não houve qualquer diferença estatística.

Partimos então para uma análise mais detalhada dos dois grupos. As principais características demográficas, clínicas e laboratoriais estão dispostas na Tabela 3. A tabela 4 disponibiliza as mesmas variáveis, porém referentes ao grupo de pacientes que não receberam glicocorticoide antes da coleta da amostra.

A taxa de mortalidade geral foi 18,12% (27/149); admitiu-se em UTI 42,8% (63/149) dos casos; a mediana do SOFA na admissão foi de 3 pontos (VIQ 2 – 4 pontos). As incidências de sepse e choque séptico foram de 62,41% (93/149) e 23,48% (35/149), respectivamente.

Tabela 3 – Variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais de acordo com a ocorrência de CIRCI, incluindo todos os pacientes*

	CIRCI (n=34)	Cortisol>10ug/dl (n=115)	Geral (n=149)	Valor p#
Idade (anos)	58,25(32,52 – 71,58)	66,9 (54,45 – 78,17)	61.52 (49,98 – 76,17)	0,026
Sexo masculino	15(44%)	69(60%)	84 (56,3%)	0,175
Mortalidade hospitalar	5 (14,7%)	22(19,1%)	27 (18,1%)	0,62
Sepse	21 (61,8%)	72 (63,2%)	93 (62,4%)	0,99
Choque séptico	7 (20,6%)	28 (24,6%)	35 (23,4%)	0,82
Ventilação mecânica	8 (23%)	26 (22,8%)	34 (22,8%)	0,98
Injúria renal aguda	4 (19%)	27 (52,9%)	31 (23,5%)	0,009
Procalcitonina (pg/ml)	1255 (851,77 – 1826,01)	1186,87 (834,79 – 1774,88)	1380,88 (838 - 1766,57)	0,57
S1P (ng/ml)	2,25 (1,58 – 3,30)	3,24 (2,08 – 5,04)	3,87 (1,95 – 4,74)	0,035
Cortisol (µg/dl)	6,8 (5,12 – 8,58)	18,7 (14,55 – 23,93)	22,19 (10,8 – 21,9)	<0,0001
GR alpha (ng/ml)	0,054 (0,043 – 0,133)	0,058 (0,038 – 0,096)	0,201 (0,04 – 0,096)	0,92
GR beta (pg/ml)	9,044 (4,264– 12,808)	10,216 (4,637– 26,988)	10,101 (4,556 – 25,762)	0,33
Cortisol livre (µg/dl)	0,082 (0,062 – 0,104)	3,95 (2,17 – 5,91)	2,61 (0,82 – 4,88)	<0,0001
CBG (ng/ml)	59,93 (52,13 – 66,62)	55,73 (45,20 – 64,18)	57,03 (46,42 – 65,10)	0,11
IL-6 (pg/ml)	14,25 (2,4 – 48,92)	24 (7,05 – 70,9)	19,4 (5,8 – 68,75)	0,076
Proadrenomedulina (pmol/ml)	587,45 (439,57 – 994,58)	541,77 (403,31 – 815,88)	776,96 (405,94 – 838,06)	0,39
Tempo de internação (dias)	9,5 (4,74 – 14)	10 (5 - 19)	10(5 - 18)	0,72
UTI	17 (51,5%)	46 (41,1%)	63(42,2%)	0,32
SOFA Admissão	2 (2 – 4)	3 (2 – 4)	3 (2 - 4)	0,21
SOFA basal	0 (0 – 1.75)	0 (0 - 1)	0 (0 - 1)	0,89

* Dados categóricos apresentados com frequência (%) e quantitativos com mediana (variação interquartil - VIQ)

Tabela 4 – Variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais de acordo com a ocorrência de CIRCI, incluindo somente os pacientes que não receberam glicocorticoide antes da coleta da amostra*

	CIRCI (n=11)	Cortisol>10ug/dl (n=80)	Geral (n=91)	Valor p#
Idade (anos)	33,2 (26,9 - 64,3)	65,60 (49,9 - 76,5)	64,4 (47,1 - 76,22)	0,0384
Sexo masculino	6 (54,54%)	47 (58,75%)	53 (58,2%)	0,98
Mortalidade hospitalar	1 (9,09%)	12 (15%)	13 (14,2%)	0,99
Sepse	8 (72,72%)	51 (63,75%)	59 (64,8%)	0,74
Choque séptico	2 (18,18%)	15 (18,754%)	17 (18,6%)	0,98
Ventilação mecânica	2 (18,18%)	13 (16,25%)	15 (16,4)	0,97
Procalcitonina (pg/ml)	1285 (761,14 – 1636,06)	1278,3 (889,30 – 1801,8)	1455,3 (877;1788)	0,77
S1P (ng/ml)	2,79 (2,25 – 4,52)	3,74 (2,25– 4,53)	3,73 (2,35 – 5,58)	0,38
Cortisol (µg/dl)	8 (7,3 – 8,67)	18,95 (15,05 – 23,5)	17,7 (13,99 – 22,75)	<0,0001
GR alpha (ng/ml)	0,06 (0,05 – 0,09)	0,057 (0,036 – 0,098)	0,05 (0,03 – 0,09)	0,23
GR beta (pg/ml)	7,17 (4,73 – 11,56)	9,02 (4,2 – 24,85)	8,6 (4,35 – 23,77)	0,77
Cortisol livre (µg/dl)	0,09 (0,08 – 0,11)	3,94 (2,23 – 5,89)	3,38 (1,97 – 5,35)	<0,0001
IL-6 (pg/ml)	6,85 (1,95 – 23,85)	15,2 (4,6 – 45,7)	13,5 (3,3 – 44,2)	0,25
Proadrenomedulina (pmol/ml)	502,6 (369,8 – 627,9)	542,9 (409,5 – 815,9)	534,3 (406,9 – 799,3)	0,47
Tempo de internação (dias)	12 (2 – 18,5)	11 (3,75 - 19)	10,82 (3 - 19)	0,835
UTI	4 (36,36%)	28 (35%)	52(35,2%)	0,99
SOFA Admissão	4 (2 – 5,5)	3 (2 – 4,5)	3 (2 - 5)	0,31
SOFA basal	1 (0 – 2,5)	0 (0 - 1)	0 (0 - 1)	0,14

* Dados categóricos apresentados com frequência (%) e quantitativos com mediana (variação interquartil - VIQ)

6.2 *Análise dos biomarcadores conforme a presença de CIRCI*

Em seguida, fomos determinar se a ocorrência de CIRCI pelos critérios clássicos da literatura, isto é, Cortisol total $\leq 10 \mu\text{g/dl}$, estava relacionada a alterações em mecanismos envolvidos no processo inflamatório. Com a premissa de que glicocorticoides exógenos apresentam reação cruzada com o imunoensaio do cortisol total, estes parâmetros são analisados somente na subpopulação de pacientes que não recebeu corticosteroide antes da inclusão.

Uma vez que a classificação dos grupos se baseia nos níveis de cortisol total, os níveis séricos diferem sobremaneira entre eles, conforme esperado ($8 \mu\text{g/dl}$ [VIQ 7,3 – 8,65 $\mu\text{g/dl}$] vs. $18,95 \mu\text{g/dl}$ [VIQ 15,05 – 23,5 $\mu\text{g/dl}$]; $p < 0,0001$) [Figura 1]. O cortisol livre também é diferente entre os grupos ($0,09 \mu\text{g/dl}$ [VIQ 0,08 – 0,11 $\mu\text{g/dl}$] vs. $4,14 \mu\text{g/dl}$ [VIQ 1,97 – 5,35 $\mu\text{g/dl}$]; $p < 0,0001$) [Figura 2].

A taxa de mortalidade intra-hospitalar dos pacientes com CIRCI for de 9,09%, enquanto 15% daqueles com Cortisol total $> 10 \mu\text{g/dl}$ evoluíram a óbito, sem, contudo, diferença estatisticamente significativa [Figura 3]. Não se observou diferença quanto a necessidade de ventilação mecânica ou de internação na UTI, incidência de sepse, de choque séptico ou de injúria renal aguda e do tempo de internação hospitalar [Tabela 4].

As concentrações de S1P, um segundo mensageiro da ação do cortisol, no entanto, não foram diferentes entre os grupos ($2,79 \text{ ng/ml}$ [VIQ 2,25 – 4,52 ng/ml] vs. $3,74 \text{ ng/ml}$ [VIQ 2,48 – 5,385 ng/ml ; $p = 0,38$]) [Figura 4]. Não há correlação estatisticamente significativa entre S1P e cortisol total (correlação de Spearman rho 0,08; $p = 0,44$) [Figura 5].

Em relação aos marcadores inflamatórios, não encontramos diferença entre as concentrações séricas de procalcitonina [Figura 6] e de proadrenomedulina [Figura 7].

Figura 1 – Níveis de cortisol total nos grupos CIRCI e com Cortisol > 10 µg/dl. Conforme esperado, os valores de cortisol total sérico nos dois grupos são diferentes (8 µg/dl [VIQ 7,3 – 8,65 µg/dl] vs. 18,95 µg/dl [VIQ 15,05 – 23,5 µg/dl]; $p < 0,0001$)

Figura 2 – Níveis de cortisol livre nos grupos CIRCI e com Cortisol > 10 µg/dl. Os valores de cortisol livre nos dois grupos são menores no grupo com CIRCI (0,09 µg/dl [VIQ 0,08 – 0,11 µg/dl] vs. 4,14 µg/dl [VIQ 1,97 – 5,35 µg/dl]; $p < 0,0001$)

Figura 3 – Mortalidade estratificada por CIRCI e cortisol > 10 µg/dL. Não há diferença estatística entre os grupos

Figura 4 – Níveis séricos de S1P nos grupos CIRCI e Cortisol > 10 μ g/dl. Não encontramos diferença estatística entre pacientes com CIRCI (2,79 ng/ml [VIQ 2,25 – 4,52 ng/ml]) e com Cortisol > 10 μ g/dl 3,74 ng/ml [VIQ 2,48 – 5,385 ng/ml]; $p = 0,38$)

Figura 5 – Correlação entre o nível sérico de cortisol total e de S1P. Não há correlação estatisticamente significativa (correlação de Spearman rho 0,08; p 0,44)

Figura 6 – Níveis séricos de procalcitonina nos grupos CIRCI e Cortisol > 10 $\mu\text{g/dl}$. Não encontramos diferença estatística entre pacientes com CIRCI [1285 pg/ml (VIQ 761,14 – 1636,06 pg/ml)] e com Cortisol > 10 $\mu\text{g/dl}$ [1278,3 pg/ml (VIQ 889,30 – 1801,8 pg/ml)]; $p = 0,77$

Figura 7 – Níveis séricos de proadrenomedulina nos grupos CIRCI e Cortisol > 10 $\mu\text{g/dl}$. Não encontramos diferença estatística entre pacientes com CIRCI [587,45 pmol/ml (VIQ 439,57 – 994,58 pmol/ml)] e com Cortisol > 10 $\mu\text{g/dl}$ [542,9 pmol/ml (VIQ 409,5 – 815,9 pmol/ml)]; $p = 0,4726$

Também não encontramos diferença estatisticamente significativa entre os grupos CIRCI e Cortisol > 10 $\mu\text{g/dl}$ no que tange à incidência de sepse, choque séptico, injúria renal aguda, necessidade de ventilação mecânica invasiva e de internação em UTI, duração da internação hospitalar, assim como SOFA admissional [Tabela 4].

6.3 Análise dos receptores de glicocorticoide (GR α e GR β) em relação a ocorrência de CIRCI

Não houve diferença estatisticamente significativa nas concentrações de GR α nos grupos CIRCI (0,065 ng/ml [VIQ 0,057 – 0,118 ng/mL] vs. Cortisol > 10 μ g/dl (0,057 ng/ml [VIQ 0,036 – 0,098 ng/ml]; $p = 0,23$) [Figura 8]. O mesmo se observou em relação à expressão de GR β (7,17 pg/ml [VIQ 4,53 – 11,56 pg/ml] vs. 9,02 pg/ml [VIQ 4,2 – 24,85 pg/ml]; $p = 0,67$) [Figura 9].

Figura 8 – Concentrações de GR α em polimorfonucleares nos grupos CIRCI e Cortisol > 10 μ g/d. Não encontramos diferença estatística entre os grupos CIRCI (0,065 ng/ml [VIQ 0,057 – 0,118 ng/mL] e Cortisol > 10 μ g/dl (0,057 ng/ml [VIQ 0,036 – 0,098 ng/ml]; $p = 0,23$)

Figura 9 – Concentrações de GR β em polimorfonucleares nos grupos CIRCI e Cortisol > 10 μ g/dl. Não encontramos diferença estatística entre os grupos CIRCI (7,17 pg/ml [VIQ 4,53 – 11,56 pg/ml]) vs. Cortisol > 10 μ g/dl (9,02 pg/ml [VIQ 4,2 – 24,85 pg/ml]; p = 0,67)

A correlação de Spearman entre o nível sérico de cortisol e GR α não é significativa (rho -0,018; p 0,08) [Figura 10], assim como entre cortisol e GR β (rho 0,08; p 0,47) [Figura 11].

Figura 10 – Correlação entre o nível sérico de cortisol total e de GR α . Não há correlação estatisticamente significativa (correlação de Spearman rho -0,018; p 0,08)

Figura 11 – Correlação entre nível sérico de cortisol e concentração de GR β em polimorfonucleares. Não há correlação estatisticamente significativa (ρ 0,08; p 0,47)

6.4 Análise do cortisol e dos biomarcadores conforme a mortalidade

Uma vez que não identificamos desfechos clínicos robustos associados à ocorrência de CIRCI, analisamos a amostra estratificando-a entre sobreviventes e óbitos.

A tabela 5 evidencia toda a amostra. Ao se reservar a análise àqueles pacientes que não receberam tratamento adjuvante com glicocorticoide previamente à inclusão, observa-se que o SOFA admissional foi maior no grupo que não sobreviveu (5 pontos [VIQ 4 – 7 pontos] vs. 2 pontos [VIQ 1 – 4 pontos]; $p = 0,003$) [Tabelas 6 e Figura 12].

Tabela 5 – Comparação entre óbitos e sobreviventes, incluindo todos os pacientes*

	Óbitos (n=27)	Sobreviventes (n=122)	Valor P
Idade (anos)	69,1 (56,07 - 79,78)	64 (47,5 - 75,70)	0,068
Sexo masculino	19 (70,3%)	65 (53,3%)	0,134
SOFA Admissão	4 (3 - 5,5)	2 (2 - 4)	0,0002
SOFA basal	0 (0 - 2)	0 (0 - 1)	0,37
Procalcitonina (pg/ml)	1304,1 (782,1 - 1721,6)	1188 (858,8 - 1792,9)	0,88
SIP (ng/ml)	2,62 (1,86 - 5,13)	2,98 (1,96 - 4,64)	0,80
Proadrenomedulina (pmol/l)	541,77 (366,59 - 1110,35)	559,94 (405,16 - 829,26)	0,83
Cortisol total (ug/dl)	23 (15,25 - 44,8)	15,2 (10,7 - 19,75)	0,001
Cortisol livre (ug/dl)	5,88 (2,38 - 14,08)	2,26 (0,518 - 4,3)	0,0004
IL-6 (pg/ml)	77,9 (21,6 - 139,25))	29,2 (7,65 - 70,9)	0,13
CBG (ng/ml)	0,132 (0,117 - 0,162)	0,159 (0,134 - 0,181)	0,0205
GR alpha (ng/ml)	0,063 (0,04 - 0,132)	0,055 (0,039 - 0,091)	0,38
GR beta (pg/ml)	10,17 (3,92 - 33,54)	10,09 (4,60 - 25,70)	0,764

* Dados categóricos apresentados com frequência (%) e quantitativos com mediana (VIQ)

Tabela 6 – Comparação entre óbitos e sobreviventes, incluindo somente os pacientes que não receberam glicocorticoide antes da coleta da amostra *

	Óbitos (n=13)	Sobreviventes (n=78)	Valor P
Idade (anos)	68,3(56,4- 79,2)	64,1 (45,7 - 75,7)	0,30
Sexo masculino	9 (69,2%)	44 (56,4%)	0,98
SOFA Admissão	5 (4 - 7)	3 (2 - 4)	0,004
SOFA basal	0 (0 - 2)	0 (0 - 1)	0,78
Procalcitonina (pg/ml)	1401,15 (804,0 – 1745,2)	1261,1 (881,6 – 1792,1)	0,91
SIP (ng/ml)	3,96 (2,62 – 5,45)	3,71 (2,36 – 5,29)	0,71
Proadrenomedulina (pmol/l)	473,4 (312,4 – 766,1)	539,1 (408,9 – 807,6)	0,53
CIRCI Cortisol < 10 ug/dl)	1(9%)	12(15%)	0,98
Cortisol total (ug/dl)	23,4 (18,6 – 38,3)	16,65 (13,9 – 20,2)	0,0038
Cortisol livre (ug/dl)	6,35 (4,63 – 10,70))	2,85 (1,87 – 4,66)	<0,001
IL-6 (pg/ml)	24 (7,8 – 118))	19,25 (4,93 – 56,93)	0,6
CBG (ng/ml)	0,12 (0,11 – 0,15)	0,15 (0,13 – 0,17)	0,11
GR alpha (ng/ml)	0,058 (0,041 – 0,136)	0,058 (0,035 – 0,09)	0,38
GR beta (pg/ml)	10,17 (4,18 – 17,48)	8,07 (4,47 – 25,7)	0,88

* Dados categóricos apresentados com frequência (%) e quantitativos com mediana (VIQ)

Figura 12 – Valores de SOFA em óbitos e sobreviventes. O SOFA na admissão foi significativamente maior nos pacientes que evoluíram a óbito ($p < 0,001$). O gráfico A refere-se à amostra com todos os pacientes; o gráfico B à amostra com aqueles que não receberam glicocorticoide antes da inclusão

Os níveis de cortisol total foram significativamente menores nos pacientes sobreviventes (16,65 $\mu\text{g/dl}$ [VIQ 13,9 – 20,2 $\mu\text{g/dl}$] vs. 23,4 $\mu\text{g/dl}$ [VIQ 18,6 – 38,3 $\mu\text{g/dl}$]; $p = 0,0038$) [Figura 13]. Observação semelhante foi encontrada ao se analisar o cortisol livre estimado (3,96 $\mu\text{g/dl}$ [VIQ 2,65 – 5,45 $\mu\text{g/dl}$] vs. 2,85 $\mu\text{g/dl}$ [VIQ 1,87 – 4,66 $\mu\text{g/dl}$]; $p = 0,001$) [Figura 14].

Figura 13 – Níveis de cortisol total sérico em sobreviventes e óbitos. Pacientes que sobreviveram apresentaram níveis menores de cortisol total (16,65 $\mu\text{g/dl}$ [VIQ 13,9 – 20,2 $\mu\text{g/dl}$] vs. 23,4 $\mu\text{g/dl}$ [VIQ 18,6 – 38,3 $\mu\text{g/dl}$]; $p = 0,0038$)

Figura 14 – Níveis de cortisol livre estimado em sobreviventes e óbitos. Pacientes que sobreviveram apresentaram níveis menores de cortisol total (2,85 $\mu\text{g/dl}$ [VIQ 1,87 – 4,66 $\mu\text{g/dl}$] vs. 3,96 $\mu\text{g/dl}$ [VIQ 2,65 – 5,45 $\mu\text{g/dl}$]; $p < 0,001$)

Construímos curvas ROC no intuito de avaliar a acurácia para predição de óbito das variáveis supracitadas. O SOFA apresentou AUROC 0,747 (IC 0,593 – 0,9) [Figura 15], enquanto o cortisol total 0,751 (IC 0,593 – 0,91) [Figura 16] e o cortisol livre 0,77 (IC 0,613 – 0,927) [Figura 17].

Figura 15 – Curva ROC do escore SOFA para predição de óbito [AUROC 0,747 (IC 0,593 – 0,9)]

Figura 16 – Curva ROC do cortisol total sérico para predição de óbito [AUROC 0,751 (IC 0,593 – 0,91)]

Figura 17 – Curva ROC do cortisol livre estimado para predição de óbito [AUROC 0,77 (IC 0,613 – 0,927)]

De porte das curvas ROC, identificamos que 22,75 µg/dl de cortisol total é o melhor ponto de corte que combina elevadas sensibilidade e especificidade para discriminação quanto a evolução a óbito em nossa amostra. Decidimos estratificar a amostra com base neste nível de cortisol, com objetivo de analisar diferenças nos desfechos primário e secundários e nas variáveis laboratoriais aqui estudadas [tabela 7].

Observamos que os pacientes com cortisol total > 22,75 µg/dl apresentaram:

- Maior taxa de mortalidade [(39,1% vs. 5,9%; $p < 0,001$); RR 9,9 (IC 2,48 – 39,44)];
- Maior incidência de choque séptico [(34,2% vs. 13,2%; $p = 0,0031$); RR 3,44 (IC 1,049 – 11,16)];
- Maior incidência de injúria renal aguda [(34,7% vs. 20,6%; $p = 0,021$); RR 10,85 (IC 1,25 – 261,7)];

- Maior pontuação no SOFA na admissão [3,5 (2 – 5) vs. 2 (2 – 4); p = 0,011].
- Maior taxa de internação em UTI [(56,52% vs. 27,94%; p = 0,021); RR 3,3 (IC 1,23 – 9,51)].

Uma vez que indicação de UTI em pacientes com PAC grave é objeto de frequente discussão na literatura, decidimos avaliar a performance do cortisol total de 22,75 µg/dl para prever internação em leito de terapia intensiva:

- Sensibilidade: 0,83 (IC 0,71 – 0,92)
- Especificidade: 0,41 (IC 0,24 – 0,59)
- Valor preditivo positivo: 0,72 (IC 0,6 – 0,82)
- Valor preditivo negativo: 0,57 (IC 0,34 – 0,77)
- Razão de verossimilhança positiva: 1,4 (1,03 – 1,91)
- Razão de verossimilhança negativa: 0,42 (0,21 – 0,84)

Ressaltamos que não houve diferença entre os grupos quanto a expressão de GR α e GR β e níveis de S1P, de PCT e de PROADM. Somente o cortisol total e livre foram diferentes entre os grupos [tabela 7].

Tabela 7 – Variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais conforme amostra estratificada por Cortisol total de 22,75 µg/dl, incluindo apenas os pacientes que não receberam glicocorticoide antes da inclusão

	Cortisol<22,75ug/dl (n=68)	Cortisol>22,75ug/dl (n=23)	Geral (n=91)	Valor p#
Idade (anos)	53,3 (33,95 – 76,5)	67,70 (64,10 – 74,05)	64,10 (46,67 - 75,88)	0,071
Sexo masculino	37 (54,4%)	16 (69,5%)	53 (58,2%)	0,23
Mortalidade hospitalar	4 (5,9%)	9 (39,1%)	13 (14,2%)	<0,001
Sepse	41 (60,2%)	18 (78,2)	59(64,8)	0,13
Choque séptico	9 (13,2%)	8 (34,8%)	17 (18,6%)	0,0313
Ventilação mecânica	8 (11,7%)	7 (30,4%)	15 (16,4%)	0,051
Injúria renal aguda	14 (20,6%)	8 (34,7%)	22 (24,1%)	0,021

	Cortisol<22,75ug/dl (n=68)	Cortisol>22,75ug/dl (n=23)	Geral (n=91)	Valor p#
Procalcitonina (pg/ml)	1284,9 (872,5,1 – 1763,3)	1273 (953,5 – 1795,9,6)	1283,5 (876,3 - 1778,2)	0,91
S1P (ng/ml)	3,56 (2,31 – 5,40)	3,97 (3,47– 5,17)	3,73(2,35 – 5,39)	0,12
Cortisol (µg/dl)	15,30 (13,38 – 18,93,75)	29,1 (24,45 – 35,98)	17,70(13,99– 22,75)	<0,0001
GR alpha (ng/ml)	0,059 (0,036 – 0,098)	0,053 (0,037 – 0,085)	0,058 (0,036 – 0,097)	0,55
GR beta (pg/ml)	8,07 (4,59– 17,81)	10,18 (3,88 – 36,49)	9,45 (4,44 – 24,42)	0,75
Cortisol livre (µg/dl)	2,35 (1,72– 3,94)	7,65 (6,35– 10,53)	3,38(1,98– 5,35)	<0,0001
IL-6 (pg/ml)	25,4 (7,25 – 58,2)	67,2 (22,1 – 88,6)	19,5 (5,8 – 68,75)	0,13
CBG (ng/ml)	0,1586 (0,12 – 0,17)	0,13 (0,12 – 0,16)	0,15 (0,12– 0,17)	0,106
Proadrenomedulina (pmol/ml)	501,9 (407,7 – 763,2)	564,1 (416– 836)	534,3 (405,2 – 782,7)	0,41
Tempo de internação (dias)	10 (2,75 – 18)	14 (6 - 19)	12 (2,75 - 18)	0,26
UTI	19 (27,94%)	13 (56,52%)	32 (35,2%)	0,021
SOFA Admissão	2 (2 – 4)	3,5(2 – 5)	3(2 - 4)	0,011
SOFA basal	0 (0 – 2)	0 (0 – 0.5)	0 (0 - 1)	0,13

Ao analisarmos toda a amostra em conjunto (inclusive os pacientes que receberam glicocorticoide antes da inclusão), por meio da elaboração de nova curva ROC [Figura 18], nota-se que o ponto de corte do cortisol total com melhor acurácia para discriminar mortalidade pouco se altera (de 22,75 µg/dl para 22,85 µg/dl).

Figura 18 – Curva ROC do cortisol total sérico para predição de óbito [AUROC 0,7 (IC 0,575 – 0,824)] ao se incluir toda a amostra. O nível de 22,85 $\mu\text{g/dl}$ foi identificado como o de melhor acurácia

Estratificamos toda a amostra com base no ponto de corte de 22,85 $\mu\text{g/dl}$. Identificamos que pacientes com níveis acima deste apresentam evolução adversa no que tange a todos os desfechos secundários estudados. Novamente, não foram observadas diferenças quanto a expressão de $\text{GR}\alpha$ e $\text{GR}\beta$ e níveis de S1P, de PCT e de PROADM. Somente o cortisol total e livre foram diferentes entre os grupos [Tabela 8].

Tabela 8 – Variáveis demográficas, clínicas e laboratoriais conforme amostra estratificada por Cortisol total de 22,85 µg/dL, incluindo todos os pacientes

	Cortisol<22,85µg/dl (n=115)	Cortisol>22,85µg/dl (n=34)	Geral (n=149)	Valor p#
Idade (anos)	34,78 (25,57 - 63,72)	67,67 (48,1 - 79,25)	64,4 (44,6 - 77,7)	0,0384
Sexo masculino	62 (53,9%)	22 (64,7%)	84 (56,3%)	0,32
Mortalidade hospitalar	12(10,4%)	15(44,1%)	27(18,1%)	<0,0001
Sepse	66 (57,3%)	27 (79,4%)	93(62,4)	0,026
Choque séptico	19 (16,5%)	16 (47,1%)	35 (23,4%)	0,001
Ventilação mecânica	20 (17,39%)	14 (41,2%)	34 (22,8%)	0,009
Injúria renal aguda	21 (18,2%)	10 (29,4%)	31(43,1%)	0,003
Procalcitonina (pg/ml)	1186 (822 – 1749,3)	1426,5 (941,5 – 1891,6)	1209,6 (835,5 - 1778,2)	0,23
S1P (ng/ml)	2,66 (1,84 – 4,41)	3,67 (2,31– 5,25)	2,89 (1,96 – 4,77)	0,11
Cortisol (µg/dl)	14 (8,7 – 17,75)	30,57 (24,62 – 51,32)	15,9(10,8 – 21,9)	<0,0001
GR alpha (ng/ml)	0,058 (0,04 – 0,094)	0,054 (0,04 – 0,102)	0,056 (0,04 – 0,097)	0,88
GR beta (pg/ml)	10,18 (4,62 – 25,23)	8,89 (4,12 – 30,56)	10,1 (4,6 – 25,76)	0,82
Cortisol livre (µg/dl)	2,01 (0,11 – 3,42)	8,04 (6,35 – 16,24)	2,61 (0,82 – 4,88)	<0,0001
IL-6 (pg/ml)	18,3 (4,8 – 53,85)	36,1 (14,1 – 81,4)	19,4 (5,8 – 68,75)	0,095
CBG (ng/ml)	0,16 (0,13 – 0,18)	0,13 (0,12 – 0,16)	0,15 (0,12 – 0,17)	0,037
Proadrenomedulina (pmol/ml)	534,34 (403,31 – 835,13)	569 (423,8 – 988)	553(405,1 – 845,9)	0,35
Tempo de internação (dias)	9 (4 – 17)	15 (7,5 – 21,75)	10(5 - 18)	0,042
UTI	42 (36,5%)	21 (61,7%)	63 (42,2%)	0,017
SOFA Admissão	2 (2 – 4)	3,5 (2 – 5)	3 (2 – 4)	0,011
SOFA basal	0 (0 – 1)	0 (0 – 1)	0 (0 - 1)	0,37

6.5 Análise do efeito da administração de glicocorticoide exógeno

Conforme previsto em métodos, avaliamos o efeito do tratamento adjuvante com glicocorticoide na resposta inflamatória, na expressão de GRs e nos níveis de S1P [Tabela 9].

Observamos queda nas concentrações de S1P nos pacientes que receberam glicocorticoide, ainda mais acentuada naqueles que faziam uso crônico da medicação [Figura 19]. De maneira semelhante, houve redução nos níveis de IL-6 [Figura 20], de cortisol total [Figura 21] e de cortisol livre [Figura 22]. Não foram observadas alterações na expressão de GR α e β [Tabela 9].

Figura 19 – Níveis séricos de S1P conforme tratamento adjuvante com glicocorticoide. Nota-se queda nos níveis de S1P nos pacientes que receberam glicocorticoide exógeno: 1. Não recebeu glicocorticoide antes da dosagem [3,729 ng/ml (VIQ 1,55 – 3,276 ng/ml)]; 2. Recebeu glicocorticoide antes da dosagem [2,2 ng/ml (VIQ 2,35– 5,38 ng/ml)]; 3.

Uso crônico de glicocorticoide [1,96 ng/ml (VIQ 1,65 – 2,5 ng/ml)]; $p < 0,001$)

Figura 20 – Níveis séricos de IL-6 conforme tratamento adjuvante com glicocorticoide. Nota-se queda nos níveis de IL-6 nos pacientes que receberam glicocorticoide exógeno: 1. Não recebeu glicocorticoide antes da dosagem [1,499 pg/ml (VIQ 0,899 – 1,89 pg/ml)]; 2. Recebeu glicocorticoide antes da dosagem [0,698 pg/ml (VIQ 0,272 – 1,279 pg/ml)]; $p < 0,001$

Figura 21 – Níveis séricos de cortisol total conforme tratamento adjuvante com glicocorticoide. Nota-se queda nos níveis de cortisol total nos pacientes que receberam glicocorticoide exógeno: 1. Não recebeu glicocorticoide antes da dosagem [17,7 μg/dl (13,9 – 22,75 μg/dl)]; 2. Recebeu glicocorticoide antes da dosagem [12,25 μg/dl (7,0 – 20,5 μg/dl)]; p = 0,008

Figura 22 – Níveis séricos de cortisol livre conforme tratamento adjuvante com glicocorticoide. Nota-se queda nos níveis de cortisol livre nos pacientes que receberam glicocorticoide exógeno: 1. Não recebeu glicocorticoide antes da dosagem [3,38 $\mu\text{g/dL}$ (1,97 – 5,35 $\mu\text{g/dL}$)]; 2. Recebeu glicocorticoide antes da dosagem [1,3 (0,085 – 4,57 $\mu\text{g/dL}$)]; $p = 0,003$.

Tabela 9 – Comparação entre pacientes que não receberam corticoide antes da dosagem, que receberam a medicação e que faziam uso crônico

	1. Não recebeu glicocorticoide antes da dosagem (n=91)	2. Recebeu glicocorticoide antes da dosagem (n=42)	3. Uso crônico de glicocorticoide (n=16)	Valor p#
Idade (anos)	64,1 (59,95 – 79,8)	69,55 (46,67 – 75,87)	54,25 (47,22 – 63,7)	0,022
Mortalidade hospitalar	13(13,9%)	10(23,8%)	4(25%)	0,251
Sepse	59(63,4%)	25(59,5%)	9(62,4)	0,81
Choque séptico	17(18,3%)	13(30,9%)	5(23,4)	0,19
Ventilação mecânica	15(16,1%)	14(33,3)	5(22,8%)	0,058
Injúria renal aguda	22(51,1%)	9 (37,5%)	0	0,068
Procalcitonina (pg/ml)	1283 (808,99 – 1965,92)	1222,49 (808,99 – 1965,92)	939,28 (779,9 - 1224,17)	0,09
S1P (ng/ml)¹	3,729 (1,55 – 3,276)	2,2 (2,35– 5,38)	1,96 (1,65 – 2,5)	<0,0001
Cortisol (µg/dl)²	17,7 (13,9 – 22,75)	12,25 (7,0 – 20,5)	13 (6,55 – 19,4)	0,008
GR alpha	0,058 (0,04 – 0,124)	0,054 (0,036 – 0,097)	0,046 (0,042 – 0,08)	0,88
GR beta	9,45 (4,94 – 26,66)	11,06 (4,43 – 24,42)	12,84 (5,28 – 27,8)	0,66
Cortisol livre (µg/dl)³	3,38 (1,97 – 5,35)	1,3 (0,085 – 4,57)	1,73 (0,07 – 4,15)	0,007
Proadrenomedulina (pmol/ml)	534,33 (377,68 – 921,89)	559,18 (405,16 – 782,69)	647,63 (456,24 – 1404,85)	0,465
IL-6 (pg/ml)⁴	1,499 (0,899 – 1,89)	0,698 (0,272 – 1,279)	1,659 (0,928 – 2,751)	0,0003
SOFA Admissão	3 (2 – 3)	2 (2 – 5)	3 (2 – 4)	0,54

1. Diferença estatisticamente significativa entre as colunas 1, 2, e 3 (post test Kruskal Wallis)
2. Diferença estatisticamente significativa restrita às colunas 1 e 2 (post test Kruskal Wallis)
3. Diferença estatisticamente significativa restrita às colunas 1 e 2 (post test Kruskal Wallis)
4. Diferença estatisticamente significativa restrita às colunas 1 e 2 (post test Kruskal Wallis)

No intuito de avaliarmos se a queda nas concentrações de cortisol total se devia à redução dos níveis de IL-6, construímos um gráfico de correlação entre estas variáveis. Observamos, porém, um comportamento aleatório (Correlação de Spearman rho 0,02; $p = 0,657$) entre elas [Figura 23], ou seja, não são os menores níveis de IL-6 que determinam, em última instância, redução no cortisol total após utilização de glicocorticoide exógeno.

Figura 23 – Correlação entre IL-6 e Cortisol total sérico. Não há correlação estatisticamente significativa (correlação de Spearman rho 0,28; $p = 0,657$)

7. DISCUSSÃO

Neste trabalho, mostramos que o diagnóstico de CIRCI baseado em cortisol total $< 10 \mu\text{g/dl}$ não possui impacto clinicamente relevante em termos prognósticos. Fisiopatologicamente, não se evidencia uma correlação direta entre níveis séricos de cortisol total e o perfil inflamatório, tampouco com a expressão de GRs e com a atividade tissular de glicocorticoide, inferida pelos níveis séricos de SIP. Identificamos, por outro lado, outro nível, mais elevado, como determinante de evolução adversa em pacientes com PAC grave ($22,75 \mu\text{g/dL}$). O papel do cortisol total sérico como um discriminante de mortalidade e gravidade parece mais um biomarcador associado a estresse sistêmico do que propriamente de um definidor da atividade inflamatória.

Há diversos mecanismos pelos quais a doença crítica afeta os níveis e a função do cortisol, que resumidamente incluem:

- Ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal: níveis tidos como normais de cortisol total variam de $5 - 24 \mu\text{g/dl}$, com significativa oscilação diária a depender de horários e condições fisiológicas. Em pacientes críticos, esta variação é perdida e habitualmente o cortisol sérico se eleva e atinge níveis tão elevados quanto $40 - 50 \mu\text{g/dl}$ (79; 80). O metabolismo e função do cortisol também se alteram sob a óptica de outros aspectos, como a redução da depuração do cortisol (80), a diminuição da ligação do cortisol à CBG e à albumina (81; 82), o aumento da afinidade do GR pelo cortisol e a conversão periférica de precursores em cortisol (83;84).

- Bloqueio do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal: diversos fatores de risco em pacientes críticos estão associados ao prejuízo do funcionamento do eixo, tais como trauma de crânio, politrauma, malignidade, infarto hipofisário, hemorragia adrenal, infecção, terapia prévia com glicocorticoide, drogas (cetoconazol, fenitoína, etomidato) (85). A relevância clínica desta disfunção de eixo é incerta. Insuficiência adrenal absoluta é relativamente raro em pacientes críticos, com incidência estimada menor que 3% (86). Contudo, níveis de cortisol subótimos para as demandas corporais apresentam alta prevalência, condição outrora conhecida como insuficiência adrenal relativa, termo a ser evitado no contexto de doença crítica por desconsiderar a atividade tissular do cortisol.

- Resistência a glicocorticoide relacionada à inflamação: diversos mecanismos já foram levantados (18), tais como: redução da expressão ou atividade de GR α (redução da translocação nuclear do complexo GR-GC em pacientes com SDRA fatal, a despeito

de concentrações plasmáticas adequadas de cortisol) (39); aumento da expressão da isoforma beta (GR β), incapaz de se ligar ao cortisol; alteração de proteínas chaperones; menor afinidade do GR ao ligante; alterações de coativadores de receptores nucleares; redução da ligação ao DNA; diminuição da acetilação de histonas; maior conversão de cortisol em cortisona; polimorfismos de GR e de outros genes.

Tradicionalmente, o diagnóstico de CIRCI requer uma das duas condições: cortisol total sérico randômico $\leq 10 \mu\text{g/dl}$ ou elevação $< 9 \mu\text{g/dl}$ após estimulação com cortrosina (ACTH sintético) administrada por via intravenosa na dose de 250 μg . Estas definições possuem limitações substanciais no que tange aos ensaios de cortisol total e livre (abordados com pormenores na introdução deste texto) e à ausência de testes da atividade de corticosteroide em nível celular aplicáveis à beira do leito. Apesar de limitadas, as definições supracitadas apresentam sensibilidade de 83% para detecção de insuficiência adrenal em pacientes com sepse ou choque séptico, conforme coorte publicada em 2006, considerando como padrão ouro o teste da metirapona (*overnight metirapone stimulation test*). Na coorte citada, foram incluídos 101 pacientes com sepse grave e choque séptico na unidade de terapia intensiva (61 na coorte de derivação e 40 na de validação). Detectou-se insuficiência adrenal (definida como 11-beta-deoxicortisol $< 7 \mu\text{g/dl}$ pós teste da metirapona) em 60% dos pacientes com sepse. A combinação de cortisol total sérico randômico $\leq 10 \mu\text{g/dl}$ e elevação $< 9 \mu\text{g/dL}$ após estimulação com cortrosina demonstrou sensibilidade de 45% e especificidade de 96% (87). Não é demais salientar, portanto, que a performance diagnóstica das definições nas referidas condições é satisfatória.

A CIRCI é descrita na literatura como uma condição de exagerada resposta proinflamatória decorrente de insuficiente modulação de fatores de transcrição pelo cortisol. Parece intuitivo um raciocínio que associa baixos níveis de cortisol a mediadores proinflamatórios persistentemente elevados e, por conseguinte, perpetuação da resposta inflamatória sistêmica e intensificação de disfunções orgânicas. Esta narrativa desconsidera, contudo, a complexidade dos mecanismos específicos envolvidos na patogênese da CIRCI, pouco compreendidos e certamente multifatoriais. A hipótese alternativa deste estudo aponta para outra direção: níveis mais baixos de cortisol sérico decorreriam de maior atividade tissular do hormônio e, intuitivamente, uma resposta

inflamatória sistêmica mais atenuada. Dessa forma, pacientes com cortisol mais baixo não teriam piores desfechos, possivelmente até melhores.

Neste projeto, utilizamos como critério de CIRCI apenas os níveis séricos de cortisol total e, assim, não efetuamos o teste de cortrosina. Em recente diretriz publicada por Annane e cols, não houve recomendação de utilização de ACTH sintético para diagnóstico de CIRCI (Δ Cortisol $< 9 \mu\text{g/dl}$) em detrimento do cortisol sérico randômico ($\leq 10 \mu\text{g/dl}$) isoladamente (88).

A incidência de CIRCI em nossa amostra, ao se considerar somente os pacientes que não receberam glicocorticoide sistêmico antes da coleta da amostra para análise, foi de 12,08% (11/91). Esta incidência é comparável aos achados prévios em literatura, não obstante, este dado apresenta grande variação devido aos diferentes pontos de corte de cortisol total e à grande heterogeneidade das populações de inclusão. Em revisão sistemática realizada por Salluh e cols, a incidência de CIRCI em PAC pelo critério de cortisol total $\leq 10 \mu\text{g/l}$ varia de 2,7% a 23,6% (50). Vale ressaltar que os indicadores de frequência variam sobremaneira conforme a presença de outras condições mórbidas, a saber: 10 – 20% em pacientes críticos (18; 89); até 60% em choque séptico (18); 54% reportado em casos de politrauma (90); e 59% em pacientes oncológicos criticamente enfermos (91).

Na coorte de Christ-Crain e cols, na qual foram incluídos 278 pacientes com PAC admitidos no departamento de emergência, 10,8% apresentaram níveis de cortisol $\leq 10 \mu\text{g/dl}$. Contudo, ao se avaliar somente aqueles com PSI IV e V (147 casos), os mais graves, portanto, apenas 6% detinham baixas concentrações de cortisol total (78). Em contrapartida, numa coorte brasileira, Salluh e cols incluíram 72 pacientes com PAC admitidos na UTI, dos quais 23,6% apresentaram cortisol $\leq 10 \mu\text{g/dl}$ e 18% Δ Cortisol $< 9 \mu\text{g/dL}$ pós 250 μg de cortrosina (18).

No presente estudo, os pacientes com cortisol total $\leq 10 \mu\text{g/dl}$ não diferiram estatisticamente quanto a taxa de mortalidade hospitalar, incidência de sepse e de choque séptico, necessidade de ventilação mecânica invasiva, tempo de hospitalização, internação em UTI ou à estratificação prognóstica com o SOFA, comparados àqueles com cortisol $> 10 \mu\text{g/dl}$ (Tabela 4). Diante da pluralidade de conceitos que circundam a fisiopatologia da CIRCI, parece-nos ao menos indevido definí-la com valores arbitrários

de cortisol total sérico randômico ou variação pós cortrosina, mesmo porque os estudos observacionais e ensaios clínicos falharam em atribuir piores desfechos clínicos a pacientes por ela acometidos sob a égide das definições classicamente aceitas. Este trabalho não foge desta tendência. Julga-se necessário criticar o impacto clínico deste diagnóstico segundo os atuais preceitos, ou mesmo a simplificação que estas definições trazem a uma condição de fisiopatologia tão complexa.

Não identificamos diferença na mortalidade entre pacientes com e sem CIRCI (9,09% vs. 15%, respectivamente; $p=0,9$), à semelhança de estudos prévios (48, 50, 78). Ressalta-se, contudo, que o poder estatístico para identificar menor mortalidade em pacientes com cortisol total $\leq 10 \mu\text{g/dl}$, de porte das taxas observadas, foi limitado (0,09). No estudo de Christ-Crain e cols, maior coorte prospectiva publicada até o presente momento com intuito de correlacionar função adrenal e mortalidade em PAC, níveis reduzidos de cortisol não se correlacionaram a piores desfechos e, frisam os autores, o grupo com CIRCI apresentou quase metade da mortalidade daqueles com Cortisol $> 10 \mu\text{g/dl}$ (6,6% vs. 11,7%, respectivamente) (78). Vale lembrar que com estas taxas de mortalidade e com o tamanho da amostra incluída, o poder estatístico para diferenciar os grupos foi de aproximadamente 0,35. Portanto, entendemos que esta potencial associação (menor mortalidade em pacientes com cortisol $\leq 10 \mu\text{g/dl}$) ainda carece de resolução e não pode ser afastada em definitivo.

Os níveis de PCT foram semelhantes nos grupos CIRCI e Cortisol $> 10 \mu\text{g/dl}$ (1285 pg/ml [VIQ 761,14 – 1636,06 pg/ml] vs. 1278,27 $\mu\text{g/dl}$ [VIQ 889,3 – 1801,76 pg/ml]; $p = 0,77$, respectivamente) [Tabela 4]. A ausência de diferença estatística dos níveis de marcadores inflamatórios entre os grupos CIRCI e Cortisol $> 10 \mu\text{g/dl}$ é mais um indicativo de que as definições atuais não apresentam relevância clínica como suspeita de um fator de risco para gravidade. Não identificamos, também, diferenças nos níveis de PROADM entre pacientes com CIRCI e Cortisol $> 10 \mu\text{g/dl}$ (502,56 pmol/ml [VIQ 369,79 – 627,87 pmol/ml] vs. 542,85 pmol/ml [VIQ 409,48 – 815,88 pmol/ml]; $p = 0,47$, respectivamente) [Tabela 4]. Uma revisão sistemática recente identificou que a MRproADM possui utilidade clínica prognóstica superior a qualquer escore para PAC, com razões de verossimilhança positiva e negativa para predição de mortalidade de 2,8 (IC 95% 2,3 – 3,3) e 0,36 (IC 95% 0,29 – 0,35), respectivamente (92). Evidências recentes

apontam que a PROADM é um biomarcador mais acurado que a PCT para predizer desfecho em PAC.

Em suma, não há nenhum indicativo, seja clínico (mortalidade, desfechos secundários ou escore SOFA) ou laboratorial (PCT, PROADM) que associe pior evolução aos pacientes que possuem CIRCI segundo as recomendações diagnósticas atuais.

Ainda no intuito de compreender a fisiopatologia da CIRCI conforme as definições atuais, buscamos analisar quantitativamente a expressão dos receptores de glicocorticoides (isoformas α e β) em polimorfonucleares. Uma vez que a resistência a glicocorticoide relacionada à inflamação é um dos comemorativos da patogênese da CIRCI, presumidamente a expressão de receptores poderia diferir entre os grupos estudados. Diante da hipótese de que níveis reduzidos de cortisol sérico decorreriam de maior atividade tissular do hormônio, maior expressão de GR α e/ou menor expressão de GR β em polimorfonucleares seriam esperadas em pacientes com Cortisol ≤ 10 $\mu\text{g/dl}$. Este racional, conquanto lógico, mostrou-se refutável. Não houve diferença estatisticamente significativa nas concentrações de GR α (0,065 ng/ml [VIQ 0,057 – 0,118] vs. 0,057 ng/ml [VIQ 0,036 – 0,098]; $p = 0,23$) e de GR β 7,17 pg/ml [VIQ 4,53 – 11,56] vs. 9,02 pg/ml [VIQ 4,2 – 24,85]; $p = 0,77$) em polimorfonucleares ao se comparar pacientes com CIRCI e com Cortisol > 10 $\mu\text{g/dl}$ [Tabela 4]. É valido destacar que analisamos os receptores apenas de forma quantitativa. Portanto, outros fatores associados à resistência a glicocorticoide, a citar redução da afinidade do ligante ao receptor, polimorfismos gênicos, conversão periférica de cortisol em cortisona, não foram descartadas. Não foi detectada correlação entre a expressão de receptores com os níveis séricos de cortisol total.

Estudos recentes apontam que o esfingolípídeo bioativo S1P, seus receptores e enzimas envolvidas no seu metabolismo são importantes moduladores da inflamação no contexto de sepse. A S1P é um potente fator angiogênico e robusto modulador da permeabilidade vascular e inundação alveolar (lesão pulmonar aguda) em modelos *in vivo* de endotoxemia (93). Apesar de o ACTH ser o principal regulador da biossíntese do cortisol, várias outras moléculas de sinalização podem modular a transcrição de genes envolvidos na esteroidogênese, como fatores de crescimento, prostaglandinas e

fosfolípídeos (94, 95). A S1P foi identificada como um modulador singular na biossíntese de hormônios esteroides em células adrenocorticais humanas (93). Dados recentes elucidam que a expressão de esfingosina-quinase-1 (SphK1) e consequentemente a produção de S1P são induzidas por glicocorticoides em condições inflamatórias e se mostram fundamentais para os efeitos antinflamatórios destas drogas. Em modelo experimental, foi evidenciado que a ativação de receptores de glicocorticoides em macrófagos induz a transcrição do gene de SphK1 e eleva os níveis circulantes de S1P, o que se prova essencial para a inibição da atividade inflamatória (71). Em nossos dados, não houve diferença estatisticamente significativa quanto aos níveis de S1P entre os grupos CIRCI e Cortisol > 10 µg/dl (2,79 ng/ml [VIQ 2,25 – 4,52 ng/ml] vs. 3,74 ng/ml [VIQ 2,48 – 5,38 ng/ml]; $p = 0,38$) [Tabela 4]. É interessante notar que, apesar de a S1P ser considerada um segundo mensageiro da ação tissular do cortisol, não encontramos correlação entre o nível sérico do hormônio e as concentrações plasmáticas do esfingolípídeo.

Em verdade, com o ponto de corte de cortisol total de 10 µg/dl, tradicionalmente descrito e aceito na literatura, não identificamos nenhum impacto clinicamente relevante, seja ele positivo ou negativo. Em termos fisiopatológicos, este valor não é discriminatório para a atividade tissular do hormônio (partindo-se da premissa de que a S1P seria um biomarcador que traduzisse a ação do cortisol), tampouco para a expressão das isoformas α e β dos receptores. Entendemos, portanto, que rotular pacientes como portadores de CIRCI baseado em nível sérico de cortisol total randômico apresenta utilidade questionável.

Diante das limitações das definições atuais de CIRCI, buscamos analisar a amostra dividindo-a em óbitos e sobreviventes e avaliar quais fatores estão de fato associados à mortalidade. Observamos que somente o SOFA [5 (4 - 7) vs. 2,5 (1 - 4); $p = 0,003$], o cortisol total [23,4 µg/dl (18,6 – 38,3 µg/dl) vs. 16,65 (13,9 – 20,2); $p = 0,0038$] e o cortisol livre [6,35 µg/dl (4,63 – 10,70) vs. 2,85 µg/dl (1,87 – 4,66); $p = 0,001$] discriminam óbitos de sobreviventes, respectivamente. Os biomarcadores inflamatórios (PCT e PROADM) e a S1P não foram capazes de prever mortalidade. Estes dados condizem com os achados de Salluh e cols., nos quais o nível de cortisol total foi substancialmente maior nos não sobreviventes e acurado preditor de óbito quando

comparado a escores de gravidade (APACHE II, CURB-65 e SOFA) e a marcadores laboratoriais (PCR, leucograma e dímero-d) (49).

Construímos curvas ROC das três variáveis supracitadas no intuito de avaliar a acurácia de cada uma delas para predição de óbito nos pacientes com PAC grave. Constatamos acurácia semelhante entre o cortisol total, cortisol livre e o SOFA (AUROC_{Cortisol total} 0,751; AUROC_{Cortisol livre} de 0,77; AUROC_{SOFA} 0,747).

Sepse é caracterizada por múltiplos processos patológicos, tais como estimulação imunológica, inflamação sistêmica e coagulopatia, que variam em intensidade de indivíduo para indivíduo. Portanto, há de se esperar que um escore multicomplexo que avalia diversos parâmetros clínicos e laboratoriais simultaneamente seja a melhor ferramenta para discriminação prognóstica de pacientes infectados. O escore SOFA, que prediz evolução e mortalidade de pacientes críticos com alta acurácia, consiste na avaliação de seis diferentes sistemas: respiratório, cardiovascular, hepático, renal, neurológico e hematológico (96). Não é surpresa, portanto, que o escore SOFA das primeiras 24 horas de admissão hospitalar seja mais elevado em pacientes que evoluíram a óbito que naqueles sobreviventes [5 (4 – 7) vs. 3 (2 – 4); $p = 0,004$, respectivamente] [Tabela 6]. Surpreende, porém, como o poder de predição de óbito de um único parâmetro, no caso o cortisol total, assemelha-se ao de um escore multissistêmico e complexo como o SOFA.

Uma coorte já citada neste texto incluiu 100 pacientes sépticos admitidos na unidade de terapia intensiva (72). Ela constatou que a única variável laboratorial capaz de prever choque séptico com acurácia semelhante ao SOFA foi a S1P [AUROC_{S1P} 0,88 (0,81 – 0,94) vs. AUROC_{SOFA} 0,87 (0,81 – 0,94)], com desempenho superior a PCT, IL-6, lactato e PCR. Os autores identificaram uma correlação negativa forte entre o escore SOFA e os níveis séricos de S1P ($\rho -0,45$; $p < 0,01$). Correlação inversa semelhante também foi observada entre S1P e mortalidade (pacientes que evoluíram a óbito tinham menores níveis de S1P) (72). Em desacordo com este estudo observacional de Winkler e cols., não encontramos diferença nos níveis séricos de S1P entre óbitos e sobreviventes.

A liberação de cortisol na vigência de doença crítica é essencial para a homeostase cardiovascular, metabólica e imunológica. O racional de que concentrações séricas elevadas do hormônio possuem valor prognóstico remete à sua correlação positiva com o

nível de estresse associado à condição patológica. A maior liberação de citocinas proinflamatórias em pacientes mais graves, presume-se, determinaria altas concentrações séricas de cortisol total. Ressalta-se, porém, que os biomarcadores relacionados a inflamação, como PCT e PROADM, também eram esperados de terem maiores níveis nos pacientes que evoluíram a óbito, o que não se mostrou uma realidade na população de estudo. O cortisol, pois, é um provável preditor independente de gravidade e de desfechos negativos em PAC grave.

De porte da curva ROC do cortisol total para predição de óbito, observamos como melhor ponto de corte que combina elevadas sensibilidade e especificidade 22,75 µg/dL. Ao se estratificar a amostra com este ponto de corte, 71 pacientes apresentam Cortisol total < 22,75 µg/dL e 23 pacientes > 22,75 µg/dL [Tabela]. A mortalidade hospitalar é notadamente inferior naqueles com menores concentrações de cortisol (5,88% vs. 39,13%; $p < 0,001$). Vale ressaltar que nenhum dos biomarcadores (PCT, PROADM, S1P), tampouco os receptores (GR α e β) diferiram entre os grupos.

Observou-se, ainda, capacidade de predição de internação em UTI (27,94% Cortisol total < 22,75 µg/dL VS. 56,5% Cortisol total > 22,75 µg/dL; $p < 0,027$). A decisão do local de tratamento de um paciente diagnosticado com pneumonia adquirida na comunidade é objeto de debate e dúvida. Dentre as regras de predição clínica, caso a decisão de internação em leito de terapia intensiva não seja óbvia (por exemplo, choque séptico ou necessidade de suporte ventilatório invasivo), a utilização do PSI, sem substituir o julgamento médico individualizado, parece ser adequada, uma vez que é a ferramenta mais acurada, segura e efetiva para tal fim. Aqueles pacientes classificados como PSI IV e V, sujeitos de pesquisa do presente estudo, necessitam de internação hospitalar; a admissão em UTI pode ser considerada naqueles casos que requerem suporte hemodinâmico, respiratório ou outro tipo. O CURB-65, outra ferramenta disponível descrita com detalhes na introdução deste texto, menos complexa, também pode ser utilizada como método alternativo: pacientes com escore entre 3 – 5 devem ser conduzidos sob internação hospitalar e a unidade de terapia intensiva considerada como sítio de cuidado.

Diversos escores clínicos foram desenvolvidos com intuito de identificar e estratificar PAC grave, a exemplo do SCAP score (*Severe Community-acquired Pneumonia Score*) (97), SMART-COP e sistema de classificação em critérios menores e

maiores do IDSA (*Infectious Diseases Society of America*)/ATS (*American Thoracic Society*). A presença de ao menos um de dois critérios maiores (choque séptico com necessidade de vasopressor ou ventilação mecânica) indica, obviamente, transferência urgente para leito de terapia intensiva. O SCAP, SMART-COP e os critérios menores do IDSA/ATS (elencados na introdução deste texto), entretanto, requerem estudos adicionais como indicadores de transferência para UTI. Parece razoável, contudo, que estes últimos sejam considerados na decisão clínica de utilização de cuidado crítico.

Na coorte original de validação, o SCAP *score* ≥ 10 pontos foi superior ao PSI e ao CURB-65 para predição de evolução de PAC grave (97). Numa coorte de validação subsequente, o SCAP *score* foi ao menos tão acurado quanto outras ferramentas prognósticas para prever admissão em UTI, necessidade de ventilação mecânica, progressão a sepse e falha de tratamento (98). Outros estudos são necessários antes que o SCAP *score* seja validado para decisão de internação em leito de unidade crítica. Baseado numa revisão sistemática (99), criticável por elevada heterogeneidade clínica, o SCAP *score* se demonstrou útil em excluir necessidade de internação em UTI (razão de verossimilhanças positiva – RVSP – de 1,8 e negativa – RVSN – de 0,13), enquanto o PSI ≥ 4 (RVSP de 1,5 e RVSN de 0,53) e o CURB-65 ≥ 3 (RVSP de 3,6 e RVSN de 0,72) parecem ter limitada performance para adicionar decisões quanto a complexidade do tratamento de pacientes com PAC.

Quanto ao SMART-COP, os autores avaliaram prospectivamente 882 episódios de PAC e desenvolveram um sistema de pontuação para predição de suporte intensivo respiratório ou vasopressor. Escore ≥ 3 pontos discriminou 92% dos pacientes que receberam o referido suporte.

Esta ferramenta apresentou boa acurácia em cinco coortes de validação subsequentes, porém ressalta-se que mais de 75% dos pacientes incluídos no estudo original eram maiores que 50 anos (100). Em um estudo de 335 adultos jovens (< 50 anos), o SMART-COP foi superior ao PSI e ao CURB-65 para predição de ventilação mecânica e/ou suporte inotrópico, porém falhou em identificar 15% dos pacientes que demandaram estas medidas (101). Certamente, a sensibilidade do SMART-COP peca em indivíduos < 50 anos.

No que concerne ao consenso de 2007 do IDSA/ATS, um estudo de validação com mais de 2000 pacientes com PAC confirmou a validade dos critérios maiores (102; 103). Numa coorte subsequente que incluiu 1062 pacientes com PAC que não obtinham critérios maiores, os critérios menores foram superiores a outras ferramentas (PSI, CURB-65 e SCAP) para prever necessidade de ventilação mecânica, suporte vasopressor e internação na UTI, e equivalentes ao SMART-COP para o mesmo fim (104).

Todos os consensos para manejo de pacientes com PAC tecem comentários e recomendações a respeito do local inicial de tratamento e do nível de cuidado no internamento (enfermaria ou UTI), não necessariamente concordantes entre si. O consenso da BTS (*British Thoracic Society*) recomenda internação em unidade crítica para os pacientes que pontuem 4 ou 5 no CURB-65 (105). Os *guidelines* da NICE (*National Institute for Health and Care Excellence*) respaldam considerar internação em UTI os casos de $\text{CURB-65} \geq 3$. Já a IDSA/ATS, como abordado previamente, orienta a utilização de critérios maiores e menores para esta finalidade (106). É nítido que estudos futuros são necessários para avaliar a eficácia e segurança da utilização das referidas ferramentas para indicar a complexidade do cuidado na internação.

É fato, contudo, que a utilização com pragmatismo destes consensos para indicação de UTI resulta em sobreutilização de um recurso escasso na realidade brasileira e de outros países em desenvolvimento, frequentemente reservado somente àqueles pacientes que demandam suporte vasopressor ou ventilatório invasivo. Neste ínterim, a utilização do cortisol total no ponto de corte de 22,75 µg/dl pode ser útil como instrumento auxiliar na decisão judiciosa de se internar precocemente na UTI um paciente sem necessidade óbvia e ululante deste cuidado.

No intuito de se corroborar a capacidade preditora do cortisol total de evolução à óbito em PAC grave, construímos uma nova curva ROC, desta vez com toda a amostra (inclusive pacientes que receberam ao menos uma dose glicocorticoide antes da coleta inicial e os que faziam uso crônico da droga). Percebe-se que o ponto de corte de maiores sensibilidade e especificidade pouco se altera (de 22,75 para 22,85 µg/dl). A ampliação do tamanho da amostra, todavia, de 91 para 149 pacientes, traz conclusões relevantes. Todos os desfechos secundários referentes a pior prognóstico são mais frequentes nos pacientes com cortisol total > 22,85 µg/dl: incidências de sepse (57,3% vs. 79,4%; $p =$

0,026), de choque séptico (16,5% vs. 47,1%; $p = 0,001$) e de injúria renal aguda (18,2% vs. 29,4%; $p = 0,003$), necessidade de ventilação mecânica invasiva (17,39% vs. 41,2%; $p = 0,009$) e de internação em UTI (36,5% vs. 61,7%; $p = 0,017$), maior tempo de internação hospitalar [9 dias (4 – 17 dias) vs. 15 dias (7,5 – 21,75 dias); $p = 0,042$]. Reitera-se que os biomarcadores inflamatórios (PCT e PROADM), tampouco a S1P, não foram diferentes entre os grupos. Corroborando maior gravidade dos pacientes com cortisol mais alto, o SOFA nas primeiras 24 horas de admissão foi substancialmente maior [2 (2 – 4) vs. 3,5 (2 – 5); $p = 0,011$] [Tabela 8].

Uma revisão sistemática publicada em 2012 por Marti C. e cols, criticável pela elevada heterogeneidade clínica, incluiu 36 estudos que avaliaram a performance dos escores de predição clínica para identificar pacientes com necessidade de admissão em UTI por PAC. As populações incluídas, fatores prognósticos analisados e definições de desfechos variaram entre os estudos [107]. A performance de cada escore é descrita na tabela 10.

Tabela 10 – Performance de predição de necessidade de suporte intensivo de diversos escores clínicos em pacientes com PAC*

Regra de predição	Sensibilidade	Especificidade	Razão de Verossimilhança Positiva	Razão de Verossimilhança Negativa	Número de estudos analisados
SCAP	93,8%	45,6%	1,8	0,13	2
PSI ≥ 4	75%	48%	1,5	0,53	24
CRB-65 ≥ 3	34,2%	90,6%	3,6	0,72	2
CURB ≥ 2	76,8%	68,6%	2,3	0,35	4

* Adaptado de Marti C. e cols. *Crit Care*. 2012 Jul 27;16(4):R141 [107]

Em nossa coorte, identificamos a seguinte performance para predição de internação em UTI [Tabela 11]:

Tabela 11 – Performance de predição de admissão em UTI da associação $PSI \geq 4$ e Cortisol total $> 22,75 \mu\text{g/dl}$

Regra de predição	Sensibilidade	Especificidade	Valor preditivo positivo	Valor preditivo negativo	Razão de Verossimilhança Positiva	Razão de Verossimilhança Negativa
<i>PSI ≥ 4 e Cortisol total $> 22,75 \mu\text{g/dL}$</i>	83% (IC 71 – 0,92%)	41% (IC 24 – 59%)	72% (IC 60 – 82%)	57% (IC 34 – 77%)	1,4 (1,03 – 1,91)	0,42 (0,21 – 0,84)

As novas regras de predição de suporte intensivo em PAC (critérios menores de IDSA/ATS, SCAP, SMART-COP) parecem ter melhor capacidade de discriminação que escores tradicionais (PSI e CURB-65), sobretudo pelo ganho em exclusão da necessidade de UTI, porém a adição destas ferramentas ao julgamento clínico ainda necessita de validação. Assim, coortes subsequentes com desenho de estudo específico para este fim seriam bem-vindas para avaliar a otimização da acurácia de predição das ferramentas clínicas já desenvolvidas com a associação do cortisol total a fim de se indicar precocemente internação em unidade crítica.

Uma conclusão precipitada do achado de evolução desfavorável associada a maiores valores de cortisol total seria refutar o tratamento adjuvante com glicocorticoides. Não se sabe, entretanto, se os níveis séricos elevados de cortisol total estão associados a hiper ou hipocortisolismo celular (resistência periférica ao hormônio) e, ademais, qual o impacto da administração de glicocorticoide exógeno no perfil de expressão dos receptores e mediadores de atividade, como por exemplo a S1P.

O tratamento adjuvante com glicocorticoide em PAC grave é no mínimo controverso. O racional para sua utilização envolve a redução da resposta inflamatória, possivelmente associada à morbimortalidade. A resposta inflamatória sistêmica desregulada, caracterizada por citocinas proinflamatórias persistentemente elevadas, parece ser o processo fisiopatológico central na morbimortalidade de curto e de longo prazo em pacientes com PAC grave. Inclusive naqueles que sobrevivem à internação na UTI ou

mesmo à hospitalização, são relatadas elevações em citocinas pró-inflamatórias que perduram além de três semanas e níveis de IL-6 foram reconhecidos preditores de óbito na ocasião da alta hospitalar. Os glicocorticoides, endógeno ou exógeno, são os mais importantes inibidores fisiológicos da resposta inflamatória. Contudo, a população potencialmente beneficiada do tratamento adjuvante em PAC não é bem definida, além dos eventos adversos associados a esta classe de droga serem alvo de preocupação. Presumidamente, os pacientes mais beneficiados pelo tratamento adjuvante seriam aqueles com a resposta inflamatória exagerada e desregulada (sepse ou insuficiência respiratória grave) e, portanto, com maior risco de óbito. Diversas metanálises apontam para um possível benefício de mortalidade da utilização de glicocorticoide em pacientes com PAC. Siemieniuk e cols. reportaram uma redução de risco absoluto de 5% na mortalidade de pacientes com PAC grave (108). Outra metanálise evidenciou menor redução do risco absoluto, sem significância estatística em termos de benefício de mortalidade (109). A confiança nestes estudos merece algum questionamento uma vez que as reduções de risco provêm de análises de subgrupo e da inclusão de ensaios clínicos com amostra limitada. Além da dúvida sobre o benefício do tratamento, há preocupação quanto aos potenciais eventos adversos. As metanálises não demonstraram eventos graves, muito embora a maioria dos ensaios clínicos excluíssem pacientes com maior risco de malefícios (imunossuprimidos, gestantes, com sangramentos gastrointestinais recentes ou com alto risco de distúrbios neuropsiquiátricos). A piora do controle glicêmico, entretanto, é relatada com grande consistência em diversos estudos de intervenção e em revisões sistemáticas.

Não objetivamos avaliar o impacto clínico do tratamento com glicocorticoides no presente estudo, uma vez que a amostra não teria poder suficiente para avaliar potencial diferença. Objetivamos, sim, identificar o efeito do corticoide exógeno na resposta inflamatória, no eixo e na expressão de receptores, situação, até onde conhecemos, não avaliada com consistência na literatura. Vale ressaltar que, por se tratar de um estudo observacional, não influenciámos na decisão de se introduzir o tratamento adjuvante, qual droga a ser utilizada, posologia, intervalo para introdução ou tempo de tratamento. Todavia, as opções assistenciais sempre foram pela utilização de metilprednisolona, prednisona ou hidrocortisona.

Uma vez que as drogas utilizadas apresentam reação cruzada no imunoensaio do cortisol devido à semelhança estrutural (destaque para a hidrocortisona e metilprednisolona, reconhecidamente associados a fortes reações cruzadas – acima de 5%), esperávamos níveis falsamente elevados de cortisol total nos pacientes que receberam glicocorticoide exógeno (110). Observamos, no entanto, o oposto, ou seja, níveis menores de cortisol total no grupo de pacientes que receberam corticoide [(17,7 µg/dl (VIQ 7 – 20,5 µg/dl) vs. 12,25 µg/dl (VIQ 13,99 – 22,75 µg/dl); $p = 0,008$]. Comportamento semelhante foi observado com o cortisol livre [3,38 µg/dl (VIQ 0,085 – 4,57 µg/dl) vs. 1,3 µg/dl (1,97 – 5,35 µg/dl); $p = 0,007$]. Esta redução dos níveis séricos de cortisol total mesmo diante de prováveis reações cruzadas ao imunoensaio poderia significar um bloqueio do eixo. Outra hipótese racional para esta redução seria o menor estímulo ao eixo secundário à potencial redução da resposta inflamatória decorrente do efeito terapêutico da droga (é conhecida a influência estimuladora ao eixo das citocinas próinflamatórias na vigência de doença crítica). De fato, foi patente a redução dos níveis de IL-6 após dose de glicocorticoide exógeno [1,499 pg/ml (0,899 – 1,89 pg/ml) vs. 0,698 pg/ml (0,272 – 1,279 pg/ml); $p = 0,0001$] [Tabela 9]. Contudo, ao observarmos o gráfico de correlação entre IL-6 e Cortisol total, não se nota nem mesmo uma associação espúria, mas sim um comportamento aleatório entre as duas variáveis, o que refuta a hipótese supracitada. Dessa forma, não é a redução das concentrações séricas de IL-6 que determina menores concentrações de cortisol total após utilização de glicocorticoide exógeno. É interessante ressaltar que, a despeito de menores níveis de IL-6, a administração de glicocorticoides não se associou a redução de biomarcadores inflamatórios (PCT e PROADM).

Buscamos avaliar ainda o efeito do glicocorticoide exógeno na expressão de GRs. Um estudo reportou que pacientes com choque séptico apresentam maior expressão de RNA mensageiro de GR β comparado a controles, embora esta diferença não apresentava correlação com a sensibilidade a glicocorticoide (medida pela supressão *in vitro* da produção de citocinas por leucócitos estimulados por LPS). Os autores sugerem que a sensibilidade a glicocorticoide não parece ser mediada por mudanças na expressão da isoforma β do receptor (111). Estudos em asma, por sua vez, apontam que o tratamento com glicocorticoide aumenta a expressão de GR β em células inflamatórias e poderia induzir resistência a glicocorticoide ao alterar a produção relativa das isoformas (redução

da relação GR α /GR β em pacientes considerados sensíveis a glicocorticoides a níveis semelhantes àqueles tidos como resistentes) (112; 113).

Ressalvadas as substanciais diferenças entre processos inflamatórios agudos (pneumonia e sepse) e crônicos (asma), assumimos a hipótese de que a administração de glicocorticoide exógeno alteraria o padrão de expressão das isoformas α e/ou β . Não observamos, no entanto, qualquer diferença nos GRs entre pacientes que receberam e os que não receberam corticoide. Não podemos incorrer na precipitação, entretanto, de afirmar que glicocorticoides exógenos não influenciam na resistência ou sensibilidade periférica ao cortisol, uma vez que diversos outros complexos mecanismos estão envolvidos neste processo. Isto se corrobora pelo fato dos níveis séricos de S1P serem diferentes entre os grupos ($p < 0,0001$):

- (1) Não recebeu glicocorticoide antes da dosagem: 3,729 ng/ml (VIQ 1,55 – 3,276 ng/ml)
- (2) Recebeu glicocorticoide antes da dosagem: 2,2 ng/ml (VIQ 2,35– 5,38 ng/ml)
- (3) Uso crônico de glicocorticoide: 1,96 ng/ml (VIQ 1,65 – 2,5 ng/ml)

Os glicocorticoides atravessam livremente a membrana plasmática até o citoplasma, onde se ligam e ativam os GRs. O complexo GC-GR sofre uma mudança conformacional, dimeriza-se e transloca-se ao núcleo onde se liga a sequências do DNA conhecidas com *glucocorticoid-response elements* (GREs) com consequente *upregulation* da transcrição de genes alvo antiinflamatórios (transativação). Também pode ocorrer uma ligação a sequências conhecidas como *negative glucocorticoid-response elements* (nGREs) e prevenir a expressão de genes proinflamatórios, mecanismo conhecido como cis-repressão. Por uma terceira via, o GR, como um monômero, liga-se direta ou indiretamente a fatores de transcrição (como o NF-kappaB, AP-1, CREB, STATs) e os impede de ativar a expressão de genes proinflamatórios. A atividade destes fatores de transcrição é regulada por sinais extracelulares recebidos por receptores de superfície (8). Neste ínterim, a S1P ganha importância como um marcador de atividade desta terceira via, conhecida como trans-repressão. Dessa forma, em nosso estudo, a queda observada nas concentrações de S1P em pacientes que receberam glicocorticoide, ainda mais acentuada naqueles que faziam uso crônico da medicação, é um dado relevante

sugestivo de supressão de atividade do cortisol mesmo sem alteração no padrão da expressão de receptores.

Em suma, podemos resumir os dados encontrados com as seguintes proposições:

- A administração exógena de glicocorticoide pode de fato reduzir as concentrações séricas de IL-6, em consonância com outros estudos, a despeito desta diferença não se reproduzir em biomarcadores de atividade inflamatória utilizados na rotina assistencial.
- Observamos evidente queda nos níveis séricos de cortisol total nos pacientes que receberam corticoide, presumidamente decorrente do bloqueio do eixo, não associada à redução da IL-6, visto que as variáveis possuem um comportamento aleatório entre si.
- Por meio de mecanismos não esclarecidos e não mediados por alterações da expressão de GR α e β , o corticoide exógeno pode suscitar em última instância menor atividade celular de glicocorticoide, fenômeno corroborado pela menor concentração sérica de S1P naqueles pacientes que receberam a droga, sobretudo nos usuários crônicos.

Limitações do estudo

A avaliação pontual da expressão de GRs e da S1P é uma limitação do trabalho que merece menção. Observamos que ambos não são diferentes, à admissão, entre óbitos e sobreviventes à internação. Pacientes que evoluem à óbito, por exemplo, podem alterar a expressão de seus receptores ou mesmo limitar a atividade tissular dos glicocorticoides (inferida por redução dos níveis de S1P) ao longo do processo de doença. Dessa forma, nossa conclusão se limita à apresentação dessas variáveis na admissão e, obviamente, não refuta a possibilidade de não ter ocorrido mudança no decorrer da internação.

Resistência a glicocorticoide pode ser consequência da redução da expressão de GR α , do aumento da isoforma β , ou mesmo de alterações nos receptores que acarretam menor afinidade ao ligante ou redução de sua translocação nuclear [39,114 – 116]. Estas condições podem coexistir e se alterarem dinamicamente ao longo do tempo. Citocinas proinflamatórias podem intensificar a oxidação do GR α , o que afeta a sua ligação com o GC e com o DNA, reduzindo seus efeitos [117]. Assim, é factível que a atividade dos

GRs, inclusive sua translocação nuclear, não avaliadas pelo presente estudo, esteja limitada, mesmo que não haja redução da expressão do receptor.

Os glicocorticoides modulam a inflamação por meio de diversos mecanismos que afetam tanto a resposta imune inata quanto adaptativa, atuando sobre praticamente todas as células do sistema imune. É fato que há extenso estudo sobre os efeitos genômicos dos GC; o contrário se observa sobre os efeitos não genômicos, frequentemente associados, mas não restritamente, aos seus eventos adversos. Os glicocorticoides sintéticos, obtidos por modificações químicas na molécula do cortisol, diferem quanto aos seus efeitos genômicos e não genômicos. É provável que tenham, inclusive, diferentes capacidades de ligação aos GRs e, portanto, ações biológicas diversas [118]. A distinção das ações imunológicas das várias moléculas de glicocorticoide farmacologicamente disponíveis ainda não foi definida. Por se tratar de um estudo observacional, não houve interferência ou restrição ao tipo de corticosteroide utilizado no tratamento adjuvante. Portanto, não podemos descartar o efeito individual inerente a cada droga.

Observamos que pacientes que receberam glicocorticoide exógeno apresentam menores níveis de IL-6. Ainda no que tange à limitação do desenho de estudo, não é possível estabelecer uma relação de causa e efeito entre ambos, conceitualmente restrita a estudos de intervenção, mesmo que haja plausibilidade biológica para tal. Dessa forma, não podemos imputar ao corticoide exógeno o mecanismo causal da redução das concentrações de IL-6. Isto se torna relevante quando se nota a coincidente redução nos níveis de cortisol total após o tratamento adjuvante e absoluta ausência de correlação entre IL-6 e cortisol sérico.

Outra potencial limitação refere-se a estimativa do cortisol livre. Valores padrão para concentração e constante de dissociação de albumina para cortisol são utilizados na equação de Coolens. Especialmente em pacientes sépticos ou com hepatopatia, discrepâncias relevantes já foram evidenciadas entre o cortisol livre medido e calculado (119). Um estudo canadense comparou o cortisol livre estimado pelas equações de Coolens e de Södergård com aquele medido por diálise de equilíbrio em pacientes críticos. Os autores demonstraram uma performance ruim de ambas equações, com elevados percentuais de erro, o que limitaria o uso clínico desta abordagem em pacientes críticos (120). Assim, as referidas limitações das fórmulas não nos permitem afirmar com

convicção que a estimativa do cortisol livre é um bom parâmetro para substituir sua medida.

Por fim, entendemos que a amostra foi aquém do necessário para refutar a hipótese nula. A mortalidade quase 40% menor verificada em pacientes com CIRCI (9,09% vs. 15%) não obteve significância estatística, já que o poder estatístico, como referido previamente, foi limitado, decorrente dentre outros fatores pela pequena redução de risco absoluto de óbito entre os grupos (5,91%).

8. CONCLUSÕES

- A incidência de CIRCI (cortisol total $\leq 10 \mu\text{g/dL}$) em pacientes com PAC grave ($\text{PSI} \geq 4$) admitidos na Unidade de Emergência Referenciada do HCFMUSP foi de 12,08%, comparável aos achados prévios em literatura. Os pacientes com cortisol total $\leq 10 \mu\text{g/dl}$ não diferiram estatisticamente quanto a taxa de mortalidade hospitalar, incidência de sepse e de choque séptico, necessidade de ventilação mecânica invasiva, tempo de hospitalização, internação em UTI ou à estratificação prognóstica com o SOFA, comparados àqueles com cortisol total $> 10 \mu\text{g/dl}$.
- Biomarcadores inflamatórios, como PCT e PROADM, citocinas pró-inflamatórias, GRs (isoformas α e β) em polimorfonucleares, bem como níveis séricos de S1P, um mediador secundário indicativo da atividade tissular de glicocorticoide, não são diferentes entre pacientes com CIRCI e aqueles com cortisol total $> 10 \mu\text{g/dl}$.
- O diagnóstico de CIRCI baseado isoladamente em cortisol total $\leq 10 \mu\text{g/dl}$ não parece apresentar utilidade clínica. Julga-se necessário criticar o impacto clínico deste diagnóstico, ou mesmo a simplificação que estas definições trazem a uma condição de fisiopatologia tão complexa.
- Somente o SOFA, o cortisol total e o cortisol livre estimado discriminaram pacientes que evoluíram a óbito daqueles que sobreviveram. Constatamos acurácia semelhante do cortisol total, do cortisol livre e do SOFA ($\text{AUROC}_{\text{Cortisol total}} 0,751$; $\text{AUROC}_{\text{Cortisol livre}} 0,77$; $\text{AUROC}_{\text{SOFA}} 0,747$) para predição de óbito. Observamos que $22,75 \mu\text{g/dl}$ é o melhor ponto de corte que combina elevadas sensibilidade e especificidade para tal.
- A mortalidade hospitalar é notadamente inferior naqueles pacientes com cortisol total $< 22,75 \mu\text{g/dl}$ (5,88% vs. 39,13%; $p < 0,01$). Vale ressaltar que nenhum dos biomarcadores (PCT, PROADM, S1P), tampouco os receptores (GR α e β) diferiram entre os grupos. Observou-se, ainda, capacidade de predição de internação em UTI (27,94% Cortisol total $< 22,75 \mu\text{g/dl}$ vs. 56,52% Cortisol total $> 22,75 \mu\text{g/dl}$; $p < 0,021$).
- Os pacientes que receberam glicocorticoide exógeno como esquema adjuvante ao tratamento apresentaram níveis menores de cortisol total, mesmo diante de prováveis reações cruzadas do imunoensaio com as drogas utilizadas [$12,25 \mu\text{g/dl}$ (VIQ 13,99 – $22,75 \mu\text{g/dl}$) vs. $17,7 \mu\text{g/dl}$ (VIQ 7 – $20,5 \mu\text{g/dl}$) vs.; $p = 0,001$], presumidamente por bloqueio do eixo HHA.

- A utilização de glicocorticoide se associou a redução dos níveis de IL-6 [1,499 pg/ml (0,899 – 1,89 pg/ml) vs. 0,698 pg/ml (0,272 – 1,279 pg/ml); $p = 0,0001$]. Contudo, ao observarmos o gráfico de correlação entre IL-6 e Cortisol total, não se nota nem mesmo uma associação espúria, mas sim um comportamento aleatório entre as duas variáveis. Dessa forma, não é a redução das concentrações séricas de IL-6 que determina menores concentrações de cortisol total após utilização de glicocorticoide exógeno.
- O corticoide exógeno pode suscitar menor atividade celular de glicocorticoide, fenômeno corroborado pela queda na concentração sérica de S1P naqueles pacientes que receberam a droga, por mecanismos não consequentes à mudança no padrão de expressão de GRs em polimorfonucleares.

9. SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

Uma das conclusões relevantes do presente estudo é a capacidade de discriminação de evolução adversa do nível de cortisol total de 22,75 µg/dL em pacientes com PAC grave. A indicação de internação em UTI em pacientes que não se apresentam com choque ou necessidade de ventilação mecânica invasiva ainda é objeto de dúvida. Diversos estudos observacionais foram conduzidos na última década com intuito de avaliar escores clínicos de predição para tornar esta decisão mais pragmática, porém a validação concreta de qualquer um deles para este fim ainda não foi efetuada. Entendemos que a construção de uma coorte com este objetivo primário, comparando os diversos escores abordados na introdução e discussão deste texto e associando a dosagem do cortisol total, possa ser útil para discriminar se pacientes já estratificados como graves devem ser admitidos em UTI ou enfermaria.

Uma metanálise publicada em 2018 sobre o tratamento adjuvante com glicocorticoide em PAC não demonstrou benefício em termos de mortalidade, porém reduziu o tempo necessário para estabilização clínica e de hospitalização em aproximadamente 24 horas, a despeito de aumentar o risco de reinternação (121). Estudos de intervenção recentes em sepse e choque séptico apontam para potenciais benefícios sobre a redução da mortalidade com a utilização de glicocorticoide apenas na subpopulação de pacientes mais graves (122; 123). Dessa forma, o tratamento adjuvante em pneumonia ou choque séptico, a despeito de ser bastante corriqueiro, é ainda controverso e possui entendimento fisiopatológico restrito. O efeito do corticoide nestas condições deve ser estudado com mais rigor. Um estudo de intervenção, controlado, com randomização para se administrar um único glicocorticoide (por exemplo, hidrocortisona ou metilprednisolona) *vs.* placebo pode trazer conclusões importantes ao se avaliar de forma seriada o perfil de citocinas próinflamatórias, a expressão de GRs e os níveis séricos de S1P. Parâmetros de atividade do receptor, como a translocação nuclear do complexo GC-GR, também merecem menção.

A despeito do cortisol ser um hormônio com fraca atividade mineralocorticoide, suas concentrações séricas até 2000 vezes maiores que as da aldosterona trazem alguma importância na resposta mineralocorticoide. Uma vez que o receptor de mineralocorticoide se liga tanto a cortisol como a aldosterona com a mesma afinidade, pode parecer contraintuitivo esta última conseguir desempenhar seus efeitos biológicos específicos em um ambiente com concentrações tão maiores de cortisol. A chave para

esta questão está na expressão em células alvo da enzima 11 β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo 2 (11 β -HSD2), que converte cortisol em cortisona. Esta última apresenta baixa afinidade pelo receptor de mineralocorticoide. Em última instância, a expressão tecidual desta enzima permite que a aldosterona atue apropriadamente. Tecidos que expressam quantidades abundantes de receptor de mineralocorticoide mas não expressam 11 β -HSD2 não apresentam resposta a aldosterona porque ela apresenta concentrações insuficientes para competir com o cortisol. Foi demonstrado, em pacientes críticos, menor atividade de 11 β -HSD2 (avaliada pela relação cortisona/cortisol em urina de 24 horas) comparado a controles [124]. Observamos, no presente estudo, que alterações nos níveis de cortisol total não são acompanhadas de mudanças nos biomarcadores ou citocinas próinflamatórias (PCR, PROADM e IL-6), na expressão de GR α e β ou na atividade tecidual de glicocorticoide (S1P). Reiteramos que não foi constatada nenhuma correlação entre níveis séricos de cortisol total e IL-6. Sob esta óptica, elevações substanciais do cortisol sérico em pacientes com piores desfechos, em vez de se relacionarem diretamente à inflamação sistêmica, poderiam estar associadas à menor atividade tissular de aldosterona. Portanto, estudos que avaliam a atividade tecidual da aldosterona devem ser encorajados para entender os mecanismos da relação do cortisol elevado com maior mortalidade.

O estudo APROCHSS (*Activated Protein C and Costicosteroids for Human Septic Shock*) incluiu 1241 pacientes com choque séptico (doses de vasopressores > 18 μ g/min por mais de 6 horas) e randomizou para receberem hidrocortisona 200 mg/dia + fludrocortisona 50 μ g/dia vs. placebo. Evidenciou significativa redução do risco absoluto de óbito de 6%, além de demonstrar menor tempo de choque, de ventilação mecânica e de internação na UTI [123]. O racional de se adicionar a fludrocortisona é duvidoso, uma vez que a hidrocortisona já possui substancial atividade mineralocorticoide intrínseca, tanto que em ensaio clínico prévio a adição de fludrocortisona comparada a hidrocortisona isoladamente não se demonstrou benéfica [125]. Não se sabe, contudo, se o potencial benefício deste tratamento adjuvante em pacientes com choque séptico se deve ao efeito glicocorticoide ou mineralocorticoide. Esta dúvida talvez justifique os resultados inconsistentes de estudos que levaram em consideração a baixa resposta à cortosina para indicar reposição de hidrocortisona.

Sepse é uma síndrome clínica com grande heterogeneidade de apresentação que pode abranger diferentes subtipos de respostas ao tratamento adjuvante com glicocorticoide. Schaefer e cols. demonstraram que polimorfismos no promotor de NF- κ B estavam associados à incapacidade de inibição da translocação nuclear de NF- κ B pela hidrocortisona e à maior mortalidade em 30 dias que outros genótipos [125]. É possível que a resposta clínica a glicocorticoides seja influenciada por outros polimorfismos, inclusive de GRs.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lamberts, SW, Bruining, HA, De Jong, FH. Corticosteroid therapy in severe illness. *N Engl J Med* 1997; 337:1285.
2. Annane, D, Bellissant, E. Prognostic value of cortisol response in septic shock. *JAMA* 2000; 283:1038.
3. Habib KE, Gold PW, Chrousos GP. Neuroendocrinology of stress. *Endocrinol Metab Clin*. 2001; 30:695–728.
4. Miller DB, O'Callaghan JP. Neuroendocrine aspects of the response to stress. *Metabolism*. 2002; 51:S5–S10.
5. Stewart PM. The Adrenal Cortex. In: Williams Textbook of Endocrinology, Polonsky KS (Ed), Saunders, Philadelphia 2002. p.491
6. Beck IM, Vanden Berghe W, Vermeulen L, et al. Crosstalk in inflammation: the interplay of glucocorticoid receptor-based mechanisms and kinases and phosphatases. *Endocr Rev* 2009; 30:830.
7. Surjit M, Ganti KP, Mukherji A, et al. Widespread negative response elements mediate direct repression by agonist-liganded glucocorticoid receptor. *Cell* 2011; 145:224.
8. Scheinman RI, Cogswell PC, Lofquist AK, Baldwin AS Jr. Role of transcriptional activation of I kappa B alpha in mediation of immunosuppression by glucocorticoids. *Science* 1995; 270:283.
9. van den Akker ELT, Koper JM, Joosten K, de Jong FH, Hazalzet JA, Lamberts SW, Hokken-Koelega ACS. Glucocorticoid receptor mRNA levels are selectively decreased in neutrophils of children with sepsis. *Intensive Care Med*. 2009; 35:1247–1254.
10. Jaattela M, Ilvesmaki V, Voutilainen R, et al. Tumor necrosis factor as a potent inhibitor of adrenocorticotropin-induced cortisol production and steroidogenic P450 enzyme gene expression in cultured human fetal adrenal cells. *Endocrinology*. 1998;128:623–629.

11. Schroeder S, Wichers M, Klingmuller D, et al. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis of patients with severe sepsis: Altered response to corticotropin-releasing hormone. *Crit Care Med*. 2001;29:310–316.
12. Naito Y, Fukata J, Tamai S, et al. Biphasic changes in hypothalamic-pituitary-adrenal function during the early recovery period after major abdominal surgery. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991; 73:111–117.
13. Goodman SI, Sprung CL, Ziegler D, Weiss YG. Cortisol changes among patients with septic shock and the relationship to ICU and hospital stay. *Intensive Care Med*. 2005;31:1362–1369.
14. Annane D, Sebille V, Troche G, et al. A 3-level prognostic classification in septic shock based on cortisol levels and cortisol response to corticotropin. *JAMA*. 2000;283:1038–1045.
15. Boonen E, Vervenne H, Meersseman P, et al. Reduced cortisol metabolism during critical illness. *N Engl J Med* 2013; 368:1477.
16. Cooper MS, Stewart PM. Corticosteroid insufficiency in acutely ill patients. *N Engl J Med* 2003; 348:727.
17. Franchimont D, Martens H, Hagelstein MT, et al. Tumor necrosis factor alpha decreases, and interleukin-10 increases, the sensitivity of human monocytes to dexamethasone: potential regulation of the glucocorticoid receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:2834.
18. Marik PE, Pastores SM, Annane D et al. Recommendations for the diagnosis and management of corticosteroid insufficiency in critically ill adult patients: Consensus statements from an international task force by the American College of Critical Care Medicine. *Crit Care Med* 2008; 36(6):1937-1949.
19. Burry LD, Wax RS. Role of corticosteroids in septic shock. *Ann Pharmacother* 2004; 38:464.
20. Arlt W, Allolio B: Adrenal insufficiency. *Lancet* 2003; 361:1881–1893.
21. Fauci AS. Alternate-day corticosteroid therapy. *Am J Med* 1978; 64

22. Kuperman H, Damiani D, Chrousos GP, et al. Evaluation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in children with leukemia before and after 6 weeks of high-dose glucocorticoid therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:2993.
23. Malerba G, Romano-Girard F, Cravoisy A, et al. Risk factors of relative adrenocortical deficiency in intensive care patients needing mechanical ventilation. *Intensive Care Med.* 2005;31:388–392.
24. Redington AE, Meng QH, Springall DR, et al. Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in the airway epithelium of asthmatic subjects and regulation by corticosteroid treatment. *Thorax.* 2001;56:351–357.
25. Annane D, Se´bille V, Charpentier C, Bollaert P-E, et al. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisones on mortality in patients with septic shock. *JAMA.* 2002;288:862–871.
26. Bernard F, Outtrim J, Menon DK, Matta BF. Incidence of adrenal insufficiency after severe traumatic brain injury varies according to definition used: Clinical implications. *Br J Anaesth.* 2006; 96:72–76.
27. Sam S, Corbridge TC, Mokhlesi B, et al. Cortisol levels and mortality in severe sepsis. *Clin Endocrinol.* 2004;60:29–35.
28. Hamrahian AH, Oseni TS, Arafah BM. Measurements of serum free cortisol in critically ill patients. *N Engl J Med* 2004; 350:1629.
29. Ho JT, Al-Musalhi H, Chapman MJ, et al. Septic shock and sepsis: a comparison of total and free plasma cortisol levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:105.
30. Clark PM, Neylon I, Raggatt PR, et al. Defining the normal cortisol response to the short Synacthen test: Implications for the investigation of hypothalamic-pituitary disorders. *Clin Endocrinol.* 1998;49:287–292.
31. Marik PE, Zaloga GP. Adrenal insufficiency during septic shock. *Crit Care Med.* 2003;31:141–145.
32. Marik P, Zaloga G. Prognostic value of cortisol response in septic shock. *JAMA.* 2000; 284:308

33. Siraux V, De Backer D, Yalavatti G, et al. Relative adrenal insufficiency in patients with septic shock: comparison of low-dose and conventional corticotropin tests. *Crit Care Med* 2005; 33:2479.
34. Venkatesh B, Mortimer RH, Couchman B, Hall J. Evaluation of random plasma cortisol and the low dose corticotropin test as indicators of adrenal secretory capacity in critically ill patients: a prospective study. *Anaesth Intensive Care* 2005; 33:201.
35. Loisa P, Uusaro A, Ruokonen E. A single adrenocorticotrophic hormone stimulation test does not reveal adrenal insufficiency in septic shock. *Anesth Analg* 2005; 101:1792.
36. Jabre P, Combes X, Lapostolle F, et al. Etomidate versus ketamine for rapid sequence intubation in acutely ill patients: a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2009; 374:293.
37. Briegel J, Sprung CL, Annane D, et al. Multicenter comparison of cortisol as measured by different methods in samples of patients with septic shock. *Intensive Care Med* 2009; 35:2151.
38. Vassiliadi DA, Ilias I, Tzanela M, et al. Interstitial cortisol obtained by microdialysis in mechanically ventilated septic patients: correlations with total and free serum cortisol. *J Crit Care* 2013; 28:158.
39. Meduri GU, Muthiah MP, Carratu P, et al: Nuclear factor-kappaB- and glucocorticoid receptor alpha-mediated mechanisms in the regulation of systemic and pulmonary inflammation during sepsis and acute respiratory distress syndrome: Evidence for inflammation-induced target tissue resistance to glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation* 2005; 12:321–338
40. Jones D et al. Relative adrenal insufficiency in etomidate-naïve patients with septic shock. *Anaesth Intensive Care*. 2006 ;34(5):599-605.
41. Annane D, Sébille V, Charpentier C, et al. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* 2002; 288:862.

42. Sprung CL, Annane D, Keh D, et al. Hydrocortisone therapy for patients with septic shock. *N Engl J Med* 2008; 358:111.
43. Dellinger RF 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.
44. Minneci PC, Deans KJ, Eichacker PQ, Natanson C. The effects of steroids during sepsis depend on dose and severity of illness: an updated meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15:308.
45. Sligl WI, Milner DA Jr, Sundar S, et al. Safety and efficacy of corticosteroids for the treatment of septic shock: A systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2009; 49:93.
46. Fernandez J et al. Adrenal insufficiency in patients with cirrhosis and septic shock: Effect of treatment with hydrocortisone on survival. *Hepatology*. 2006; 44(5):1288-95
47. Salluh JIF, Verdeal JC, Mello GW, Araújo LV, Martins GAR, Santino MS, Soares M. Cortisol levels in patients with severe community-acquired pneumonia. *Intensive Care Med* 2006;32:595-598.
48. Gotoh S et al. Adrenal function in patients with community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 2008;31:1268-1273.
49. Salluh JI, Bozza FA, Soares M, Verdeal JC, Castro-Faria-Neto HC, Lapa E Silva JR, et al. Adrenal response in severe community-acquired pneumonia: impact on outcomes and disease severity. *Chest*. 2008;134(5):947-54.
50. Salluh JI, Shinotsuka CR, Soares M, Bozza FA, Lapa e Silva JR, Tura BR, et al. Cortisol levels and adrenal response in severe community-acquired pneumonia: a systematic review of the literature. *J Crit Care* 2010 Sep;25(3):541-8.
51. Fine MJ, Stone RA, Singer DE, et al. Processes and outcomes of care for patients with community-acquired pneumonia: results from the Pneumonia Patient Outcomes Research Team (PORT) cohort study. *Arch Intern Med* 1999; 159:970.

52. Fine MJ, Auble TE, Yealy DM. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N Engl J Med* 1997; 336:243.
53. Marrie TJ, Huang JQ. Low-risk patients admitted with community-acquired pneumonia. *Am J Med* 2005; 118:1357.
54. Lim WS, van der Eerden MM, Laing R, et al. Defining community acquired pneumonia severity on presentation to hospital: an international derivation and validation study. *Thorax* 2003; 58:377.
55. Bauer TT, Ewig S, Marre R, et al. CRB-65 predicts death from community-acquired pneumonia. *J Intern Med* 2006; 260:93.
56. Aujesky D, Auble TE, Yealy DM, et al. Prospective comparison of three validated prediction rules for prognosis in community-acquired pneumonia. *Am J Med* 2005; 118:384.
57. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 2007; 44 Suppl 2:S27.
58. Charles PG, Wolfe R, M Whitby et al. SMART-COP: a tool for predicting the need for intensive respiratory or vasopressor support in community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2008 Aug 1;47(3):375-84
59. Renaud B, Labarère J, Coma E et al. Risk stratification of early admission to the intensive care unit of patients with no major criteria of severe community-acquired pneumonia: development of an international prediction rule. *Crit Care*. 2009;13(2):R54.
60. Aronsky D, Haug PJ. Assessing the quality of clinical data in a computer-based record for calculating the pneumonia severity index. *J Am Med Inform Assoc*. 2000;7(1):55-65.
61. Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, Bingisser R, et al. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: cluster randomised, single-blinded intervention trial. *Lancet* 2004; 363:600.

62. Christ-Crain M, Stolz D, Bingisser R, et al. Procalcitonin guidance of antibiotic therapy in community-acquired pneumonia: a randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174:84.
63. Masiá M, Gutiérrez F, Shum C, et al. Usefulness of procalcitonin levels in community- acquired pneumonia according to the patients outcome research team pneumonia severity index. *Chest* 2005; 128:2223.
64. Boussekey N, Leroy O, Alfandari S, et al. Procalcitonin kinetics in the prognosis of severe community-acquired pneumonia. *Intensive Care Med* 2006; 32:469.
65. Nowak A, Breidthardt T, Christ-Crain M et al. Direct comparison of three natriuretic peptides for prediction of short- and long-term mortality in patients withcommunity-acquired pneumonia. *Chest*. 2012 Apr;141(4):974-82.
66. Musher DM, Rueda AM, Kaka AS, Mapara SM. The association between pneumococcal pneumonia and acute cardiac events. *Clin Infect Dis* 2007; 45:158.
67. Seligman R, Ramos-Lima LF, Oliveira VA, Sanvicente C, Pacheco EF, Rosa KD. Biomarkers in community-acquired pneumonia: A state-of-the-art review. *Clinics*. 2012;67(11):1321-1325.
68. Talero E, Di Paola R, Mazzon E et al. Antiinflammatory effects of adrenomedullin on acute lung injury induced by Carrageenan in mice. *Mediators inflamm*. 2012;2012:717851
69. Krüger S, Ewig S, Giersdorf S, Hartmann O, Suttorp N, Welte T; , German Competence Network for the Study of Community-Acquired Pneumonia (CAPNETZ) Study Group. Cardiovascular and inflammatory biomarkers to predict short- and long-term survival in communityacquired pneumonia: Results from the German Competence Network, CAPNETZ. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182(11):1426-34
70. Courtais C, Kuster N, Dupuy AM, et al. Proadrenomedullin, a useful tool for risk stratification in high Pneumonia Severity Index score community acquired pneumonia. *Am J Emerg Med*. 2013 Jan;31(1):215-21.

71. Vettorazi S., Bode C., Dejager L et al. Glucocorticoids limit acute lung inflammation in concert with inflammatory stimuli by induction of SphK1. *Nat Commun.* 2015 Jul 17;6:7796.
72. Natarajan V., Dudek S., Jacobson J ,et al. Sphingosine-1-Phosphate, FTY720, and Sphingosine-1-Phosphate Receptors in the Pathobiology of Acute Lung Injury. *Am J Resp Cell Mol Biol* 2013. Jul;49(1):6-17.
73. Winkler M., Nierhaus A., Holzmann M. Decreased serum concentrations of sphingosine-1-phosphate in sepsis. *Crit Care.* 2015. Oct 26;19:372.
74. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4+ T lymphocytes in humans. *J. Immunol.* 2001;166:6952-63.
75. Boomer JS, Green JM, Hotchkiss RS. The changing immune system in sepsis: is individualized immuno-modulatory therapy the answer? *Virulence.* 2013;5:45-56.
76. Peter BF, Lidington D, Harada A, et al. Role of sphingosine-1-phosphate phosphohydrolase 1 in the regulation of resistance artery tone. *Circ Res.* 2008;103:315-24.
77. Cyborra P, Saxe M, Fetscher C, et al. Transient relaxation of rat mesenteric microvessels by ceramides. *Br J Pharmacol.* 2002;135:417-26.
78. Christ-Crain M, Stolz D, Jutla S, et al. Free and total cortisol levels as predictors of severity and outcome in community-acquired pneumonia. *Am J Resp Crit Care Med* 2007; 176(9):913-20.
79. Vadas P, Pruzanski W. Plasma cortisol levels in patients with septic shock. *Crit Care Med* 1991; 19:300.
80. Boonen E, Vervenne H, Meersseman P, et al. Reduced cortisol metabolism during critical illness. *N Engl J Med* 2013; 368:1477.
81. Beishuizen A, Thijs LG, Vermes I. Patterns of corticosteroid-binding globulin and the free cortisol index during septic shock and multitrauma. *Intensive Care Med* 2001; 27:1584.

82. Hammond GL, Smith CL, Paterson NA, Sibbald WJ. A role for corticosteroid-binding globulin in delivery of cortisol to activated neutrophils. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71:34.
83. Cooper MS, Bujalska I, Rabbitt E, et al. Modulation of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase isozymes by proinflammatory cytokines in osteoblasts: an autocrine switch from glucocorticoid inactivation to activation. *J Bone Miner Res* 2001; 16:1037.
84. Franchimont D, Martens H, Hagelstein MT, et al. Tumor necrosis factor alpha decreases, and interleukin-10 increases, the gl of human monocytes to dexamethasone: potential regulation of the glucocorticoid receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:2834.
85. Malerba G, Romano-Girard F, Cravoisy A, et al. Risk factors of relative adrenocortical deficiency in intensive care patients needing mechanical ventilation. *Intensive Care Med* 2005; 31:388.
86. Burry LD, Wax RS. Role of corticosteroids in septic shock. *Ann Pharmacother* 2004; 38:464.
87. Annane D, Maxime V, Ibrahim F, et al. Diagnosis of adrenal insufficiency in severe sepsis and septic shock. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006 Dec 15;174(12):1319-26.
88. Annane D, Patores S, Rochwerg B, et al. Guidelines for the diagnosis and management of critical illness-related corticosteroid insufficiency (CIRCI) in critically ill patients (Part I): Society of Critical Care Medicine (SCCM) and European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) 2017. *Crit Care Med*. 2017 Sep 21.
89. Marik PE. Critical illness-related corticosteroid insufficiency. *Chest*. 2009 Jan;135(1):181-93.
90. Yang Y, Liu L, Jiang D, et al. Critical illness-related corticosteroid insufficiency after multiple traumas: a multicenter, prospective cohort study. *J Trauma Acute Care Surg*. 2014 Jun;76(6):1390-6.

91. Bruno JJ, Hernandez M, Ghosh S, Pravinkumar SE. Critical illness-related corticosteroid insufficiency in cancer patients. *Support Care Cancer*. 2012 Jun;20(6):1159-67.
92. Liu D, Xie L, Zhao H, et al. Prognostic value of mid-regional pro-adrenomedullin (MR-pro-ADM) in patients with community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases* (2016) 16:232.
93. Lucki N, Li D, Sewer M. Sphingosine-1-Phosphate Rapidly Increases Cortisol Biosynthesis and the Expression of genes Involved in Cholesterol Uptake and Transport in H295R Adrenocortical cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2012 January 2; 348(1): 165-75.
94. Schinner S, Willeberg HS, Krause D, et al. Adipocyte-derived products induce the transcription of the StAR promoter and stimulate aldosterone and cortisol secretion from adrenocortical cells through the Wnt-signaling pathway. In *J Obes (Lond)*. 2007; 31:864-870.
95. Watanabe M, Noda M, Nakajin S. Effect of epidermal growth factor and prostaglandin on the expression of aromatase (CYP19) in human adrenocortical cell line NCI-H295R cells. *J Endocrinol* 2006; 188:59-68.
96. Ferreira FL, Bota DP, Bross A, Melot C, Vincent JL. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *JAMA*. 2001;286:1754–8.
97. España PP, Capelastegui A, Gorordo I, et al. Development and validation of a clinical prediction rule for severe community-acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174:1249.
98. Yandiola PPE, Capelastegui A, Quintana J, et al. Prospective comparison of severity scores for predicting clinically relevant outcomes for patients hospitalized with community-acquired pneumonia. *Chest* 2009; 135:1572.
99. Marti C, Garin N, Groscurin O, et al. Prediction of severe community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2012 Jul 27;16(4):R141.

- 100.Charles PG, Wolfe R, Whitby M, et al. SMART-COP: a tool for predicting the need for intensive respiratory or vasopressor support in community-acquired pneumonia. Clin Infect Dis 2008; 47:375.
- 101.Chalmers JD, Singanayagam A, Hill AT. Predicting the need for mechanical ventilation and/or inotropic support for young adults admitted to the hospital with community-acquired pneumonia. Clin Infect Dis 2008; 47:1571.
- 102.Mandell LA. Severe community-acquired pneumonia (CAP) and the Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society CAP guidelines prediction rule: validated or not. Clin Infect Dis 2009; 48:386.
- 103.Liapikou A, Ferrer M, Polverino E, et al. Severe community-acquired pneumonia: validation of the Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society guidelines to predict an intensive care unit admission. Clin Infect Dis 2009; 48:377.
- 104.Chalmers JD, Taylor JK, Mandal P, et al. Validation of the Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society minor criteria for intensive care unit admission in community-acquired pneumonia patients without major criteria or contraindications to intensive care unit care. Clin Infect Dis 2011; 53:503.
- 105.Lim WS, Baudouin SV, George RC, et al. BTS guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults: update 2009. Thorax 2009; 64 Suppl 3:iii1.
- 106.National Institute for Health and Care Excellence. Diagnosis and management of community- and hospital-acquired pneumonia in adults. <https://www.nice.org.uk/guidance/cg191/evidence/full-guideline-193389085>.
- 107.Marti C, Garin N, Groscurin O, et al. Prediction of severe community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis. Crit Care. 2012 Jul 27;16(4):R141.
- 108.Siemieniuk RA, Meade MO, Alonso-Coello P, et al. Corticosteroid Therapy for Patients Hospitalized With Community-Acquired Pneumonia: A Systematic Review and Meta-analysis. Ann Intern Med 2015; 163:519.

109. Restrepo MI, Anzueto A, Torres A. Corticosteroids for Severe Community-Acquired Pneumonia: Time to Change Clinical Practice. *Ann Intern Med* 2015; 163:560.
110. Matthew D Krasowski, Denny Drees, Cory S Morris, et al. Cross-reactivity of steroid hormone immunoassays: clinical significance and two-dimensional molecular similarity prediction. *BMC Clin Pathol*. 2014; 14: 33.
111. Cohen J, Pretorius CJ, Ungerer JP, et al. Glucocorticoid Sensitivity Is Highly Variable in Critically Ill Patients With Septic Shock and Is Associated With Disease Severity. *Crit Care Med* 2016; 44:1034.
112. Sousa AR, Lane SJ, Cidlowski JA, et al. Glucocorticoid resistance in asthma is associated with elevated in vivo expression of the glucocorticoid receptor beta-isoform. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:943.
113. Pujols L, Mullol J, Pérez M, et al. Expression of the human glucocorticoid receptor alpha and beta isoforms in human respiratory epithelial cells and their regulation by dexamethasone. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 24:49.
114. Bergquist M, Jirholt P, Nurkkala M, et al. Glucocorticoid receptor function is decreased in neutrophils during endotoxic shock.. *J Infect* 2015; 69: 113–22.
115. Bergquist M, Nurkkala M, Rylander C, et al. Expression of the glucocorticoid receptor is decreased in experimental *Staphylococcus aureus* sepsis. *J Infect* 2013; 67: 574–83.
116. Matthews JG, Ito K, Barnes PJ, et al. Defective glucocorticoid receptor nuclear translocation and altered histone acetylation patterns in glucocorticoid-resistant patients. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 1100–08.
117. Okamoto K, Tanaka H, Ogawa H, et al. Redox-dependent regulation of nuclear import of the glucocorticoid receptor. *J Biol Chem* 1999; 274: 10363–71.
118. Galon J, Franchimont D, Hiroi N, et al. Gene profiling reveals unknown enhancing and suppressive actions of glucocorticoids on immune cells. *FASEB J* 2002; 16: 61–71

- 119.J. Cohen, B. Venkatesh, T. Tan, Comparison of the diagnostic accuracy of measured and calculated free cortisol in acutely ill patients using the Coolens equation, *Crit. Care Resusc.* 15 (2013) 39–41.
- 120.Molenaar N₁, Groeneveld AB₂, de Jong MF₃. Three calculations of free cortisol versus measured values in the critically ill. *Clin Biochem.* 2015 Nov;48(16-17):1053-8.
- 121.Briel M, Spoorenberg SM, Snijders D, et al. Corticosteroids in patients hospitalized with community-acquired pneumonia: systematic review and individual patient data meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2018; 66: 346–54.
- 122.Venkatesh B, Finfer S, Cohen J, et al. Adjunctive glucocorticoid therapy in patients with septic shock. *N Engl J Med* 2018; 378: 797–808.
- 123.Annane D, Renault A, Brub-Buisson C, et al. Hydrocortisone plus fludrocortisone for adults with septic shock. *N Engl J Med* 2018; 378: 809–18.
- 124.Boonen E₁, Vervenne H, Meersseman P et al. Reduced cortisol metabolism during critical illness. *N Engl J Med.* 2013 Apr 18;368(16):1477-88.
- 125.COIITSS Study Investigators, Annane D, Cariou A, et al. Corticosteroid treatment and intensive insulin therapy for septic shock in adults: a randomized controlled trial. *JAMA* 2010; 303: 341–48.
- 126.Schaefer S, Gessner S, Scherag A, et al. Hydrocortisone fails to abolish NF-κB1 protein nuclear translocation in deletion allele carriers of NFκB1 promoter polymorphism (–94ins/delATTG) and is associated with increased 30-day mortality in septic shock. *PLOS Med* 2014; 9: e104953.
- 127.Hauer D, Weis F, Papassotiropoulos A, et al. Relationship of a common polymorphism of the glucocorticoid receptor gene to traumatic memories and posttraumatic stress disorder in patients after intensive care therapy. *Crit Care Med* 2011; 39: 643-50.

128. Ramamoorthy S, Cidlowski JA. Corticosteroids: mechanisms of action in health and disease. *Rheum Dis Clin North Am* 2016; 42: 15–31.