Sylas Bezerra Cappi

**Alterações lipídicas no paciente séptico: análise da
participação da resistência insulínica nas alterações
metabólicas**

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

Programa de: Ciências Médicas

Área de Concentração: Distúrbios do Crescimento Celular,
Hemodinâmicos e da Hemostasia
Orientador: Prof. Dr. Francisco Garcia Soriano

São Paulo

2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Cappi, Syllas Bezerra

Alterações lipídicas no paciente séptico: análise da participação da resistência insulínica nas alterações metabólicas / Syllas Bezerra Cappi. -- São Paulo, 2010.

Tese (doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências Médicas. Área de concentração: Distúrbios do Crescimento Celular, Hemodinâmicos e da Hemostasia.

Orientador: Francisco Garcia Soriano.

Descritores: 1.Sepse 2.Choque séptico 3.Glicemia 4.Lipoproteínas/metabolismo
5.Ácidos graxos

USP/FM/DBD-291/10

À Carolina, minha esposa,
à pequena Sofia, minha querida filha,
à minha família.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Francisco Garcia Soriano

Ao Dr. Marcelo Park

A Dra Valdelis Novis Okamoto

Aos colegas do Hospital Universitário

SUMÁRIO

1. Introdução.....	13
2. Objetivos.....	40
3. Métodos.....	41
3.1. Pacientes e amostras.....	41
3.2. Caracterizações dos grupos de estudo.....	42
3.3. Aporte nutricional.....	43
3.4. Análise estatística.....	46
4. Resultados.....	47
4.1. Resultados do grupo total.....	47
4.2. Resultados do subgrupo de sobreviventes em comparação aos doentes que evoluíram a óbito.....	58
5. Discussão	62
5.1. Implementação de um protocolo de controle glicêmico e segurança em unidade de terapia intensiva de um hospital universitário de São Paulo.....	66
5.2. Limitações do estudo	67
6. Conclusões.....	68
7. Lista de Referências.....	70
ANEXO A- Protocolo do HU-USP para o controle glicêmico.....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Dados demográficos (n=63)

Tabela 2- Dados clínicos pós randomização (n=63)

Tabela 3- Necessidade de drogas vasoativas durante o período do estudo nos dois grupos, entre os pacientes que apresentaram choque séptico (n = 46)

Tabela 4- Quantidade calórica ofertada para os grupos randomizados (n=63)

Tabela 5- Concentrações plasmáticas de colesterol total e triglicérides ao longo dos tempos do estudo.

Tabela 6- Concentrações plasmáticas de HDL, LDL, ácidos graxos livres e ox-LDL ao longo dos tempos do estudo.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Seleção de pacientes e randomização.

Figura 2: Protocolo de progressão de nutrição enteral em sistema fechado.

Figura 3: Total de calorias recebidas, calorias por via enteral e por via parenteral nos grupos randomizados

Figura 4: Concentrações de colesterol total e triglicérides nos grupos randomizados

Figura 5: Evolução das frações LDL e HDL do colesterol total, dos ácidos graxos livres e da fração oxidada do LDL durante as primeiras 72 horas do início do quadro clínico

Figura 6: Correlação entre as concentrações de LDL e PCR para todos os pacientes, independente de grupo ou gravidade.

Figura 7: Comparação do uso de insulina exógena e glicemia capilar entre pacientes que sobreviveram e pacientes que evoluíram a óbito

Figura 8: Evolução das concentrações de HDL e LDL nos pacientes que sobreviveram e nos pacientes que evoluíram a óbito

Figura 9: Evolução das concentrações de ox-LDL nos pacientes que sobreviveram e nos pacientes que evoluíram a óbito

Figura 10: Evolução das concentrações de PCR nos pacientes que sobreviveram e nos pacientes que evoluíram a óbito

LISTA DE SIGLAS

- ABCA1=adenosine triphosphate-binding cassette A1 transporter
- ACTH = hormônio adrenocorticotrófico
- AG = ácidos graxos
- AGE = ácidos graxos essenciais
- AMPc = adenosina monofosfato cíclica
- CETP= cholesteryl ester transfer protein
- CMI = captação mediada por insulina
- CNMI = captação não mediada por insulina
- CRH = hormônio liberador de corticotropina
- EHHA = eixo hipotálamo-hipofisário-adrenocortical
- eNOS= sintase de óxido nítrico endotelial
- Foxo-1 = forkhead transcription factor Foxo1
- GH = hormônio do crescimento
- GNG = gliconeogênese
- HDL = lipoproteínas de alta densidade
- IGFBP-1= proteína 1 de ligação a fator de crescimento insulina-like
- IL = interleucina
- iNOS =sintase de óxido nítrico induzível
- LCAT= lecithin:cholesterol acyltransferase
- LDL = lipoproteínas de baixa densidade
- MAPK = mitogen-activated protein kinase
- Mn-SOD=mangânese superóxido dismutase
- MPM = metaloproteinase da matriz

- NO = óxido nítrico
- Ox-LDL = lipoproteínas de baixa densidade oxidadas
- PaCO₂ = pressão parcial de gás carbônico
- PAI-1=inibidor do ativador do plasminogênio-1
- PCR = proteína C reativa
- PEPCK = fosfoeno- piruvato carboxiquinase
- PKC=proteína quinase C
- PON-1=paraoxonase sérica humana
- RI = resistência a insulina
- SAA=proteína amilóide sérica A
- SR-B1 = scavenger receptor class B type 1
- TGF- β = fator de crescimento β
- TNF = fator de necrose tumoral
- UTI = Unidade de Terapia Intensiva
- VEGF=fator de crescimento vascular endotelial
- VLDL = lipoproteínas de muito baixa densidade

RESUMO

Cappi SB. **Alterações lipídicas no paciente séptico: análise da participação da resistência insulínica nas alterações metabólicas** [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2010

Alterações metabólicas são muito frequentes em doentes graves. Sepses grave e choque séptico são condições clínicas muito prevalentes em unidades de terapia intensiva (UTI). A mortalidade da sepse grave e, especialmente do choque séptico, persiste alta, apesar das terapêuticas desenvolvidas nas últimas décadas. Controle rigoroso da glicemia parece ser uma terapia adjuvante muito importante, especialmente em doentes cirúrgicos graves. Ainda há controvérsias sobre o controle glicêmico rigoroso em doentes clínicos. Além da hiperglicemia, alguns estudos procuraram associar distúrbios no metabolismo de lipoproteínas e pior prognóstico para doentes graves. Também foi descrita a associação de hiperglicemia e quantidades mais baixas de lipoproteínas, sugerindo, possivelmente, o controle glicêmico rigoroso como fator importante para correção dos distúrbios do metabolismo de lipoproteínas. Neste estudo, dosamos LDL, HDL, triglicerídeos, colesterol total, ácidos graxos livres e Ox-LDL em 63 pacientes com diagnóstico de sepse grave ou choque séptico, divididos em dois grupos, sendo um grupo mantendo controle glicêmico rigoroso e outro grupo mantendo um controle glicêmico mais liberal, com internação em unidade de terapia intensiva (UTI) nas primeiras 72 horas de internação. Independentemente do grupo alocado, as concentrações séricas de LDL, HDL, colesterol total estiveram abaixo dos valores considerados normais. De outro modo, as concentrações séricas de ácidos graxos livres, triglicérides e Ox-LDL estiveram acima dos valores considerados normais. Ao longo das 72 horas houve manutenção das concentrações séricas de HDL e de colesterol

total e das concentrações séricas elevados de ox-LDL e triglicérides. Houve um aumento progressivo das concentrações séricas de LDL e diminuição das concentrações séricas de ácidos graxos livres mais pronunciada nos doentes submetidos a controle glicêmico rigoroso. Ao longo do período de estudo, os pacientes sobreviventes apresentaram menores necessidades de insulina exógena, porém com concentrações séricas glicêmicas similares. As dosagens de Ox-LDL, LDL, HDL e PCR permaneceram similares entre os sobreviventes e os não sobreviventes.

Descritores: sepse; choque séptico; glicemia; lipoproteínas/metabolismo; ácidos graxos.

SUMMARY

Cappi SB. **Study of Metabolic Acidosis in Patients with Severe Sepsis or Septic Shock** [thesis]. São Paulo: Medical School, University of São Paulo, 2010

Metabolic disturbances are very frequent among critical care patients. Severe sepsis and septic shock are clinical conditions responsible for a great number of patients admitted to ICU. Severe sepsis and septic shock mortality rates remain high instead of new approaches developed in last decades. Intensive glycemic control appeared to be an important adjuvant therapy, especially among surgical intensive care patients. There are still some controversies about the benefits of intensive glycemic control among clinical intensive care patients. Beyond hyperglycemia, some studies have tried to associate lipid metabolism disturbances to worse prognosis. There are also descriptions of association between hyperglycemia and lower lipoproteins levels, suggesting the possible positive effects of intensive glycemic control and better control of lipid disturbances. In this study, we collected sequential serum LDL, HDL, triglycerides, total cholesterol, free fatty acids and Ox-LDL for 63 patients diagnosed as severe sepsis or septic shock admitted to ICU, in the first 72 hours after beginning of the symptoms. Patients were randomly allocated into two different groups, one for intensive glycemic control and the other maintaining more liberal glycemic levels. Results: Serum levels of LDL, HDL, and total cholesterol were below levels considered normal in both groups. Contrary, serum levels of free fatty acids, triglycerides and Ox-LDL were above normal levels in both groups. Along initial 72 hours we noticed a clear increase in LDL serum levels and decrease in free fatty acids serum levels more pronounced in the intensive glycemic control group. Survivors needed less dosages of exogenous insulin, despite of similar glycemic

levels. Serum levels of Ox-LDL, LDL, HDL and CRP were similar for survivors and non-survivors.

Descriptors: sepsis; septic shock; glycemia; lipoproteins/metabolism; free fatty acids.

1. Introdução

A incidência de sepse tem aumentado nas últimas duas décadas, provocando maior atenção e esforços científicos para a compreensão de sua fisiopatologia além de possíveis esforços terapêuticos. Apesar do melhor entendimento da doença atualmente, o tratamento mais eficaz se baseia no uso de antibióticos e suporte hemodinâmico. Doentes sépticos podem evoluir progressivamente com disfunções orgânicas, podendo culminar com a síndrome de disfunção de múltiplos órgãos e, por fim, ainda permanecem com altas taxas de mortalidade. Pacientes sépticos também elevam os custos financeiros decorrentes de internações prolongadas, necessidade de grande suporte hemodinâmico, ventilatório e por vezes terapia de substituição renal, necessitando, na maioria das vezes, de internação em unidade de terapia intensiva ^{1, 2, 3}

Sepse foi definida pela Society of Critical Care Medicine (SCCM) ⁴ como uma resposta inflamatória sistêmica associada à infecção, sendo caracterizada pela presença de pelo menos dois dos seguintes sinais ou sintomas:

1. Temperatura corporal $>38^{\circ}\text{C}$ ou $<36^{\circ}\text{C}$
2. Frequência cardíaca > 90 bpm.
3. Frequência respiratória acima de 20 ipm ou $\text{PaCO}_2 < 32$ mmHg
4. Contagem leucocitária acima de 12000/ mm³ ou abaixo de 4000/mm³

Sepse grave foi definida como quadro de sepse com a presença na admissão de pelo menos uma disfunção orgânica ⁴. Choque séptico foi definido como o pólo mais grave da síndrome séptica, definido como a persistência do choque por 1 hora após e apesar da reposição volêmica inicial adequada (20 a 30 ml/kg), necessitando

a infusão de vasopressores e intervenções precoces para evitar a progressão da doença para síndrome da disfunção de múltiplos órgãos ⁴

A associação entre doenças graves agudas e hiperglicemia foi descrita inicialmente no fim do século XIX com a observação de glicosúria em combatentes de guerra feridos. Desde então, sabe-se que qualquer estresse físico agudo pode causar resistência à insulina (RI), levando a hiperglicemia, resposta que também ficou conhecida como diabetes do estresse ⁵. Evolutivamente, a presença de hiperglicemia em situações de doença aguda, como a sepse, foi interpretada como um mecanismo adaptativo para garantir a oferta de glicose para órgãos como cérebro e as células fagocíticas, que a utilizam como substrato energético exclusivo e como um mecanismo compensatório para hipovolemia, pelo movimento de água para o intravascular.

Com o passar dos anos, pesquisadores relataram uma relação direta entre a magnitude das alterações metabólicas observadas e o grau de estresse ou gravidade da doença. Dessa forma, as alterações no metabolismo dos carboidratos, caracterizadas por RI e hiperglicemia, passaram a ser reconhecidas como um fator prognóstico para diversas entidades clínicas como doença coronariana, sepse e trauma. A antes considerada resposta adaptativa e, até certo ponto, benéfica ao organismo passou a ser um possível alvo de intervenção através de uma monitoração mais rigorosa e de um controle glicêmico mais intenso, pois cada vez mais dados clínicos e experimentais indicavam que a hiperglicemia poderia causar disfunções orgânicas como maior dificuldade no controle da volemia, além de alterações hidroeletrólíticas devido à diurese osmótica, aumento da inflamação sistêmica, alterações trombóticas, aumento do estresse oxidativo, piora da cicatrização, aumento do catabolismo em músculo esquelético, disfunção imune,

hiperatividade simpática e alterações do perfil lipídico. Admitindo que a hiperglicemia, além de ser fator prognóstico, tivesse papel na gênese de alterações envolvidas na fisiopatologia da doença crítica e da sepse e que contribuísse para disfunções orgânicas e morte, ensaios clínicos que avaliaram o impacto do controle glicêmico na redução da morbidade e mortalidade desses pacientes começaram a ser desenhados nos últimos anos. Em 2001, um ensaio clínico randomizado de grande porte, unicêntrico, conduzido em unidade de terapia intensiva cirúrgica descreveu uma diminuição de 40% na mortalidade em favor dos pacientes que tiveram a glicemia controlada para valores normoglicêmicos (80-110 mg/dl), em comparação com os pacientes que mantiveram valores glicêmicos mais elevados (180-220 mg/dl) ⁶. Em 2006, outro grande ensaio clínico randomizado, conduzido pelo mesmo grupo de estudo, testou os benefícios de um controle glicêmico mais rigoroso em unidade de terapia intensiva em pacientes internados não cirúrgicos, porém os benefícios encontrados em doentes cirúrgicos não puderam ser observados com a mesma intensidade em doentes clínicos, não houve, portanto diminuição na mortalidade e os benefícios em menos morbidade foram menos evidentes. Nas principais condições mórbidas testadas (necessidade de terapia de substituição renal, tempo de ventilação mecânica, polineuropatia do doente crítico) houve melhor evolução apenas nos doentes que permaneceram internados por mais de 72 horas ⁷. Em 2009, o maior ensaio clínico sobre controle glicêmico em doentes graves, conduzido em unidades de terapia intensiva mistas na Austrália e Nova Zelândia, chamado pelos investigadores NICE SUGAR, não encontrou benefícios em mortalidade ou morbidade para os pacientes que tiveram um controle glicêmico mais rigoroso (80-110mg/dl) quando comparados a pacientes que mantiveram valores glicêmicos mais elevados durante toda a internação (140-180 mg/dl). Além

disso, o estudo concluiu que as taxas de hipoglicemia grave (< 40 mg/dl) foram significativamente maiores no grupo que manteve valores glicêmicos mais próximos a normoglicemia e as taxas de mortalidade em 90 dias também foram maiores, questionando assim a segurança para instituição de um protocolo que objetivasse valores glicêmicos tão estritos⁸.

A glicemia é normalmente mantida em valores estreitos, a despeito de flutuações significativas no consumo e no suprimento de glicose, por ajustes na sua produção e na modulação do consumo. Atualmente, a maior variabilidade dos valores glicêmicos, associada a alguns estados mórbidos, tem sido associada a piores prognósticos⁹.

Na condição basal, 80% do consumo de glicose é realizado por meio de captação não-mediada por insulina (CNMI), principalmente pelo sistema nervoso central (SNC). O consumo restante (20%) é mediado por insulina (CMI), principalmente no músculo esquelético, no qual a captação é cerca de 50% CNMI e 50% CMI. O transporte de glicose na maioria das células ocorre por difusão facilitada pelos transportadores de membrana conhecidos como Gluts, dos quais os mais importantes são: Glut-1, Glut-2, Glut-3 e Glut-4.

O Glut-1, expresso em diversos tipos celulares, é responsável pela captação basal de glicose pelos tecidos. De maneira análoga, o Glut-3 também realiza essa função no sistema nervoso. O Glut-2 é um transportador de baixa afinidade pela glicose, com importante atividade no fígado e no pâncreas, atuando como um sensor de glicose nesses tecidos e permitindo o transporte bidirecional da glicose nos hepatócitos.

Diferentemente do que ocorre na gordura e no músculo, a captação de glicose pelo fígado depende mais de enzimas como hexoquinase, da concentração

no hepatócito de intermediários metabólicos-chave como glicose-6- fosfato e da concentração de glicose na veia porta do que propriamente da capacidade de transporte de glicose, garantido pela característica de baixa afinidade do receptor Glut-2.

O Glut-4, presente no músculo, na gordura e no miocárdio, realiza o transporte estimulado pela insulina. Quando a insulina se liga ao seu receptor, é ativado um mecanismo de sinalização intracelular e ocorre a migração de vesículas intracelulares portadoras do Glut-4 para a membrana celular, tornando possível, dessa forma, o influxo da glicose para a célula.

A produção de glicose pode ocorrer pela quebra de glicogênio no fígado e pela gliconeogênese (GNG). Com o prolongamento do tempo de jejum, os estoques de glicogênio se esgotam e, a partir de 48 horas, a GNG passa a ser a principal fonte de glicose. No jejum prolongado, os rins fornecem cerca de 25% da produção sistêmica de glicose por meio da metabolização de glutamina, e os 75% restantes são gerados pelo fígado.

O controle da glicemia plasmática acontece pelas interações hormonais, neurais e por mecanismos de auto-regulação hepática. A insulina estimula a CMI e estimula a síntese de glicogênio, reduzindo a glicemia. Os hormônios contra-reguladores (catecolaminas, GH, cortisol e glucagon) estimulam a glicogenólise e a GNG e inibem a CMI, produzindo efeito oposto ao da insulina.

A modulação hormonal do metabolismo do glicogênio ocorre por regulação da atividade enzimática. O glucagon e a adrenalina estimulam a glicogenólise, promovendo aumento nos quantidades de AMPc (adenosina monofosfato cíclico), que por sua vez ativa a fosforilase, enzima responsável pela catalisação da quebra

de glicogênio e inibe a glicogênio sintase, enzima responsável por catalisar a síntese de glicogênio, enquanto a insulina exerce efeito reverso.

O glucagon e as catecolaminas estimulam a síntese da enzima que é o fator limitante na GNG, PEPCK (fosfoenol-piruvato carboxiquinase), enzima que faz a ligação entre o piruvato formado no ciclo de Cori e da Alanina e a síntese de glicose, enquanto a insulina reduz a transcrição do gene da PEPCK.

Mecanismos neurais desempenham papel importante através da presença de sensores periféricos e centrais de glicose que modulam o tônus simpático no fígado e no pâncreas, principais órgãos efetores da regulação de glicose em resposta à hipoglicemia ou hiperglicemia. A produção de catecolaminas pela medula adrenal também sofre influência desse tônus, e sensores na veia porta participam da modulação da captação hepática de glicose. A auto-regulação hepática permite ao fígado responder diretamente a variações na glicemia com aumento ou redução da produção de glicose, de maneira não mediada por alterações hormonais.

A ativação dos centros de estresse do SNC por diversos estímulos, como alterações na volemia, acidose, hipóxia, dor e produção de citocinas, leva à ativação do eixo hipotálamo-hipofisário-adrenocortical (EHHA) e do sistema nervoso simpático-adrenomedular. Citocinas (TNF, IL-1, IL-6) estimulam o EHHA, aumentando a produção de CRH/ ACTH e incentivando diretamente o córtex adrenal a sintetizar glicocorticóides.

Na sepse, catecolaminas estimulam a glicogenólise, sendo o aumento da glicemia, logo após o início do quadro inflamatório, proporcional às concentrações de adrenalina. Glucagon parece não atuar nessa resposta inicial, uma vez que as concentrações séricas observados nesta fase foram descritos dentro de faixas muito semelhantes aos valores fisiológicos. A variabilidade da secreção de insulina

inicialmente é maior, com valores, na média, mais próximos aos valores normais. Após alguns dias, parece haver secreção de insulina de forma não-pulsátil e insuficiente para a normalização da glicemia, condição similar à do DM tipo 2.

O aumento na produção de glicose hepática pela glicogenólise promove depleção dos estoques de glicogênio na fase inicial da sepse, e a manutenção de uma maior produção de glicose evidencia a importância da GNG hepática. As quantidades de glucagon aumentam e sinergicamente as catecolaminas, estimulam a GNG hepática. De maneira similar, o GH encontra-se elevado na fase inicial da sepse, estimulando a GNG e inibindo a CMI nos tecidos periféricos e a sinalização da insulina. Glicocorticóides inibem a translocação de Glut-4 para a membrana, interferindo na via de sinalização da insulina. Citocinas influenciam o metabolismo da glicose tanto diretamente como pelo estímulo da secreção de hormônios contra-reguladores, pela inibição da secreção e pelo aumento na depuração de insulina, levando ao desenvolvimento de RI.

Outros fatores aumentam o risco de hiperglicemia em pacientes sépticos, como a administração de drogas com efeito hiperglicemiante, pancreatite, obesidade e idade avançada.

O aumento na produção de glicose durante o estresse é dificilmente suprimido pela administração de insulina exógena.

Lactato e alanina são os principais substratos para a GNG hepática no estresse, com a extração hepática de lactato aumentada duas a três vezes na sepse. A produção de lactato está também aumentada na sepse, com elevada produção nos pulmões na lesão pulmonar aguda; no trato gastrointestinal e nas feridas. Com o aumento da atividade fagocítica em neutrófilos e macrófagos, ocorre aumento no fluxo de glicose pelas vias glicolítica e da pentose fosfato, por meio das

quais as células fagocíticas aumentam a produção de NADPH, que é a fonte de energia para a geração de radicais livres de oxigênio destinados à explosão oxidativa bactericida. A glicólise e o ciclo de Krebs não são acoplados em fagócitos, com baixas taxas de glicose sendo oxidadas, levando a uma elevada produção de lactato pela ativação fagocitária, fortalecendo a hipótese que o nível de lactato consistiria, principalmente, um marcador da intensidade da ativação inflamatória de células fagocíticas do que um marcador de hipoperfusão e de hipóxia tissular na sepse.

O estresse aumenta a liberação de alanina do tecido muscular, que é convertida em glicose no fígado pelo ciclo glicose-alanina. Somente cerca de um terço da alanina no sangue é derivada de proteólise muscular. A maior parte é proveniente do esqueleto carbônico do piruvato unido à molécula de amônia derivada da deaminação de aminoácidos ramificados, constituindo, desse modo, uma via de transporte de amônia ao fígado de maneira não-tóxica.

A sepse é associada a uma maior captação corporal total de glicose, como resultado do aumento na CNMI induzida por citocinas. Esse aumento da CNMI parece ser resultado do aumento da síntese, da concentração na membrana celular e da atividade do Glut -1. A CMI nos músculos esquelético e cardíaco pelo transporte via Glut -4 é reduzida.

Após o transporte pela membrana celular, a glicose é fosforilada e então pode ser direcionada à glicólise ou à formação de glicogênio. O estresse estimula o fluxo glicolítico por ação do efeito de massa ocasionado pela maior captação celular de glicose, que por sua vez aumenta a produção de lactato e piruvato. Dados mais recentes indicam também um aumento importante na oxidação do piruvato em

pacientes sépticos, e a maioria dos estudos não conseguiu demonstrar a hipóxia como causa para o aumento do fluxo glicolítico na doença crítica.

A utilização não-oxidativa da glicose na síntese de glicogênio encontra-se reduzida, constituindo um importante mecanismo para a regulação do metabolismo da glicose. Dados experimentais indicam defeitos na síntese de glicogênio como fator causal no desenvolvimento da RI na sepse.

O estresse resultante de quadros sépticos constitui um estado de RI, uma vez que geralmente ocorre hiperglicemia com concentrações plasmáticas de insulina normais ou elevadas. Pacientes sépticos são particularmente resistentes à ação da insulina.

Tanto a RI central quanto a periférica são importantes na patogênese da hiperglicemia do estresse. A RI periférica decorre principalmente da redução da CMI no músculo esquelético. Os mediadores mais importantes dessa resposta metabólica são as citocinas TNF, IL-1, IL-6 e hormônios contra-reguladores, que agem interferindo na via de sinalização da insulina e no transporte ou na translocação do GLUT-4 para a membrana celular.

Citocinas pró-inflamatórias afetam a homeostase da glicose, indiretamente, pela estimulação da secreção de hormônios contra-reguladores e, diretamente, alterando a sinalização do receptor de insulina

O papel das catecolaminas na RI induzida pela sepse é demonstrado em alguns estudos em ratos sépticos. Em adipócitos, catecolaminas reduzem CMI por inibição da autofosforilação da quinase do receptor de insulina. Catecolaminas, além de serem indutoras de RI, atuam também inibindo a secreção de insulina nas células β . Angiotensina II também exerce efeitos antiinsulínicos de maneira semelhante à das catecolaminas. O estímulo lipolítico β -adrenérgico leva à redução na oxidação

da glicose pela ativação do ciclo de Randle (o aumento nas concentrações séricas de ácidos graxos livres decorrentes da lipólise reduz a utilização de glicose pelo músculo; estudos demonstraram o efeito inibitório de ácidos graxos livres na via de sinalização da insulina). O fígado reage com elevação da produção hepática de glicose diante da estimulação por catecolaminas.

As bases moleculares exatas da RI em pacientes sépticos permanecem ainda incertas. O transporte da glicose não parece ser o fator limitante da CMI no músculo durante o estresse. A etapa limitante do metabolismo da glicose na RI provavelmente ocorre em algum ponto distal ao transporte da glicose.

Defeitos na utilização oxidativa da glicose também não parecem ser um fator relacionado diretamente a RI, uma vez que a oxidação de piruvato mostrou-se maior na sepse. Em contraste, há dados na literatura que dão suporte à hipótese de que a redução na utilização não-oxidativa da glicose estaria envolvida na gênese da RI induzida pela sepse. A enzima glicogênio-sintase, ponto-chave na regulação da síntese de glicogênio, é inibida pela ação de citocinas e de hormônios contra-reguladores, reduzindo assim a utilização de glicose para a síntese de glicogênio.

O TNF e a endotoxina inibem a MAPK, cuja ativação possui um papel importante na regulação da síntese de glicogênio. O aumento na concentração plasmática de ácidos graxos livres pode também inibir a síntese de glicogênio e a utilização de glicose como substrato energético no músculo esquelético (ciclo de Randle). Tem sido postulado que as vias metabólicas envolvidas na síntese de glicogênio mediada pela insulina podem ser mais sensíveis aos efeitos inibitórios dos mediadores da sepse do que as moléculas mais proximais da via de sinalização da insulina envolvidas na captação de glicose.

Quanto a RI central, definida como falha na capacidade da insulina, em concentrações fisiológicas, de suprimir a produção hepática de glicose, estaria relacionada a defeitos na capacidade da insulina de estimular a síntese da hexoquinase. Defeitos adquiridos na síntese ou translocação da enzima hexoquinase mediadas pela insulina podem ser mecanismos envolvidos na patogênese da RI central. A RI hepática é também caracterizada por valores elevados de IGFBP-1 (insulin-like factor binding protein-1 – proteína 1 de ligação a fator de crescimento insulina-like), proteína de ligação cuja produção está normalmente sob o controle inibitório da insulina. Estudos que analisaram o efeito da administração de insulina na sepse em humanos indicam que ocorre RI mais severa no fígado do que em outros tecidos periféricos (músculo esquelético e tecido adiposo)⁵. Um dos fatores que poderiam explicar essa diferença seria a expressão, no fígado, de proteínas como Foxo-1 (forkhead transcription factor Foxo1), que atua como um fator de transcrição de enzimas envolvidas na GNG, como PEPCK e glicose-6-fosfatase. A insulina fosforila Foxo-1, impedindo a translocação para o núcleo e bloqueando a transcrição de genes envolvidos na GNG.

Relação do estado hiperglicêmico e gravidade de doença

Além de marcar gravidade, a hiperglicemia pode causar uma série de alterações funcionais no organismo capaz de contribuir para um pior prognóstico.

Em pacientes diabéticos, complicações relativas à glicotoxicidade ocorrem em anos, um período de tempo de exposição à hiperglicemia de ordem de grandeza muito maior que o período de exposição de pacientes sépticos à hiperglicemia. Esse processo de glicotoxicidade acelerada na sepse e na doença crítica pode ser explicado por duas hipóteses, não mutuamente exclusivas: a primeira seria a

acentuada sobrecarga celular de glicose e a segunda, os efeitos tóxicos mais pronunciados da glicólise e da fosforilação oxidativa na sepse e na doença crítica.

O SNC e o periférico, os hepatócitos e as células endoteliais, epiteliais e imunológicas constituem compartimentos celulares que captam a glicose independentemente da insulina, por transportadores Glut-1, Glut-2 e Glut-3. Em hepatócitos, células tubulares renais, células beta-pancreáticas e na mucosa gastrointestinal, a presença do Glut-2 permite que a glicose entre na célula em equilíbrio com o nível extracelular. O Glut-1, amplamente expresso, mediante hiperglicemia tem a sua expressão na membrana celular reduzida, protegendo assim a célula da sobrecarga de glicose. Entretanto, hipóxia e vários mediadores inflamatórios produzidos na sepse como citocinas, angiotensina II, endotelina-1, VEGF (fator de crescimento vascular endotelial), TGF- β (fator de crescimento β) aumentam a quantidade de Glut-1 e Glut-3 em diferentes tipos celulares, de certa forma eliminando esse mecanismo de proteção celular contra a sobrecarga de glicose. Desse modo, células e órgãos que captam glicose passivamente estariam sob maior risco de toxicidade pela sobrecarga de glicose nesse contexto de liberação de mediadores inflamatórios e hipóxia na sepse. De outra forma, grupos celulares que captam glicose principalmente de maneira dependente de insulina (via Glut -4) como músculo esquelético e miocárdio, estariam relativamente protegidos dos efeitos tóxicos da hiperglicemia.

Além da sobrecarga intracelular de glicose, a toxicidade acelerada da glicose na sepse está ligada à maior formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e/ou atuação deficiente de depuradores (scavengers) de ROS produzidas pela glicólise e pela fosforilação oxidativa ativadas. Juntamente com a geração de ATP pela cadeia respiratória mitocondrial, é produzida uma pequena quantidade de superóxido que é

detoxificada pelo complexo Mn-SOD (mangânês superóxido dismutase). Quanto mais glicose entra na célula e mais piruvato é usado na fosforilação oxidativa, maior é a produção de superóxido, que interage com óxido nítrico (NO) para formar peroxinitrito, que atua nitrando proteínas, como as do complexo mitocondrial da cadeia respiratória, alterando as propriedades dessas enzimas.

Na sepse, em comparação com condições normais, ocorre maior geração de superóxido, bem como maior produção de NO pela ativação da iNOS (sintase de óxido nítrico induzível) induzida por citocinas. Quanto maior a disponibilidade de NO e superóxido, maior será a produção de peroxinitrito e maior a repercussão funcional sobre as enzimas já citadas.

A nitração de proteínas da cadeia respiratória e das enzimas relacionadas pode prejudicar a atividade da cadeia transportadora de elétrons, reduzir a detoxificação de superóxido, aumentar o estresse oxidativo e desviar o metabolismo de glicose para vias tóxicas como a via dos polióis e via da hexosamina, aumentar a produção de AGEs (produtos avançados de glicação) e ativar PKC (proteína quinase C).

Na via dos polióis, a metabolização da glicose pela aldose redutase aumenta a concentração intracelular de sorbitol e reduz as concentrações celulares de NADPH, co-fator necessário para a formação de glutathione em sua forma reduzida. Na via da hexosamina, ocorre modificação de fatores de transcrição, que estimulará a transcrição de genes de proteínas pró- trombóticas e pró-inflamatórias, como PAI-1 (inibidor do ativado r do plasminogênio-1) e TGF- β 1. O aumento da produção de AGs altera a função de proteínas intracelulares. Quando liberados no compartimento extracelular, AGs vão se ligar a receptores em monócitos e macrófagos, estimulando a geração de ROS e ativando vias pró-inflamatórias e pró-apoptóticas, e levando a

alterações pró-coagulantes em células endoteliais (trombomodulina, VCAM-1 - molécula de adesão vascular celular-1, fator tissular) e ao aumento da adesão de células inflamatórias. A hiperglicemia aumenta a produção de diacilglicerol, que, por sua vez, ativa PKC, induzindo alterações celulares pela atuação em fatores de transcrição como NF-KB- fator nuclear kappa B, que aumentam a inflamação e a apoptose.

Em conjunto, todas essas alterações reduzem a atuação de sistemas depuradores, aumentam o estresse oxidativo, elevam a ativação de vias pró-inflamatórias, pró-apoptóticas e pró-trombóticas e induzem à disfunção mitocondrial com conseqüente falência bioenergética. Na sepse, não se sabe ao certo a magnitude e a importância da ativação dessas vias, descritas e mais estudadas dentro da fisiopatologia das complicações crônicas do diabetes mellito.

Com base na observação da ocorrência dessas alterações no metabolismo bioenergético, que levam a uma alteração da utilização do oxigênio pela célula, cunhou-se o termo hipóxia citopática, na qual, mesmo com a normalização da oferta tecidual de oxigênio, não ocorre aumento na produção tecidual de ATP. Tais alterações contribuem para a disfunção de órgãos e sistemas, a principal causa de morte em pacientes sépticos.

Pode-se concluir que a hiperglicemia contribui de várias maneiras para a ocorrência de dano funcional à mitocôndria e para a falência bioenergética, induz ao estado pró-inflamatório e pró-trombótico e estimula a apoptose.

Hiperglicemia e inflamação

Dados experimentais indicam o importante papel da glicose como mediador inflamatório. A administração de 75 g de glicose em voluntários saudáveis aumenta a produção de ROS por polimorfonucleares e células mononucleares, bem como a

transcrição e as concentrações séricas de citocinas como IL-8 (potente agente quimiotático de neutrófilos). A glicose também agrava a inflamação por induzir a maior atividade nuclear do NF-KB, queda nas quantidades citosólicos de IKB e aumento da quinase IKB, tanto *in vivo* quanto *in vitro*.

Além disso, a glicose exerce ações pró-trombóticas, causa dano oxidativo pelo aumento da peroxidação lipídica e eleva a expressão e a concentração plasmática da metaloproteinase- 2 e 9 da matriz (MPM-2 e MPM-9), que provocam proteólise do colágeno e de outras proteínas da matriz, contribuindo para a disseminação da inflamação.

Existe uma ligação entre a via de sinalização da insulina e as vias inflamatórias ativadas pela interação entre lipopolissacáride (LPS) e toll-like receptors (TLR - moléculas de superfície responsáveis pelo reconhecimento de uma grande variedade de antígenos bacterianos, dentre eles o LPS). A ativação do IKK (inibidor da Kb quinase) por endotoxina (via TLR-4) e/ou citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1) leva ao aumento da concentração nuclear de NF-KB.

Hiperglicemia e disfunção endotelial

A ativação endotelial local é muito importante para o controle da infecção, mas a ativação endotelial difusa sistêmica é deletéria, pois compromete a microcirculação, leva a hipóxia celular e contribui para a disfunção orgânica. O NO é um importante regulador da função endotelial. Baixas quantidades de NO, produzido por meio da eNOS (sintase de óxido nítrico endotelial), são benéficas para a função endotelial e, conseqüentemente, para a função dos órgãos; entretanto, altas concentrações de NO geradas por indução da iNOS contribuem para disfunção endotelial, vasodilatação excessiva, extravasamento e lesão tecidual.

Hiperglicemia e disfunção do sistema imunológico

A hiperglicemia aguda afeta todos os componentes principais da imunidade inata e prejudica o combate à infecção, a despeito da ocorrência de alterações pró-inflamatórias sistêmicas. As alterações imunológicas mais estudadas incluem a redução da atividade de neutrófilos, prejudicando a quimiotaxia e reduzindo a formação de ROS para a explosão oxidativa e a capacidade de fagocitose de bactérias, mudança no padrão de citocinas com maior concentração de citocinas pró-inflamatórias das etapas iniciais da resposta imune (TNF- α e IL-6), comprometimento da cascata do complemento, com menor poder de opsonização, menor efeito quimiotático.

Assim, a hiperglicemia parece contribuir para um pior prognóstico, acometendo múltiplas funções fisiológicas. As repercussões funcionais incluem piora da cicatrização, geração de um perfil lipídico adverso, hiperatividade simpática e depleção de volume intravascular por diurese osmótica. A insulina estimula a síntese protéica no músculo esquelético, e a hiperglicemia favorece a manutenção da proteólise e do consumo de massa magra, aumentando o catabolismo.

Outras condições metabólicas, além do estado hiperglicêmico, ocorrem frequentemente em pacientes graves, como distúrbios do metabolismo das lipoproteínas e de triglicerídeos.

Lipoproteínas plasmáticas são partículas formadas por um núcleo hidrofóbico que contém triglicérides e ésteres de colesterol e é envolto por uma camada de fosfolípidos, colesterol não-esterificado, e uma ou mais proteínas denominadas apolipoproteínas. As lipoproteínas classicamente atuam como transportadoras de lípidos, viabilizando o transporte ou a síntese dessas partículas insolúveis no sangue dos locais de absorção para diversos tecidos, nos quais são captadas por receptores celulares específicos.

Atuam também como transportadoras de vitaminas lipossolúveis (vitaminas A, D e E), drogas (como a ciclosporina), alguns vírus e certas enzimas antioxidantes (por exemplo, paraoxonase e hidrolase do fator de ativação de plaquetas).

Existem quatro principais categorias de lipoproteínas, de acordo com suas densidades: quilomícrons, VLDL, LDL e HDL. Resumidamente, os lípides absorvidos da dieta no intestino são agrupados em quilomícrons, que são transportados pela linfa para a corrente sangüínea, onde sofrem a ação da lipase lipoprotéica (LPL), que promove a liberação de ácidos graxos para tecidos periféricos (tecido adiposo, musculoesquelético, miocárdio). Concomitantemente, essas partículas adquirem apolipoproteínas, incluindo apoE das HDL, e o núcleo rico em colesterol desses remanescentes de quilomícrons é subseqüentemente captado via sítios de reconhecimento de apoE nos hepatócitos.

O fígado secreta VLDL ricas em TG portadoras de apoB-100 e apoE, que servem também como fonte de ácidos graxos para tecidos extra-hepáticos, principalmente em condições de jejum. Os remanescentes de VLDL (as chamadas IDL) são parcialmente captadas pelo fígado via apoE, com o restante sendo metabolizado por uma partícula de LDL rica em colesterol com apoB-100 como única apolipoproteína. A LDL é captada pelo seu reconhecimento pelo receptor de LDL no fígado e em tecidos periféricos

Para a manutenção da homeostase, o excesso de colesterol em tecidos extra-hepáticos retorna ao fígado pelo transporte reverso realizado pelas HDL. As HDL originam-se como apolipoproteínas pobres em lípides, que adquirem a maior parte do seu conteúdo lipídico no espaço extracelular. No fígado e nos intestinos, apoA-1 e fosfolípidos formam HDL discóides prematuras, que vão receber fosfolípidos de quilomícrons e VLDL pela ação da proteína de transferência de fosfolípido e

colesterol de tecidos periféricos, via transportador A1 (ABCA1- adenosine triphosphate-binding cassette A1 transporter) e por difusão passiva de partículas de colesterol de membranas celulares, que é esterificado pela ação da lecitina colesterol acil transferase (LCAT - lecithin:cholesterol acyltransferase). Esses ésteres de colesterol podem então ser captados pelo fígado, diretamente via receptor scavenger classe B tipo 1 (SR-B1 - scavenger receptor class B type 1) ou indiretamente pela transferência para VLDL ou LDL em troca de triglicérides pela ação da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP - cholesteryl ester transfer protein), finalizando o processo pela posterior endocitose dessas partículas portadoras de apoB pelo receptor de LDL nos hepatócitos. Pela atuação dessas vias, a HDL está sujeita a um remodelamento constante durante sua circulação no plasma.

Tipicamente, mediante um estresse infeccioso, ocorre aumento nos concentrações plasmáticos de TG e VLDL. Em alguns casos, ocorre a manutenção de valores próximos a normalidade. Apesar desses valores eventualmente não-elevados, a produção hepática de TG e VLDL está sempre maior, em virtude do aumento na disponibilidade de ácidos graxos livres (AGL) liberados pela lipólise que ocorre nos tecidos adiposo periférico e visceral, sob o estímulo de catecolaminas, endotoxina e citocinas (TNF- α , IL-1, interferons: IFN- α , IFN- β e IFN- γ), e ainda pela nova síntese de ácidos graxos (AG) no fígado, também sob o estímulo de citocinas inflamatórias (TNF- α e TNF- β , IL-1, IL-6 e IFN- α).

Com a produção hepática de TG consistentemente elevada, pode haver variações nas concentrações de TG, dependendo da sua relação entre captação e clareamento; entretanto, ocorre mais comumente redução do clareamento, fato que também contribui para a elevação das concentrações plasmáticas de TG.

O clareamento de TG é mediado pela ação lipolítica da lipase protéica (LP). Na sepse ocorre depressão da atividade dessa enzima, dificultando a disponibilização de TG para os tecidos, reduzindo assim a oxidação de AGL e favorecendo a elevação das concentrações séricas de VLDL e TG.

Na vigência de hiperglicemia e hipertrigliceridemia, ocorre aumento na captação hepática de glicose e AGL. A glicose é metabolizada no hepatócito a malonil-CoA, que inibe a ação da carnitina palmitoiltransferase, enzima mitocondrial responsável pelo transporte de AGL de cadeia longa para serem oxidados no interior da mitocôndria. A acumulação de malonil-CoA também aumenta a síntese hepática de AGL, TG e VLDL. Esse é um dos pontos de ligação entre a RI e as alterações lipídicas na sepse.

LDL

Horas após o início do estímulo inflamatório da sepse, ocorre uma diminuição nas concentrações séricas de colesterol, que se encontram reduzidos tanto nas LDL como nas HDL, e um decréscimo nas concentrações plasmáticas de apoB (cada partícula de LDL possui uma molécula de apoB). Além da redução das concentrações séricas de LDL, há um aumento na proporção de LDL pequenas e densas. Citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1 e IL-6) promovem redução na produção hepática de apoproteínas. Na sepse ocorre aumento no deslocamento de LDL para o espaço intimal em virtude das modificações observadas no processo inflamatório como o aumento da proporção de LDL pequenas e densas, o maior dano oxidativo e a suscetibilidade à oxidação com menor atuação de sistemas antioxidantes. As LDL modificadas na sepse ligam-se com maior facilidade a receptores scavenger de macrófagos, sendo então fagocitadas, o que leva à formação das células espumosas, que contribuem para o dano endotelial.

HDL

Os mecanismos responsáveis pela queda nos valores de HDL, ainda não estão bem estabelecidos. Proteínas de fase aguda, como fosfolipase A2 secretória (FA2S), promovem aumento no catabolismo de apolipoproteínas e ésteres de colesterol, resultando em redução das quantidades de HDL-colesterol. Citocinas inflamatórias reduzem in vitro a síntese e secreção de apo A-1, apolipoproteína estrutural das HDL. Na inflamação, a atividade da LCAT é reduzida, levando a uma menor formação de ésteres de colesterol e comprometendo a maturação das partículas de HDL.

A proteína amilóide sérica A (SAA) é outra proteína de fase aguda que promove o aumento do catabolismo das HDL. A SAA desloca a apoA-1 das HDL, formando as assim chamadas HDL de fase aguda, que são catabolizadas mais rapidamente que as HDL com apoA-1.

As HDL de fase aguda são depletadas em ésteres de colesterol e enriquecidas com colesterol livre, TG e esfingolípides. Além disso, o nível de apoproteínas e enzimas associadas a HDL normais diminui, e aumenta o nível de proteínas de fase aguda (SAA e proteína ligadora de lipopolissacarídeos).

A paraoxonase sérica humana (PON-I) e a acetil hidrolase do fator ativador de plaquetas (PAF-AH- platelet activating factor acetylhidrolas) são enzimas associadas à HDL que contribuem para seu papel protetor contra a oxidação da LDL. A PON1 é uma esterase que protege lipoproteínas da oxidação, provavelmente pela hidrólise de peróxidos lipídicos. Protegendo-se a LDL do dano oxidativo, ocorre redução de efeitos biológicos relacionados à LDL oxidada, como quimiotaxia de monócitos, indução da expressão de moléculas de adesão e alteração do relaxamento de vasos sanguíneos.

O fator ativador de plaquetas (PAF) é um fosfolípide pró-inflamatório secretado por plaquetas ativadas, leucócitos e células endoteliais durante infecção e inflamação.

Exerce uma série de efeitos biológicos, incluindo a ativação de células inflamatórias, aumento da permeabilidade vascular e hipotensão. No plasma, é degradado pela PAF-AH, reduzindo a magnitude de tais eventos. Além disso, a PAF-AH também hidrolisa ácidos graxos oxidados das LDL, protegendo-as da oxidação. A PAF-AH plasmática circula no sangue ligada a lipoproteínas; em humanos, aproximadamente dois terços da atividade da PAF-AH são associados à LDL, e o terço restante à HDL, constituindo outro mecanismo antiinflamatório ligado às lipoproteínas.

Alterações lipídicas na sepse

Em 1920, Harold A. Kipp descreveu a ocorrência de alterações nos valores de colesterol em pacientes com pneumonia, chamando a atenção para as ações "antitóxicas e anti-hemolíticas" do colesterol. Em 1926 Thannhauser e Schaber comprovaram a associação entre concentrações séricas baixas de colesterol e doença. De certa maneira, esses trabalhos já mostravam aspectos relevantes das alterações lipídicas na sepse, a importância das lipoproteínas nos processos infecciosos com repercussão sistêmica e o papel prognóstico dos lípidos nesse cenário. Desde então, vêm sendo acumuladas evidências na literatura que reforçam a relação estreita existente entre o metabolismo lipídico e inflamação.

Mais precisamente, estes pacientes comumente apresentam concentrações séricas mais elevadas de triglicerídeos, baixas concentrações séricas de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), com aumento das formas menores, mais densas e mais aterogênicas do LDL, e baixas concentrações séricas de

lipoproteínas de alta densidade (HDL) ^{10, 11}. A produção hepática aumentada de triglicérides, associada com o aumento nas lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), devido à diminuição do clareamento pela lipase lipoproteica consequente as altas quantidades de endotoxinas, ocorre frequentemente em pacientes críticos e o conteúdo de colesterol diminui em horas depois do início da inflamação devido ao sequestro no espaço subendotelial de partículas de LDL e por acelerado hipercatabolismo do HDL ¹²

LDL é usualmente associado à maior fonte de colesterol extracelular. Mas, LDL é também a principal fonte de fosfolipídios extracelulares. Alguns destes fosfolipídios podem ser oxidados e, sob forma oxidada podem induzir resposta inflamatória ¹³. Thomas et al ¹⁴ estudaram oxidação de LDL por íons metálicos in vitro e concluíram que o LDL deve ser exposto a espécies reativas de oxigênio antes de serem oxidados. Paraoxonase (PON) é um componente da molécula de HDL parece promover a inativação dos fosfolipídios oxidados derivados de LDL uma vez que eles sejam formados e parece evitar a formação de LDL moderadamente oxidado ^{15, 16, 17}. LDL oxidado é relacionado a sistemas pró-trombóticos como os relacionados à indução da atividade de fator tecidual que é o iniciador da cascata de coagulação interagindo com os fatores IX e X, promovendo a formação de trombina . Células endoteliais cultivadas podem ser induzidas a expressar fator tecidual por uma variedade de agonistas, incluindo lipopolissacarídeos bacterianos (LPS), citocinas inflamatórias (interleucina-1, fator de necrose tumoral [TNF]) e LDL oxidado (Ox-LDL) ¹⁸. Ox-LDL também tem sido relacionado à patogênese da aterosclerose e a ruptura da placa aterosclerótica, promovendo o acúmulo lipídico, respostas pró-inflamatórias e morte celular por indução de apoptose ¹⁹⁻²¹. Efeitos biológicos como efeitos pró-apoptóticos do Ox-LDL parecem ser mediados por receptores celulares

de superfície para Ox-LDL ²². Existem muitas diferentes classes de receptores de Ox-LDL (também denominados receptores scavenger) a maioria deles é expressa principalmente por macrófagos, e pode ser induzida por estímulos pró-inflamatórios e por outros estímulos relacionados a aterogênese. Ligação aos receptores de Ox-LDL induz espécies reativas de oxigênio, reduz óxido nítrico, e ativa NF-Kappa B ²³, ²⁴. Alguns estudos correlacionam as concentrações séricas de Ox-LDL a valores mais elevados de glicemia, de triglicerídeos, baixos valores de HDL e a um estado de resistência a insulina mais elevado ²⁵.

Altas doses de ácidos graxos livres geralmente causam necrose, com rápida perda da integridade da membrana, “vazamento” mediado por lisossomas, e edema celular. Esses efeitos parecem estar associados com estresse oxidativo porque eles podem ser parcialmente evitados com antioxidantes como o tocoferol ²⁶⁻³⁰. Recentemente, alterações cardíacas relacionadas à presença de altas concentrações séricas de ácidos graxos livres tem sido enfatizadas ³¹. Na verdade, elevadas quantidades de ácidos graxos livres plasmáticos podem danificar a estrutura e a função da membrana plasmática cardíaca e aumentar a concentração de cálcio intracelular, afetando desta forma à atividade cardíaca. Outros estudos demonstraram que os ácidos graxos livres podem exacerbar a atividade simpática cardíaca em indivíduos saudáveis ^{32,33}. Assim, concentrações séricas elevadas de ácidos graxos livres podem ser responsáveis pela atividade exacerbada, do sistema simpático cardíaco, descrita em pacientes sépticos.

A magnitude da hipocolesterolemia apresentada correlaciona-se com a gravidade e com a morbidade e mortalidade da doença. Estudo com pacientes vítimas de trauma em ventilação mecânica mostrou que havia um aumento dos valores de colesterol em sobreviventes e queda naqueles que caminhavam para

óbito. Nesse mesmo estudo, observou-se também queda na colesterolemia no início de processos infecciosos, fato que apresentou maior poder preditivo de infecção que o aumento na contagem de leucócitos. Nesse contexto, a hipocolesterolemia é vista como parte da resposta negativa de fase aguda, na qual tanto a diminuição da síntese quanto o aumento no catabolismo são responsáveis pelas reduções observadas nos valores de colesterol e de lipoproteínas. Constata-se ainda uma relação entre quantidade de colesterol e risco do desenvolvimento de infecções. Estudo com doentes cirúrgicos mostrou que baixos valores de colesterol são associados à maior risco de ocorrência de infecções nosocomiais, e a análise da literatura permite afirmar que existe uma relação entre baixas concentrações séricas de colesterol e ocorrência de endotoxemia, sepse e disfunção de órgãos.

Uma questão importante é saber se as alterações lipídicas observadas na sepse refletem apenas a gravidade da doença ou se elas podem ter papel fisiopatogênico na sepse. Essas alterações nas lipoproteínas ocorrem em um contexto metabólico complexo, juntamente com as alterações do metabolismo dos carboidratos (RI e hiperglicemia). Dados de estudo *in vitro* e *in vivo* mostram que LPS e ácido lipoteicoico (fragmento de bactérias Gram-positivas indutoras de inflamação à semelhança do LPS) podem ser neutralizados pela ligação a lípidos (emulsões lipídicas, VLDL, LDL, HDL, apoA apo B, apo E), e alguns trabalhos sugerem maior potência da capacidade de neutralização de endotoxinas pelas HDL. A maior afinidade do LPS por partículas com apoA-1 pode explicar esse fenômeno de ligação preferencial às HDL. Entretanto, com o deslocamento de apoA-1 nas HDL de fase aguda, bem como com outras alterações na formação e maturação das HDL na sepse, essa função de neutralização acaba sendo prejudicada. Com a ligação do LPS ao seu receptor celular CD14 (receptor de LPS presente em monócitos,

macrófagos e neutrófilos) aumenta a ativação das vias inflamatórias, associadas a CD14-TLR-4 (transcrição de genes associados ao NF-Kb). Assim, tanto as concentrações séricas reduzidas na sepse como as alterações estruturais da HDL colaboram para uma menor capacidade de neutralização do LPS, levando a aumento e perpetuação da inflamação.

Por meio da ligação a lipoproteínas, o LPS acaba sendo direcionado a hepatócitos, reduzindo a captação pelas células de Kupfer. Essa redistribuição diminui a resposta inflamatória associada à captação de LPS por macrófagos. Outras moléculas são importantes na viabilização do processo de ligação de LPS a lipoproteínas, como a proteína de ligação de LPS (LBP), que atua como co-fator no processo de neutralização do LPS. Assim, LBP, CD14, TLR e HDL têm papel crucial no equilíbrio entre neutralização de LPS e ativação imune.

Além disso, a incorporação de SAA pela HDL deslocando e alterando o funcionamento de enzimas a ela associadas, como PON-1, PAF-AH e LCAT, indica mais um fator pelo qual os efeitos antiinflamatórios da HDL estão reduzidos durante a resposta da fase aguda no processo inflamatório, produzindo uma partícula com características pró-inflamatórias.

Recentemente foram descobertos receptores de AGL em diferentes tipos celulares, incluindo leucócitos, que podem afetar a função de células do sistema imune e do sistema reticuloendotelial.

As modificações que ocorrem nas LDL constituem outro fator que favorece a manutenção do ciclo inflamação-alteração lipídica, pois promovem efeitos citotóxicos diretos em células endoteliais e seu acúmulo em macrófagos e células musculares lisas de parede dos vasos, estimulando a liberação de mediadores inflamatórios e pró-trombóticos.

Dados experimentais indicam que a HDL, além de atuar na diminuição da toxicidade induzida por LPS, influencia diretamente a via fibrinolítica e a função plaquetária.

Valores maiores de HDL correlacionam-se a quantidades mais elevadas de ativador do plasminogênio tecidual e de inibidor de ativador de plasminogênio; pela interação das HDL com glicoproteínas IIb/IIIa, ocorre redução da ligação de fibrinogênio às plaquetas com diminuição da agregação plaquetária. Assim, as HDL atuam na sepse reduzindo a agregação plaquetária e a ativação da coagulação e da fibrinólise. A diminuição do nível sérico de HDL tornaria o indivíduo séptico mais predisposto a alterações de coagulação e a trombose, potencialmente aumentando a lesão tissular e de órgãos. Além disso, por inibir a expressão de moléculas de adesão (VCAM-1, ICAM-1 e E-selectina), estimular as eNOS e proteger as LDL do dano peroxidativo, as HDL preservam a função endotelial e exercem efeito antiinflamatório.

Na doença crítica, até onde sabemos há apenas um estudo retrospectivo observacional ³⁴ investigando a associação da hipocolesterolemia e mortalidade, e outra análise de um grande banco de dados de um estudo prospectivo, randomizado intervectivo de uma subpopulação que permaneceu em unidade de terapia intensiva por pelo menos sete dias ⁵ relacionando intensidade do controle glicêmico a diferentes comportamentos do metabolismo lipídico e melhores morbi-mortalidade. Em ambos, praticamente todos os pacientes eram primariamente cirúrgicos. Não há, na literatura especializada, dados consistentes descrevendo o metabolismo lipídico em pacientes sépticos submetidos a controle glicêmico.

2. Objetivo

O objetivo deste estudo é descrever o comportamento do metabolismo lipídico em doentes sépticos submetidos a controle glicêmico para normoglicemia (80-110mg/dl) ou para valores mais elevados (180-220 mg/dl).

3. Métodos

Desenho

Ensaio clínico prospectivo, randomizado, controlado em centro único em unidade de terapia intensiva clínico-cirúrgica com 14 leitos de um hospital universitário em São Paulo, Brasil, entre Março de 2004 e Março 2006.

Critérios de inclusão

1) Diagnóstico de sepse grave ou choque séptico na admissão do departamento de emergência, de acordo com as definições da Society of Critical Care Medicine (SCCM).

Critérios de exclusão

- 1) Pacientes menores de 18 anos.
- 2) Grávidas.
- 3) Pacientes com forte suspeita de leptospirose, para melhor validade externa do estudo.
- 4) Pacientes em cuidados paliativos.

Consentimento informado foi aplicado e respondido pelo paciente ou pelo responsável legal pela internação imediatamente antes da inclusão no protocolo de atendimento. O protocolo de controle glicêmico e o consentimento informado foram ambos aprovados pelo comitê ético do Hospital.

3.1 Pacientes e amostras

Os participantes do estudo foram randomizados por envelopes selados e opacos para alocação no grupo intervenção ou no grupo controle (**figura 1**).

Figura 1. Seleção de pacientes e randomização.

3.2. Caracterizações dos grupos de estudo

O grupo intervenção teve um controle glicêmico mais rigoroso, seguindo um protocolo institucional que pode ser consultado no ANEXO A. Este protocolo fez parte de um estudo piloto conduzido por três meses antes da instituição da randomização para familiarização da equipe cuidadora e correção de possíveis falhas na condução. Os objetivos de glicemia eram manter entre 80-110 mg/dl, e amostras sanguíneas eram coletadas diretamente de cateter arterial de hora em hora nas primeiras horas até estabilização das doses de insulina administrada em bomba de infusão.

O grupo controle teve um controle glicêmico menos rígido e também seguiu um protocolo de atendimento institucional. Este protocolo também fez parte de um estudo piloto conduzido por três meses antes da instituição da randomização para familiarização da equipe cuidadora e para correção de possíveis falhas na condução. Os objetivos e glicemia para este grupo eram manter glicemias entre 180-220 mg/dl e amostras sanguíneas eram coletadas diretamente do cateter arterial de hora em hora nas primeiras horas até estabilização das doses de insulina administrada em bomba de infusão.

3.3. Aporte nutricional

Para todos os pacientes de ambos os grupos randomizados, foi ofertado, até estabilização do quadro, aporte calórico através de soro glicosado de manutenção. Assim que possível foi iniciada dieta enteral em sistema fechado, seguindo protocolo institucional de progressão da dieta, conforme tolerabilidade dos pacientes (Figura 2). A meta calórica era 25 kcal por kg de peso por dia.

Coleta de dados

Foram coletados dados clínicos como idade, sexo, sítio de infecção, história previa de diabetes, escore de gravidade como APACHE II, positividade de culturas, necessidade de terapia de substituição renal.

Análise do soro

Amostras foram coletadas na admissão na unidade de terapia intensiva, 24 horas, 48 horas e 72 horas após a inclusão no protocolo. Concentrações de proteína C reativa (PCR), triglicérides, colesterol total, HDL e LDL foram determinadas por ensaios clínicos de rotina usando kits comerciais em um analisador automatizado

(ADVIA1650, Bayer). Para os ácidos graxos livres, amostras sanguíneas foram coletadas, centrifugadas a 1200 rpm por dez minutos em uma temperatura de 4°C estocado em um refrigerador a -80°C até o momento do ensaio. Os ácidos graxos não esterificados, os verdadeiros ácidos graxos livres foram então medidos em uma técnica enzimática colorimétrica usando o kit NEFA C (Wako Chemicals USA, Inc). Ox-LDL foi dosado e medido através do ensaio de ELISA. Para isso, amostras sanguíneas foram armazenadas em freezer a temperatura de -70°C até a data do exame. As amostras deveriam estar entre 18 e 26°C momentos antes do exame. Foram adicionados 100 µl de amostras standard, controle e amostra diluídas em duplicatas nos respectivos "wells". As fileiras preenchidas foram cobertas e incubadas a 37°C por 2 horas. Foram aspirados e lavados os wells com 300 µl de solução tampão de lavagem diluída por 5 vezes. A solução de tampão de lavagem

Figura 2. Protocolo de progressão de nutrição enteral em sistema fechado.

foi retirada através de batidas repetidas dos pratos em papel toalha. Foram adicionados 100 µl de conjugados, anticorpos anti ox-LDL em cada “well” preenchido. As fileiras foram novamente cobertas e incubadas a 37°C por 1 hora. Foram aspirados e lavados os “wells” com 300 µl de solução tampão de lavagem diluída por 5 vezes. A solução de tampão de lavagem foi retirada através de batidas repetidas dos pratos em papel toalha. Foram adicionados 100 µl de substratos em cada “well”. Incubados a temperatura ambiente (18 a 26°C) por 30 minutos no

escuro. Foram adicionados 50 µl de solução de “stop” em cada “well”. Após foram medidas absorbâncias a 450 nM com referência de 620 nM. Foi utilizado o kit comercial da Biomedica , Viena, Áustria.

3.4. Análise estatística

Os dados foram testados para distribuição normal utilizando-se o modelo de goodness-of-fit de Kolmogorov-Smirnov, e são mostrados como médias e desvios padrão para os dados com distribuição paramétrica e como Mediana (MED) e intervalos percentis (IQR) para dados com distribuição não paramétrica. Médias foram comparadas com teste t de Student simples ou pareado conforme apropriado. Para comparações de medianas entre grupos foi utilizado Mann Whitney U test. Dados categóricos foram comparados com teste de Qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fischer conforme apropriado. A comparação de dados repetitivos entre grupos ao longo do tempo foi realizada com teste de Friedmann para dados não paramétricos. As médias dos valores dos grupos de pacientes sobreviventes e não sobreviventes foram comparadas ao longo do tempo com análise de variância (ANOVA) de dois fatores, análise post-hoc foi feita com o teste de Tukey. A correção de Bonferroni para múltiplas comparações foi utilizada e o nível de significância foi considerado como $P < 0.0125$. Nível de significância de $P < 0.05$ foi considerado para comparações simples. Para análise de correlação entre variáveis medidas foi utilizada regressão linear e teste de correlação de Pearson ou teste de correlação de Spearman, considerando como forte correlação com $r^2 > .80$, correlação intermediária com r^2 entre .60 e .80 e fraca correlação com $r^2 < .60$.

O software de estatística comercialmente disponível SPSS 10.0 (Chicago, Illinois, EUA) foi utilizado.

4. Resultados

4.1. Resultados do grupo total

Entre Março de 2004 e Março de 2006, 69 pacientes foram considerados elegíveis para o protocolo de estudo, 2 pacientes foram excluídos por forte suspeita clínica de leptospirose e 4 pacientes se recusaram a assinar o consentimento informado. Sessenta e três pacientes foram então incluídos no estudo e randomizados para cada um dos grupos definidos anteriormente (**figura 1**); Todos os pacientes foram admitidos na unidade de terapia intensiva oriundos exclusivamente do departamento de emergência. **Tabela 1** mostra os dados demográficos da admissão de todos os sessenta e três doentes. Não houve diferenças estatísticas significantes entre os dois grupos para análise dos dados demográficos iniciais.

A intervenção foi considerada adequada pela diferença estatisticamente significativa com relação aos valores de glicemia e a quantidade de insulina utilizada ao longo do estudo entre os dois grupos como mostrado na **tabela 2**. Doses de norepinefrina utilizadas ao longo do tempo foram similares entre os grupos, entretanto as doses de norepinefrina utilizadas nas últimas 72 horas foram estatisticamente inferiores as doses utilizadas nas primeiras 24 horas em ambos os grupos ($p = 0.01$). Não houve uso significativo de dobutamina em ambos os grupos e as doses utilizadas de dopamina foram similares ao longo do tempo de estudo (**Tabela 3**).

O aporte calórico total foi semelhante e crescente entre os dois grupos ao longo dos dias de estudo (**Figura 3**). A quantidade de calorias por kg de peso esteve longe da meta nos dois grupos (**Tabela 4**). Nenhum paciente recebeu nutrição parenteral total durante o período de estudo.

	Convencional (n=35)	Intensivo (n=28)
Idade (anos)	53 ± 19	53 ± 19
Homens (%)	54	61
APACHE II	21 ± 7	19 ± 7
Choque séptico (n; %)	27; 77	19; 68
História prévia de dislipidemia (%)	17	18
História prévia de diabetes (%)	23	25
Sítio de infecção		
Pulmão (%)	49	53
Abdomen (%)	31	18
Pele (%)	11	11
Trato urinário (%)	3	11
Outros (%)	6	7
Germes isolados		
Gram negativos (n/%)	9 / 26	6 / 21
Gram positivos (n/%)	10 / 28	13 / 46
Candida (n/%)	1 / 3	1 / 4
Nenhum (n/%)	15 / 43	8 / 29
Glicemia (mg/dl)	140(101-161)	144 (97- 182)
Colesterol Total (mg/dl)	88(63-111)	95 (71 - 125)
HDL (mg/dl)	17 (11-30)	18 (14 - 24)
LDL (mg/dl)	38 (20 - 46)	36 (28 - 51)
Triglicérides (mg/dl)	115 (78 - 215)	153 (92 - 232)
oxLDL(mg/dl)	13 (6 - 23)	21 (12 - 28)
Ácidos graxos livres	0.08 (0,05 - 0,10)	0.07 (0.05-0.12)
PCR (mg/dl)	220 (168 - 279)	293 (170 - 347)

Tabela 1- Dados demográficos (n=63)

Episódios de hipoglicemia grave (< 40 mg/dl) foram observados em dois pacientes em cada grupo (6% no grupo controle e 7% no grupo intervenção), mas, realmente, houve apenas 4 episódios de hipoglicemia em todas as medidas durante as 72 horas, considerando os dois grupos (aproximadamente 100 medidas para ambos os grupos).

	Convencional	Intensivo	
Glicemia 0-24h (mg/dl)	153±39.6	126±35	p<.05
Glicemia 24-48h (mg/dl)	155±41	116±32.3	p<.05
Glicemia 48-72h (mg/dl)	165±34.6	108±15	p<.05
Insulina 0-24h (UI/d)	24.5±63.5	93±92	p<.05
Insulina 24-48h (UI/d)	30±49.2	126.8±175	p<.05
Insulina 48-72h (UI/d)	29.8±42.1	103±99.3	p<.05
Necessidade de Hemodiálise (n;%)	9;25	7;25	NS
Hipoglicemia grave (n;%)	2;6	2;7	NS
Mortalidade em 28 dias (n;%)	10; 28	5;18	NS

Tabela 2- Dados clínicos pós randomização. Resultados expressos em Média e Desvio-padrão ou em n e percentil, quando indicado.

	Convencional	Intensivo
Noradrenalina		
mcg/d 0-24 h *	5233	8060
mcg/d 24-48 h *	3098	2887
mcg/d 48-72 h *	0	0
Dose máxima 0-24 h \$	193743	83969
Dose máxima 24-48 h \$	186224	64361
Dose máxima 48-72 h \$	120179	53894
Dobutamina		
mcg/d 0-24 h *	0	0
mcg/d 24-48 h *	0	0
mcg/d 48-72 h *	0	0
Dose máxima 0-24 h \$	462000	464000
Dose máxima 24-48 h \$	942000	936000
Dose máxima 48-72 h \$	1698000	1616000
Dopamina		
mcg/d 0-24 h *	0	0
mcg/d 24-48 h *	0	0
mcg/d 48-72 h *	0	0
Dose máxima 0-24 h \$	231000	0
Dose máxima 24-48 h \$	215000	597000
Dose máxima 48-72 h \$	34000	75000

Tabela 3- Necessidade de drogas vasoativas durante o período do estudo

nos dois grupos, entre os pacientes que apresentaram choque séptico.

* **Resultados expressos como medianas.**

\$ **Resultados expressos em mcg/dia.**

Total calórico

Figura 3. Total de calorias recebidas, calorias por via enteral e por via parenteral nos grupos randomizados. Não houve diferença estatística para total de calorias, total de calorias enteral e total de calorias parenteral entre os grupos. As quantidades calóricas total e enteral foram crescentes ao longo do estudo para ambos os grupos.

	Convencional	Intensivo
Total de calorias 0-24 h *	561 (353-786)	675(384-934)
Total de calorias 24-48 h *	712 (520-1082)	1054 (575-1340)
Total de calorias 48-72 h *	989 (497-1413)	1049 (747-1560)
Total de calorias por via enteral 0-24 h *	0 (0-361)	0 (0-290)
Total de calorias por via enteral 24-48 h *	154 (0-720)	500 (0-957)
Total de calorias por via enteral 48-72 h *	537(0-1156)	759 (36-1251)
Total de calorias fornecidos como glicose intravenosa 0-24 h *	386 (314-529)	417 (253-683)
Total de calorias fornecidos como glicose intravenosa 24-48 h *	347 (257-644)	510 (253-683)
Total de calorias fornecidos como glicose intravenosa 48-72 h *	347 (107-429)	340 (170-507)

Tabela 4- Quantidade calórica ofertada para os grupos randomizados.* resultados expressos em medianas e interquartis.

Esses resultados são mais elevados quando comparados a literatura especializada, porém deve-se levar em conta que o número de doentes exíguo pode ter elevado as taxas absolutas de hipoglicemia. Se considerarmos apenas o número de episódios dentre todas as aferições teremos taxas mais adequadas. Não foi observada nenhuma complicação grave decorrentes destes episódios de hipoglicemia grave como alterações neurológicas ou cardiovasculares, ainda que por curto espaço de tempo. Não houve diferenças estatísticas entre os grupos controle e intervenção com relação à necessidade de métodos de substituição renal (25% vs. 25%) muito menos para taxas de mortalidade em 28 dias (Cinco dos 28 pacientes no grupo intervenção e 10 dos 35 pacientes no grupo controle (**Tabela 2**).

As concentrações plasmáticas de colesterol total não se modificaram significativamente durante as primeiras 72 horas de tratamento da sepse grave ou do choque séptico em nenhum dos grupos randomizados. Concentrações séricas de

triglicerídeos também permaneceram estáveis, ainda que elevados ao longo das mesmas 72 horas em ambos os grupos (**Tabela 5 e figura 4**).

Em contrapartida, as concentrações plasmáticas de HDL permaneceram excessivamente baixas ao longo das 72 horas, porém não mostraram diferenças estatísticas entre os grupos nem um padrão de recuperação ao longo do tempo (**figura 5**).

Figura 4. Níveis de colesterol total e triglicérides nos grupos randomizados. Não houve diferença estatística ao longo do tempo de estudo e nem entre os grupos.

Foram usados teste de Friedmann, considerando p significativo $< .0125$ e Mann Whitney U-test.

	Convencional	Intensivo	
Colesterol total baseline (mg/dl)	88(66-108)	95(74-126)	NS
Colesterol total 24 h (mg/dl)	77(53-104)	97(72-115)	NS
Colesterol total 48 h (mg/dl)	86(64-113)	97(78-118)	NS
Colesterol total 72 h (mg/dl)	96(70-124)	105(93-123)	NS
Triglicérides baseline (mg/dl)	115(81-205)	153(96-226)	NS
Triglicérides 24h (mg/dl)	120(80-161)	117(91-172)	NS
Triglicérides 48h (mg/dl)	137(104-157)	110(76-163)	NS
Triglicérides 72h (mg/dl)	114(84-160)	108(90-174)	NS

Tabela 5- Concentrações plasmáticas de colesterol total e triglicérides ao longo dos tempos do estudo. Resultados expressos sob forma de mediana e intervalos interquartis.

As concentrações plasmáticas de LDL iniciaram-se em valores baixos, porém houve um aumento significativo destes valores ao longo das 72 horas, sendo estatisticamente considerados maiores que os valores da admissão a partir de 48 horas da inclusão no protocolo ($p < .0125$). Essa recuperação teve comportamento estatisticamente idêntico em todos os pacientes independente do grupo ao qual fora alocado na randomização (**Tabela 6 e figura 5**).

As concentrações plasmáticas de Ox-LDL tenderam a aumentar ao longo do tempo em ambos os grupos, mas não atingiram diferença estatisticamente significativa em nenhum dos períodos. Esse comportamento foi consistente da mesma maneira em ambos os grupos (**Tabela 6 e figura 5**). Neste caso, a análise foi feita com apenas 20 doentes dos 63 inicialmente recrutados, pois estes 20

doentes possuíam medidas de todos os períodos, os demais apresentaram perdas significativas e por esse motivo foram descartados para análise estatística.

As concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres diminuíram significativamente nos dois grupos de maneira similar, ao longo do tempo ($p < .0125$). Porém, houve uma interrupção da queda das concentrações séricas de ácidos graxos livres no último tempo coletado no grupo controle proporcionando um comportamento diferente do grupo intervenção que manteve a queda dos valores de ácidos graxos livres até o último período. Nas medidas dosadas do tempo 72 horas houve diferença significativa estatisticamente entre concentrações séricas de ácidos graxos livres do grupo controle com relação ao grupo intervenção ($p < .05$) (**Tabela 6 e figura 5**). Aqui também vale a ressalva que, da mesma forma que os dados analisados para Ox LDL, também tivemos perdas significativas das dosagens de ácidos graxos livres e foram, portanto analisados apenas 20 doentes que mantinham todas as medidas corretamente coletadas em todos os tempos do estudo. Houve uma fraca correlação negativa entre o LDL e o PCR quando considerados todas as medidas de LDL e de PCR de todos os pacientes e de todos os tempos (**figura 6**).

	Convencional	Intensivo	
HDL baseline (mg/dl)	17(11-26)	18(14-23)	NS
HDL 24h (mg/dl)	13(9-22)	17(12-21)	NS
HDL 48h (mg/dl)	12(8-18)	16(11-22)	NS
HDL 72h (mg/dl)	16(10-25)	17(11-20)	NS
LDL baseline (mg/dl)	38(20-46)	36(28-50)	NS
LDL 24h (mg/dl)	35(21-50)	44(27-61)	NS
LDL 48h (mg/dl)	43(28-59)	42(36-64)	NS
LDL 72h (mg/dl)	54(33-72)	62(47-71)	NS
Ácidos graxos livres baseline (µMmol/l)	0.08(0.05-0.09)	0.07(0.06-0.11)	NS
Ácidos graxos livres 24h (µMmol/l)	0.06(0.03-0.07)	0.04(0.03-0.05)	NS
Ácidos graxos livres 48h (µMmol/l)	0.05(0.03-0.06)	0.03(0.03-0.04)	NS
Ácidos graxos livres 72h (µMmol/l)	0.05(0.04-0.07)	0.02(0.02-0.03)	P< .05
Ox- LDL baseline (mg/dl)	13(7-20)	21(13-26)	NS
Ox- LDL 24h (mg/dl)	19(14-25)	19(16-27)	NS
Ox- LDL 48h (mg/dl)	15(14-18)	23(17-29)	NS
Ox- LDL 72h (mg/dl)	18(13-23)	24(20-28)	NS

Tabela 6- Concentrações plasmáticas de HDL, LDL, ácidos graxos livres e ox-LDL ao longo dos tempos do estudo. Resultados expressos em mediana e intervalos interquartis. Para comparação foi utilizado Mann-Whitney U test.

Figura 5. Evolução das frações LDL e HDL do colesterol total, dos ácidos graxos livres e da fração oxidada do LDL durante as primeiras 72 horas do início do quadro clínico. Em **A**, podemos perceber o aumento progressivo das concentrações plasmáticas de LDL ao longo do período de estudo, tornando-se estatisticamente significativo a partir de 48 horas com relação ao basal (* $p < .0125$). Não houve diferenças entre os grupos. Em **B**, as concentrações plasmáticas de HDL persistem baixas ao longo do período de estudo. Sem diferenças estatísticas ao longo do tempo e entre grupos. Em **C**, as concentrações plasmáticas de ácidos graxos decaem progressivamente ao longo do tempo, em ambos os grupos, tornando-se estatisticamente diferentes a partir de 24 h (* $p < .0125$), porém no último período estudado, houve uma tendência a elevação das concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres no grupo de tratamento convencional da glicemia, enquanto persistiu a queda nestes valores no grupo de tratamento intensivo, apresentando diferença

estatística entre os grupos (# $p < .05$). Em **D**, as concentrações plasmáticas de ox-LDL permanecem estáveis, sem diferenças estatísticas ao longo do tempo e entre grupos. Foram usados teste de Friedmann para comparação ao longo do tempo e Mann-Whitney U test para comparação entre grupos.

Figura 6. Correlação entre concentrações plasmáticas de LDL e PCR para todos os pacientes, independente de grupo ou gravidade.

4.2. Resultados do subgrupo de sobreviventes em comparação aos doentes que evoluíram a óbito

Na análise de subgrupos, levando em consideração sobreviventes e não sobreviventes, percebemos uma necessidade crescente de insulina exógena em ambos os grupos ao longo do tempo de estudo, aparentemente menor no grupo de

sobreviventes para manter valores glicêmicos semelhantes aos dos não sobreviventes, porém sem significância estatística (**Figura 7**).

Figura 7. Comparação do uso de insulina exógena e glicemia capilar entre pacientes que sobreviveram e pacientes que evoluíram a óbito. Concentrações plasmáticas de insulina exógena foram crescentes ao longo do tempo nos pacientes que evoluíram a óbito.

Para os demais dados laboratoriais não houve alterações significativas estatisticamente entre os grupos. As concentrações plasmáticas do HDL e do LDL foram similares em ambos os grupos com aumento progressivo das concentrações de LDL, tanto para sobreviventes como para não sobreviventes, estatisticamente significantes, a partir de 48 horas (**figura 8**). As concentrações plasmáticas de ox-LDL (**figura 9**) foram similares entre sobreviventes e não sobreviventes até 24 horas

após o início do estudo, após esse período o número de não sobreviventes com esse dado coletado foi tão pequeno que não permite avaliação mais rigorosa. Pelo mesmo motivo, não analisamos os ácidos graxos livres entre não sobreviventes e sobreviventes. Os dados coletados foram em número pequeno desde a primeira coleta. As concentrações plasmáticas da PCR também mostraram evolução similar ao longo do tempo entre sobreviventes e não sobreviventes, sendo estatisticamente menores a partir de 72 horas quando comparadas aos valores de basais e de 24 horas, para os dois grupos (**figura 10**).

Figura 8. Evolução das concentrações plasmáticas de HDL e LDL nos pacientes que evoluíram a óbito e nos pacientes que sobreviveram. Enquanto o HDL permanece estável em valores bem abaixo da normalidade, o LDL já mostra uma recuperação dos seus valores. Em ambos os grupos os valores em 48 e 72 horas são significativamente superiores aos basais. * $p < .0125$.

Figura 9. Evolução das concentrações plasmáticas de ox-LDL nos pacientes que sobreviveram e nos pacientes que evoluíram a óbito

Figura 10. Evolução das concentrações plasmáticas de PCR nos pacientes que sobreviveram e nos pacientes que evoluíram a óbito (* $p < .0125$ em relação aos valores do basais, para ambos os grupos)

5. Discussão

No presente estudo, houve a evidente caracterização de um distúrbio no perfil lipídico em todos os pacientes com sepse grave ou choque séptico. Independente do grupo. Todos os pacientes apresentaram redução das concentrações plasmáticas de colesterol total, HDL e LDL, enquanto ocorreu elevação da concentração plasmática de triglicerídeos, ácidos graxos livres e Ox-LDL. O acompanhamento temporal mostrou a recuperação parcial das concentrações séricas de LDL após 48 horas do início do estudo e uma queda significativa dos valores séricos de ácidos graxos livres a partir de 24 horas da inclusão no estudo. Não encontramos, porém nenhum benefício clínico relevante com relação a desfechos para o grupo com controle glicêmico mais rigoroso em relação ao grupo controle.

Mudanças significativas na concentração e na composição dos lipídios e das lipoproteínas plasmáticas foram já descritos em infecção, doenças inflamatórias, doenças críticas ³⁵⁻³⁹ e em pacientes com diagnóstico de choque séptico ⁴⁰. Nestes pacientes ocorre uma resposta inflamatória induzida por citocinas que é responsável pelo aumento da síntese hepática de lipoproteínas ricas em triglicerídeos, efeito também conhecido como “lipemia da sepse” ⁴¹, e por uma redução nos valores séricos de colesterol total, especialmente do HDL, que está relacionado à gravidade da doença, letalidade e susceptibilidade a infecções ⁴². Além disso, a atividade do complexo enzimático das paraoxonases, enzimas associadas ao HDL, e da lecitina carnitina acil transferase estão alteradas no endotélio vascular ⁴³. A incorporação da proteína de fase aguda, amilóide sérica A nas partículas de HDL durante a resposta inflamatória pode corromper enzimas protetoras, produzindo uma partícula com

propriedades pró-inflamatórias⁴⁴. Estas modificações na concentração e na composição das lipoproteínas podem redefinir a função destas partículas e modificar suas propriedades classicamente anti-inflamatórias⁴⁰.

Em estudo em modelo animal de sepse⁴⁵, as concentrações do fator de necrose tumoral α e da interleucina 6 estavam reduzidas em um grupo com lipopolissacárides e clamp hiperinsulinêmico-euglicêmico comparado a um grupo só com lipopolissacárides. No grupo lipopolissacárides e clamp hiperinsulinêmico-euglicêmico, a resposta de glucagon estava diminuída comparada ao grupo só com lipopolissacárides. Concentrações séricas de ácidos graxos livres diminuíram em animais expostos ao clamp hiperinsulinêmico-euglicêmico. A função de neutrófilos foi prejudicada após administração de lipopolissacárides. Os autores concluíram que os achados fortemente apóiam o papel da insulina como hormônio anti-inflamatório e o questionamento exposto no estudo foi se a via para esse efeito anti-inflamatório da insulina seria através da diminuição da concentração de ácidos graxos livres. Nos resultados deste presente estudo, pudemos observar que apesar do maior uso de insulina no grupo intervenção, o principal marcador biológico de inflamação, a PCR, foi similar nos dois grupos. Considerando-se todos os períodos de coleta, pudemos observar apenas uma fraca correlação entre a PCR e o LDL. Taxas de lipólise tecidual estão aumentadas em doentes críticos, aumentando assim o suprimento sistêmico de ácidos graxos livres. Este aumento na disponibilidade de ácidos graxos livres é provavelmente mediado por vários fatores, incluindo elevações de hormônios contra-reguladores e do fator de necrose tumoral α . Fator de necrose tumoral α e interleucina-1 também promovem a lipogênese de novo no fígado e podem ser responsáveis pela dificuldade de remoção de triglicerídeos nos tecidos periféricos. Estes efeitos combinados contribuem para hipertrigliceridemia geralmente vista nos

estados sépticos. Alguns estudos demonstram que lipoproteínas ricas em triglicerídeos se ligam e inativam endotoxinas. No presente estudo, fomos realmente capazes de identificar concentrações séricas mais elevadas de triglicérides e ácidos graxos livres em todos os pacientes, independentemente de estarem alocados no grupo intervenção ou no grupo controle. Contudo, ao longo do tempo observa-se uma queda da concentração sérica de ácidos graxos livres em ambos os grupos estudados, correlacionando-se com a melhora clínica e não à terapêutica. Entretanto, apesar da queda inicial observada em ambos os grupos, no período de estudo compreendido entre 48 e 72 horas, a concentração de ácidos graxos livres no grupo de controle glicêmico convencional apresentou valores mais elevados quando comparada aos valores encontrados no grupo de controle glicêmico intensivo. Curiosamente, também permaneceram com elevação da concentração sérica de ácidos graxos livres os doentes que mantiveram glicemias mais elevadas. Não pudemos identificar uma clara razão para este comportamento diferente do grupo intervenção que manteve a queda dos valores em todos os períodos.

A variabilidade da secreção de insulina é grande. Nos primeiros momentos, a secreção endógena de insulina ocorre com valores, na média, mais próximos aos valores normais. Após alguns dias, parece haver secreção de insulina de forma insuficiente para a normalização da glicemia, condição similar à do DM tipo 2. Esta redução na secreção de insulina pode manter a hiperglicemia e dificultar a capacidade de normalizar as quantidades séricas de ácidos graxos. Neste período parece haver um benefício metabólico no grupo intensivo. Este resultado está em consonância com o estudo realizado com pacientes clínicos que mostrava melhores desfechos clínicos apenas para os doentes que permaneceram por mais de três dias na UTI sob controle glicêmico intensivo. O ponto crucial pode ser o fato de

hiperinsulinemia em combinação com estados sépticos ser caracterizado por altas concentrações séricas de ácidos graxos livres. Em altos valores séricos, ácidos graxos livres contribuem para acidose metabólica e disfunção celular e orgânica. Resta esclarecer se baixar as concentrações séricas de ácidos graxos livres contribui em algum grau para possíveis efeitos benéficos do controle glicêmico rigoroso adotado em doentes cirúrgicos internados em unidade de terapia intensiva. Ácidos graxos livres são tóxicos para o miocárdio isquêmico e pode levar a danos na membrana celular das células cardíacas, sobrecarga de cálcio e arritmias, particularmente no caso de deficiência de insulina ⁴⁶. A habilidade da insulina em diminuir as concentrações catabólicas do glucagon pode também ser parte do efeito antiinflamatório da insulina porque as concentrações plasmáticas de glucagon estão normalmente aumentadas durante a sepse ⁴⁷.

O papel exato dos triglicerídeos circulantes durante a doença crítica parece ser ambíguo. Por um lado, concentrações séricas elevadas de triglicerídeos tem sido associados à gravidade da doença crítica ⁴⁸, enquanto, por outro lado, lipoproteínas ricas em triglicerídeos, (VLDL e quilomícrons) foram associados a endotoxinas, alterando o processamento de LPS e evitando morte celular em modelo experimental animal ^{49,50}.

A despeito da importância destas lipoproteínas para o transporte dos componentes lipídicos (colesterol, triglicerídeos, fosfolipídios, vitaminas lipossolúveis), surgiram relatos nos últimos anos mostrando que lipoproteínas podem exercer um papel significativo na ligação e no processamento de endotoxinas ^{51, 49}. Assim, baixos valores de LDL e HDL podem resultar em um defeito no clareamento da endotoxina da circulação. No presente estudo, as concentrações séricas persistiram baixas ao longo das 72 horas do protocolo. Em contrapartida,

concentrações séricas de LDL apresentaram uma expressiva recuperação a partir das primeiras 48 horas do início do protocolo. Parece que as concentrações séricas de LDL tendem a recuperar mais rapidamente, provavelmente porque o sequestro do LDL subendotelial possivelmente termine antes da reversão do estado catabólico do LDL responsável pelo consumo do HDL. Na literatura, no único estudo que avaliou tal recuperação de lipoproteínas ao longo do estado séptico, as concentrações séricas também se recuperaram, porém o estudo coletou dados até o oitavo dia pós início do protocolo de atendimento.

Na comparação entre os pacientes que evoluíram para óbito (n=15) com os doentes que receberam alta hospitalar (n=48), a aparente necessidade maior de insulina exógena no grupo de pacientes que não sobreviveram ao quadro séptico, não foi justificável por aumento compatível na PCR, utilizada como importante marcador inflamatório. De modo semelhante, não houve nenhuma outra alteração laboratorial testada que se apresentou de maneira diferente neste grupo especificamente quando comparados aos resultados encontrados no grupo de sobreviventes. Como a amostra no geral foi considerada pequena, o número de óbitos foi igualmente muito pequeno para determinar um padrão sólido de comportamento. Assim, qualquer resultado deve ser considerado com muita cautela e atenção.

5.1. Implementação de um protocolo de controle glicêmico e segurança em unidade de terapia intensiva de um hospital universitário de São Paulo

Pudemos instituir o protocolo de controle glicêmico para manter valores normoglicêmicos com sucesso após três meses de treinamento com taxas de hipoglicemia grave, comparáveis à literatura disponível para controle glicêmico em doentes críticos não cirúrgicos.

5.2. Limitações do estudo

Como limitação do estudo, coletamos dados apenas até 72 horas após a admissão na unidade de terapia intensiva. Este protocolo foi assim idealizado com base nos estudos preconizando intervenções precoces em pacientes com diagnóstico de sepse grave e choque séptico⁵² que fortemente tem sugerido melhorias nos desfechos clínicos dos pacientes submetidos às intervenções e monitorização nas primeiras seis horas do quadro.

O tamanho limitado da amostra não permite retirar nenhuma conclusão definitiva sobre a associação do controle glicêmico rigoroso com o comportamento do metabolismo lipídico entre os pacientes sépticos. Além do tamanho exíguo da amostra, especificamente para ácidos graxos livres e Ox-LDL, não foi possível analisar todos os dados dos pacientes recrutados por perda significativa de dados.

6. Conclusões

Todos os pacientes sépticos recrutados apresentaram grandes e importantes alterações no metabolismo de lipídios e lipoproteínas durante as primeiras 72 horas após a admissão em unidade de terapia intensiva. Colesterol total e HDL mantiveram-se em valores baixos enquanto Ox- LDL e triglicerídeos permaneceram persistentemente com concentrações séricas elevadas. Estes dados foram similares nos dois grupos randomizados. As concentrações plasmáticas de LDL significativamente aumentaram ao longo das 72 horas estudadas nos dois grupos. E estas concentrações tiveram fraca correlação com as concentrações plasmáticas de PCR. Concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres diminuíram significativamente no mesmo período. O grupo com controle glicêmico mais rigoroso (grupo intervenção) apresentou queda consistente nas concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres durante todos os períodos das primeiras 72 horas. Curiosamente, após 48 horas, as concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres deixaram de diminuir e mesmo tenderam a aumentar no grupo controle.

A evolução das concentrações plasmáticas de HDL, LDL, ox-LDL e PCR obedeceram o mesmo padrão quando foram analisados os subgrupos de sobreviventes e não sobreviventes.

Apesar das limitações do protocolo de estudo mencionadas acima, os resultados sugerem uma possível relação entre controle glicêmico rigoroso e recuperação das concentrações séricas de LDL e manutenção das concentrações séricas mais baixas de ácidos graxos livres por todo o período estudado. A evolução das concentrações plasmáticas das lipoproteínas não foi diferente entre sobreviventes e não sobreviventes, mesmo com a tendência ao maior uso de

insulina exógena entre os não sobreviventes, sugerindo que a insulina, com seu teórico papel antiinflamatório, tenha pouco ou nenhum efeito sobre o comportamento das lipoproteínas em estados inflamatórios como a sepse.

Sugerimos mais estudos prospectivos, com maior poder, desenhados para investigar melhor o comportamento das concentrações séricas de ácidos graxos livres e do Ox-LDL nos pacientes sépticos que procurem uma possível explicação que justifique a melhora no perfil lipídico após as horas iniciais do tratamento da sepse grave e do choque séptico e que tente correlacionar de uma melhor maneira com outros desfechos clínicos importantes.

7. Referências

1. Friedman G, Silva E, Vincent JL. Has the mortality of septic shock changed with time. *Crit Care Med* 1998; 26:2078-86.
2. Vincent JL. Update on sepsis: pathophysiology and treatment. *Acta Clin Belg* 2000; 55:79-87.
3. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, et al. Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. A multicenter prospective study in intensive care units. French ICU Group for Severe Sepsis. *Jama* 1995; 274:968-74.
4. Abraham E, Matthay MA, Dinarello CA, et al. Consensus conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury, and acute respiratory distress syndrome: time for a reevaluation. *Crit Care Med* 2000; 28:232-5.
5. Mesotten D, Swinnen JV, Vanderhoydonc F, Wouters P, Van den Berghe G. Contribution of circulating Lipids to the Improved Outcome of Critical Illness by Glycemic Control with Intensive Insulin Therapy. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004; 89(1):219-226.
6. Van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, Verwaest C, Bruyninckx F, Schetz M, Vlasselaers D, Ferdinande P, Lauwers P, Bouillon R. Intensive insulin therapy in critically ill patients. 2001 *N Engl J Med* 345:1359-1367.
7. Van den Berghe G, Wilmer A, Hermans G, Meersseman W, Wouters PJ, Milants I, Van Wijngaerden E, Bobbaers H, Bouillon R. Intensive insulin therapy in the medical ICU. *N Engl J Med*. 2006 Feb 2; 354(5):449-61.
8. NICE-SUGAR Study Investigators, Finfer S, Chittock DR, Su SY, Blair D, Foster D, Dhingra V, Bellomo R, Cook D, Dodek P, Henderson WR, Hébert PC, Heritier S, Heyland DK, McArthur C, McDonald E, Mitchell I, Myburgh JA, Norton R, Potter J, Robinson BG, Ronco JJ. Intensive versus conventional glucose control in critically ill patients. *N Engl J Med*. 2009 Mar 26; 360(13):1283-97.
9. Hermanides,J; Vriesendorp, TM; Bosman,RJ; Zandstra,DF; Hoekstra,JB; DeVries. Glucose variability is associated with intensive care unit mortality. *Crit Care Med* 2010; 38:838–842

10. Gordon BR, Parker TS, Levine DM, Saal SD, Wang JC, Sloan BJ, Barie OS, Rubin AL. 1996 Low lipid concentrations in critical illness: implications for preventing and treating endotoxemia. *Crit Care Med* 24:584-589.
11. Feingolg KR, Krauss RM, Pang M, Doerrler W, Jensen P, Grunfeld C. 1993. The hypertriglyceridemia of acquired immunodeficiency syndrome is associated with an increased prevalence of low density lipoprotein subclass pattern. *Br J Clin Endocrinol Metab* 76:1423-1427.
12. Carpentier YA, Scruel O 2002. Changes in the concentration and composition of plasma lipoproteins during the acute phase response. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 5:153-158.
13. Navab M, Berliner JA, Subbanagounder G, Hama S, Lusis AJ, Castellani LW, Reddy S, Shih D, Shi W, Watson AD, Van Lenten BJ, Vora D, Fogelman AM. HDL and the inflammatory response induced by LDL-derived oxidized phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001 Apr;21(4):481-8.
14. Thomas JP, Kalyanaraman B, Girotti AW. Involvement of preexisting lipid hydroperoxides in Cu (21)-stimulated oxidation of low-density lipoprotein. *Arch Biochem Biophys.* 1994; 315:244–254.
15. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, Navab M. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase: inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest.* 1995; 96:2882–2891.
16. Navab M, Hama SY, Cooke CJ, Anantharamaiah GM, Chaddha M, Jin L, Subbanagounder G, Faull KF, Reddy ST, Miller NE, Fogelman AM. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: step 1. *J Lipid Res.* 2000;41: 1481–1494.
17. Navab M, Hama SY, Anantharamaiah GM, Hassan K, Hough GP, Watson AD, Reddy ST, Sevanian A, Fonarow GC, Fogelman AM. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: steps 2 and 3. *J Lipid Res.* 2000; 41:1495–1508.
18. Fei H, Berliner JA, Parhami F, Drake TA. Regulation of endothelial cell tissue factor expression by minimally oxidized LDL and lipopolysaccharide. *Arterioscler Thromb.* 1993 Nov;13(11):1711-7.

19. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 1340:115–126.
20. Steinberg D, Lewis A. Conner Memorial Lecture: oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation.* 1997;95:1062–1071.
21. Norata GD, Tonti L, Roma P, Catapano AL. Apoptosis and proliferation of endothelial cells in early atherosclerotic lesions: possible role of oxidised LDL. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2002; 12:297–305.
22. Krieger M, Acton S, Ashkenas J, Pearson A, Penman M, Resnick D. Molecular flypaper, host defense, and atherosclerosis: structure, binding properties, and functions of macrophage scavenger receptors. *J Biol Chem.* 1993; 268:4569–4572.
23. Cominacini L, Pasini AF, Garbin U, Davoli A, Tosetti ML, Campagnola M, Rigioni A, Pastorino AM, Lo Cascio V, Sawamura T. Oxidized low-density lipoprotein binding to LOX-1 in endothelial cells induces the activation of NF- κ B through an increased production of intracellular reactive oxygen species. *J Biol Chem.* 2000; 275:633–638.
24. Cominacini L, Rigoni A, Pasini AF, Garbin U, Davoli A, Campagnola M, Pastorino AM, Lo Cascio V, Sawamura T. The binding of oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) to ox-LDL receptor-1 reduces the intracellular concentration of nitric oxide in endothelial cells through an increased production of superoxide. *J Biol Chem.* 2001; 276:13750–13755.
25. Carantoni M, Abbasi F, Warmerdam F, Klebanov M, Wang PW, Chen YD, Azhar S, Reaven GM. Relationship between insulin resistance and partially oxidized LDL particles in healthy, nondiabetic volunteers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998 May; 18(5): 762-7.
26. Hatanaka E, Levada-Pires AC, Pithon-Curi TC, Curi R: Systematic study on ROS production induced by oleic, linoleic, and gamma-linolenic acids in human and rat neutrophils. *Free Radic Biol Med* 41(7):1124-1132, 2006.
27. Cury-Boaventura MF, Gorjao R, de Lima TM, Piva TM, Peres CM, Soriano FG, Curi R: Toxicity of a soybean oil emulsion on human lymphocytes and neutrophils. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 30(2):115-123, 2006.
28. Cury-Boaventura MF, Gorjao R, de Lima TM, Newsholme P, Curi R: Comparative toxicity of oleic and linoleic acid on human lymphocytes. *Life Sci* 78(13):1448-1456, 2006.

29. Lopes LR, Laurindo FR, Mancini-Filho J, Curi R, Sannomiya P: NADPHoxidase activity and lipid peroxidation in neutrophils from rats fed fat-rich diets. *Cell Biochem Funct* 17(1):57-64, 1999.
30. Felipe CR, Calder PC, Vecchia MG, Campos MR, Mancini-Filho J, Newsholme EA, Curi R: Fatty acid composition of lymphocytes and macrophages from rats fed fiber-rich diets: a comparison between oat bran- and wheat bran-enriched diets. *Lipids* 32(6):587-591, 1997.
31. Oliver MF, Opie LH: Effects of glucose and fatty acids on myocardial ischaemia and arrhythmias. *Lancet* 343(8890):155-158, 1994.
32. Paolisso G, Manzella D, Rizzo MR, Ragno E, Barbieri M, Varricchio G, Varricchio M: Elevated plasma fatty acid concentrations stimulate the cardiac autonomic nervous system in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 72(3):723-730, 2000.
33. Manzella D, Barbieri M, Rizzo MR, Ragno E, Passariello N, Gambardella A, Marfella R, Giugliano D, Paolisso G: Role of free fatty acids on cardiac autonomic nervous system in noninsulin-dependent diabetic patients: effects of metabolic control. *J Clin Endocrinol Metab* 86(6):2769-2774, 2001.
34. Gui D, Spada PL, De Gaetano A, Pacelli F 1996 Hypcholesterolemia and risk of death in critically ill surgical patients. *Intensive Care Med* 22:790-794.
35. Khovidhunkit W, Memon RA, Feingold KR, Grunfeld C: Infection and inflammation-induced proatherogenic changes of lipoproteins. *J Infect Dis* 181(Suppl 3):S462–S472, 2000.
36. Kaminska M, Badzio T, Ksiezopolska-Kaczorowska A, Bako W, Boj E, Przymanowski Z: High-molecular-weight lipoprotein concentrations in pneumonia in children. *Problem Med Wieku Rozwoj* 12:363–375, 1983.
37. Khosla SN, Goyle N, Seth RK: Lipid profile in enteric fever. *J Assoc Phys India* 39:260–262, 1991.
38. Sammalkorpi K, Valtonen V: Kerttula Y Nikkila E, Taskinen MR: Changes in serum lipoprotein pattern induced by acute infections. *Metabolism* 37:859– 865, 1988.
39. Alvarez C, Ramos A: Lipids, lipoproteins, and apoproteins in serum during infection. *Clin Chem* 32:142–145, 1986.
40. Van Leuwen HJ, Heezius EC, Dallinga GM, van Strijp JA, Verhoef J, van Kessel KP: Lipoprotein metabolism in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 31:1359–1366, 2003.

41. Gallin JI, Kaye D, O'Leary WM: Serum lipids in infection. *N Engl J Med* 281:1081–1086, 1969.
42. Gordon BR, Parker TS, Levine DM, Saal SD, Wang JC, Sloan BJ, Barie PS, Rubin AL: Relationship of hypolipidemia to cytokine concentrations and outcomes in critically ill surgical patients. *Crit Care Med* 29:1563–1568, 2001.
43. Navab M, Hama SY, Hough GP: High density associated enzymes: their role in vascular biology. *Curr Opin Lipidol* 9:449–456, 1998.
44. van Lenten BJ, Hama SY, de Beer FC: Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response. Loss of protective effect of HDL against LDL oxidation in aortic wall cell cocultures. *J Clin Invest* 96:2758–2767, 1995.
45. Brix-Christensen V, Andersen SK, Andersen R, Mengel A, Dyhr T, Andersen NT, Larsson A, Schmitz O, Ørskov H, Tønnesen E. Acute hyperinsulinemia restrains endotoxin-induced systemic inflammatory response: an experimental study in a porcine model. *Anesthesiology*. 2004 Apr;100(4):861-70.
46. Russell RO, Rogers WJ, Mantle JA, McDaniel HG, Rackley CE: Glucose insulin-potassium, free fatty acids and acute myocardial infarction in man. *Circulation* 1976; 53:207–9.
47. Lang CH, Dobrescu C, Bagby GJ: Tumor necrosis factor impairs insulin action on peripheral glucose disposal and hepatic glucose output. *Endocrinology* 1992; 130:43–52.
48. Lind L, Lithell H 1994 Impaired glucose and lipid metabolism seen in intensive care patients is related to severity of illness and survival. *Clin Intensive Care* 5:100–105
49. Harris HW, Grunfeld C, Feingold KR, Rapp JH 1990 Human very low density lipoproteins and chylomicrons can protect against endotoxin-induced death in mice. *J Clin Invest* 86:696–702
50. Harris HW, Grunfeld C, Feingold KR, Read TE, Kane JP, Jones AL, Eichbaum EB, Bland GF, Rapp JH 1993 Chylomicrons alter the fate of endotoxin, decreasing tumor necrosis factor release and preventing death. *J Clin Invest* 91:1028–1034
51. Van Lenten BJ, Fogelman AM, Haberland ME, Edwards PA 1986 The role of lipoproteins and receptor-mediated endocytosis in the transport of bacterial lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:2704–2708

52. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, Peterson E, Tomlanovich M; Early Goal-Directed Therapy Collaborative Group. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*. 2001 Nov 8; 345(19):1368-77.

ANEXO A- Protocolo do HU-USP para o controle glicêmico.

Incluiremos neste protocolo:

- Pacientes com quadro de sepse grave ou choque séptico com 2 medidas de glicemia de sangue arterial maior que 120 mg/dl
- Os pacientes, que preencham os critérios de inclusão, deverão estar recebendo alguma fonte de glicose(ex.: Soro Glicosado, Nutrição parenteral, nutrição enteral)
- Caso não esteja recebendo, alguma solução deverá ser iniciada.
- Caso ocorra suspensão de Nutrição enteral ou parenteral, independente do motivo, iniciar Soro glicosado 10% na infusão de 50 ml/hora.

Solução de insulina

Preparo: SF-----100 ml

Insulina Regular---100 UI

(diluição: 1 ml= 1UI de insulina)

Valor Alvo: 80-110 mg/dl

	Resultado (mg/dl)	Ação
A: Medida da admissão	>300	Iniciar a infusão em 6 UI/h. Seguir B.
	300-220	Iniciar a infusão em 4 UI/h. Seguir B.
	220-110	Iniciar a infusão em 2 UI/h. Seguir B.
	<110	Não iniciar a infusão, mas monitorar glicose de 4/4h e seguir A.
B: Medidas de 1-2 h	>140	Aumentar infusão em 2 UI/h
	140-120	Aumentar infusão em 1 UI/h
	120-110	Aumentar infusão em 0.5 UI/h. Seguir C.
C: Medidas a cada 1-2 h até estabilização da glicemia	Normal (80-110)	Mantenha a infusão e caso:
	Queda abrupta (20% do valor)	Diminua a infusão em 1 UI/h
D: Medidas a cada 4 horas	Estabilização da glicemia após 3 medidas consecutivas	Mantenha a infusão

	(80-110)	
	60-80	Diminuir a infusão pela metade e assegurar o aporte calórico
	40-60	Parar a infusão, assegurar o aporte calórico e checar glicemia em 1 hora
	<40	Parar a infusão, assegurar o aporte calórico, administrar 10 g de glicose (2 amp de g50%) IV e checar glicemia em 1 hora

Incluiremos neste protocolo:

- Pacientes com quadro de sepse grave ou choque séptico com 2 medidas de glicemia de sangue arterial maior que 240 mg/dl
- Os pacientes, que preencham os critérios de inclusão, deverão estar recebendo alguma fonte de glicose (ex.: Soro Glicosado, Nutrição paraneuteral, nutrição enteral)
- Caso não esteja recebendo, alguma solução deverá ser iniciada.
- Caso ocorra suspensão de Nutrição enteral ou parenteral, independente do motivo, iniciar Soro glicosado 10% na infusão de 50 ml/hora.

Solução de insulina

Preparo: SF-----100 ml
Insulina Regular-----100 UI

(diluição: 1 ml= 1UI de insulina)

Valor Alvo: 180-220 mg/dl

	Resultado (mg/dl)	Ação
A: Medida da admissão	>300	Iniciar a infusão em 6 UI/h. Seguir B.
	300-240	Iniciar a infusão em 4 UI/h. Seguir B.
	<240	Não iniciar a infusão, mas monitorar glicose de 4/4h e seguir A.
B: Medidas de 1-2 h	>240	Aumentar infusão em 2 UI/h
	240-220	Aumentar infusão em 1 UI/h
C: Medidas a cada 1-2 h até estabilização da glicemia	180-220	Mantenha a infusão e caso:
	Queda abrupta (20% do valor)	Diminua a infusão em 1 UI/h
	<180	Parar a infusão de insulina
D: Medidas a cada 4 horas	Estabilização da glicemia após 3 medidas consecutivas (180-220)	Mantenha a infusão

Adaptado de Clarian Health, Methodist. Riley, IU. Van den Berghe G. Intensive Insulin therapy in the critical ill patients. N Engl J Med 2001, 345:1359-1367