

ALTERAÇÕES FISIOPATOLÓGICAS DA DISFUNÇÃO MICROCIRCULATÓRIA NA SEPSE

Physiopathological Changes In Microcirculatory Dysfunction In Sepsis

Leonardo C. Boschini¹; Mário C. A. Perez²

Descritores: sepse; microcirculação

Keywords: sepsis; microcirculation

RESUMO

Introdução: A sepse é uma entidade clínica que apresenta uma curva de incidência ascendente, sendo definida como uma disfunção orgânica que ameaça a vida, causada por uma resposta desregulada e exacerbada do hospedeiro a um processo infeccioso. Durante a fase “hiperdinâmica” do choque séptico, apesar de haver variáveis hemodinâmicas sistêmicas relativamente adequadas, muitas vezes percebe-se a permanência de um déficit de extração de oxigênio pelos tecidos. Tal disfunção decorre principalmente de alterações na microcirculação. **Objetivo:** Compreender os principais mecanismos fisiopatológicos envolvidos no processo de disfunção microvascular da sepse e entender a relação destes com o desencadeamento da disfunção orgânica. **Métodos:** Foi realizada uma revisão da literatura acerca da temática, através de uma busca nas bases de dados PubMed, Google Scholar, LILACS e SciELO. Foram utilizados os seguintes descritores: sepse e microcirculação. A revisão contemplou os artigos publicados nos últimos 10 anos. **Resultados:** Dentre os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na disfunção microvascular da sepse encontrados durante a revisão, destacaram-se as alterações de diversos tipos celulares, incluindo células endoteliais, eritrócitos, neutrófilos e plaquetas. **Conclusão:** Diversos mecanismos fisiopatológicos citados no trabalho agem em consonância para que haja uma redução importante de capilares perfundidos. Ainda que haja outros mecanismos envolvidos na lesão celular, as evidências falam a favor de que o evento primário para a disfunção orgânica relacionada à sepse sejam os distúrbios da microcirculação.

Palavras-chave: sepse; microcirculação.

ABSTRACT

Background: Sepsis is a clinical entity with an ascending incidence curve. It is defined as a life-threatening organic dysfunction caused by an unregulated and exacerbated host response to infection. During the “hyperdynamic” phase of septic shock, despite the existence of relatively adequate systemic hemodynamic variables, a deficit of oxygen extraction by the tissues often remains. Such dysfunction is mainly due to changes in microcirculation. **Aims:** To understand the main pathophysiological mechanisms involved in the process of microvascular dysfunction in sepsis and to understand their relationship in triggering organ dysfunction. **Methods:** A literature review on the subject was carried out, through a search in the databases PubMed, Google Scholar, LILACS, and SciELO. The following descriptors were used: sepsis and microcirculation. The review included articles published in the last 10 years. **Results:** Among the pathophysiological mechanisms involved in the microvascular dysfunction of sepsis found, changes were highlighted from the point of view of several cell types, including endothelial cells, erythrocytes, neutrophils, and platelets. **Conclusions:** Several pathophysiological mechanisms mentioned in the work act in concert to induce an important reduction of perfused capillaries in sepsis. Although there are other mechanisms involved in cell damage, the evidence is in favor that the primary event for sepsis-related organ dysfunction is microcirculation disturbance.

1. Discente do Curso de Medicina do Centro Universitário Serra dos Órgãos – UNIFESO.
leonardocortaziboschini@hotmail.com
2. Professor Titular do Curso de Medicina do Centro Universitário Serra dos Órgãos – UNIFESO.

INTRODUÇÃO:

A sepse é atualmente definida como uma disfunção orgânica que ameaça a vida, causada por uma resposta desregulada e exacerbada do hospedeiro à infecção. O aumento da incidência do espectro de síndromes clínicas que envolvem a sepse e o choque séptico é uma realidade, o que acredita-se ser a expressão do envelhecimento populacional, alta prevalência de pacientes imunocomprometidos e de dispositivos médicos implantáveis, além de uma elevada taxa de resistência antimicrobiana. Sabe-se que, mesmo com os avanços da terapia intensiva, o choque séptico ainda representa uma importante causa de morbimortalidade.^{1,2}

As alterações hemodinâmicas observadas na sepse se dão de forma complexa. Inicialmente, ainda com a resistência vascular periférica (RVP) aumentada, ocorre uma redução do débito cardíaco às custas de um processo de depressão miocárdica e hipovolemia, esta última decorrente seja da redução do volume intravascular (hipovolemia absoluta), devida ao processo inflamatório sistêmico, desidratação e perdas insensíveis, ou de hipovolemia relativa, decorrente de vasodilatação. Este período inicial do choque séptico é conhecido como “hipodinâmico”. Já após a ressuscitação volêmica adequada, associada a um reflexo simpático, os pacientes tendem a evoluir para uma fase “hiperdinâmica”, em que os valores absolutos do débito cardíaco se encontram elevados, a despeito de uma redução da RVP. Esta fase reflete um aumento do cronotropismo e inotropismo, representando uma compensação hemodinâmica sistêmica.³

Entretanto, durante a fase “hiperdinâmica” do choque séptico, apesar de haver variáveis hemodinâmicas sistêmicas relativamente adequadas, podendo haver um débito cardíaco normal ou até mesmo elevado, muitas vezes percebe-se a permanência de um déficit de extração de oxigênio pelos tecidos. Tal distúrbio decorre principalmente de alterações na microcirculação. Assim, nesse contexto, observa-se uma aparente incoerência entre a macrocirculação e a microcirculação.^{3,4}

A microcirculação é composta por arteríolas, capilares, vênulas e microlinfáticos, funcionando como um sistema complexo responsável, entre outras funções, pela liberação local de oxigênio para atender às demandas teciduais. Os principais elementos celulares encontrados nesse sistema incluem as células endoteliais, revestindo a parte interna dos vasos, e as células musculares lisas, presentes especialmente nas arteríolas, além de eritrócitos, leucócitos e plaquetas.⁵

Na sepse, as células endoteliais exercem um importante papel na fisiopatologia dos distúrbios microcirculatórios, visto que, em seu estado normal, são responsáveis por regular o fluxo sanguíneo microvascular, além de inibir a inflamação e a coagulação. A desregulação desse complexo sistema contribui de maneira decisiva para a disfunção orgânica que caracteriza a sepse, justificativa por si só para que se busque uma melhor compreensão acerca da fisiopatologia dos

transtornos microcirculatórios observados na condição.^{5,6}

Ainda que haja a compreensão da importância de serem dedicados esforços para se restaurar a oferta de oxigênio dos pacientes em choque séptico, habitualmente realizada através da obtenção de parâmetros hemodinâmicos sistêmicos adequados, é certo que um dos principais determinantes de evolução para a disfunção orgânica é a oxigenação tecidual, não sendo a importante contribuição da microcirculação “enxergada” através da análise de parâmetros avaliativos da macrocirculação. Sendo assim, é de extrema importância a compreensão das disfunções microvasculares que alteram o fornecimento sistêmico de oxigênio durante a sepse, bem como suas repercussões celulares que culminam na instalação de disfunção orgânica.

OBJETIVOS:

Compreender os principais mecanismos fisiopatológicos envolvidos no processo de disfunção microvascular da sepse, relacionando-os com o desencadeamento da disfunção orgânica.

MÉTODOS:

Como estratégia de busca para a elaboração deste trabalho, foi realizada uma revisão da literatura acerca da temática, através de uma busca nas bases de dados, PubMed, Google Scholar, LILACS e SciELO. Foram utilizados os seguintes descritores: sepse e microcirculação. A revisão contemplou os artigos publicados nos últimos 10 anos. Os estudos foram analisados quanto ao seu título e *abstract*, sendo selecionados os artigos mais relevantes acerca do foco da pesquisa. Foram aceitos artigos publicados nos idiomas inglês e português. Como critérios de exclusão, tivemos artigos envolvendo simples relatos de caso e estudos incluindo indivíduos com idades inferiores a 18 anos, bem como artigos em que os dois descritores acima assinalados não representavam o foco central do trabalho.

Foram encontrados 461 artigos no PubMed, 152 artigos no Google Scholar, 14 artigos no LILACS e 10 artigos na SciELO. Após excluir 78 artigos duplicados, foi realizada a leitura de 559 títulos e resumos. Após descartar 11 artigos que não apresentavam resumos, 26 artigos também foram excluídos por não serem mostrados na íntegra. Em seguida, foram descartados 499 artigos pelo fato de não terem dado destaque aos aspectos fisiopatológicos da disfunção microcirculatória da sepse (apresentando como foco, por exemplo, medidas terapêuticas, medidas de avaliação da microcirculação ou alterações microcirculatórias decorrentes de patologias que não a sepse), bem como aqueles cujas alterações microcirculatórias citadas se restringiam a apenas um órgão e/ou sistema. No início dessa etapa, 23 artigos foram selecionados para uma leitura completa. No fim da mesma, 20 artigos foram finalmente selecionados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A microcirculação é composta por pequenos vasos (diâmetro inferior a 100 μm), englobando arteríolas, capilares, vênulas e microlinfáticos. Nestes locais, ocorre o processo de liberação do oxigênio presente no sangue para os tecidos. Este processo pode estar criticamente comprometido em pacientes com sepse devido a uma disfunção microvascular multifatorial.⁶⁻⁸ A reposta microcirculatória fisiológica relacionada à infecção envolve mecanismos de hiperpermeabilidade e adesão celular, bem como ativação da cascata de coagulação, que quando se tornam exacerbados podem acabar gerando severos danos teciduais.¹¹ Nos estágios iniciais do processo séptico, diversas citocinas inflamatórias acabam sendo liberadas na circulação.

O principal local onde os distúrbios de quase todos os elementos celulares presentes na circulação ocorre é a microcirculação.⁵ Dentre os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na disfunção microvascular da sepse constatados durante esta revisão, destacaram-se alterações de diversos tipos celulares, incluindo células endoteliais, eritrócitos, neutrófilos e plaquetas.

Endotélio:

1. Disfunção dos glicocálices endoteliais:

O glicocálice é um composto de proteoglicanos, glicosaminoglicanos e proteínas plasmáticas (como albumina e antitrombina), estando presente na superfície endotelial. Sua produção se dá pelas próprias células endoteliais, sendo posteriormente expresso em sua superfície. Este componente vascular desempenha um grande papel na homeostase, modulando interações entre leucócitos e endotélio, formações de trombos, além de regular a permeabilidade vascular.^{11,12} Ainda no período inicial da sepse, a estrutura do glicocálice já começa a ser danificada. A partir da ação de citocinas pró-inflamatórias, glucoronidases, como heparanases e espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*), bem como outras proteinases acabam promovendo um processo de interrupção dos glicocálices.¹² No estudo de Belousoviene et al.,¹³ a avaliação da microcirculação de pacientes com sepse demonstrou resultado positivo para a degradação destas estruturas, corroborando com os estudos de Colbert et al.¹¹ e Iba et al.¹²

Fisiologicamente, as moléculas de adesão, tal como as integrinas, acabam sendo ocultadas dentro do glicocálice. A desconexão dos glicocálices acaba permitindo a exposição de moléculas de adesão, como E-selectina e molécula de adesão intercelular-1. Desta forma, inicia-se o recrutamento de leucócitos e plaquetas, o que associado à formação de fibrina, devido a hiperativação da coagulação, resulta em disfunção circulatória.^{12,14} Os glicocálices agem em

consonância com o endotélio na manutenção da anticoagulação, pois enquanto impedem a adesão das plaquetas, há a liberação de NO (do inglês *nitric oxide*), prostaciclina, inibidor da via do fator tecidual e sulfato de heparan. Com a ativação excessiva das vias de coagulação associada à sepse, a disfunção do glicocálice contribui para a evolução com coagulação intravascular.

Enquanto Iba et al.¹² apresenta em seu estudo diversos fatores associados à modulação e/ou proteção do fluxo sanguíneo microvascular, Fernández-Sarmiento et al.¹⁴ aborda de forma mais específica e aprofundada a modulação do fluxo sanguíneo via transdução de estímulos mecânicos. Os glicocálices são elementos essenciais na mecanotransdução vascular, de modo que um fluxo viscoso, e por consequência, um maior estresse de cisalhamento, gera ativação dos mesmos. Tal processo cursa, dentre outros mecanismos, com ativação de vias de sinalização que culminam com aumento da produção de NO, dilatando assim os vasos, havendo menor aderência de leucócitos e plaquetas.^{12,14} O sulfato de heparina e o ácido hialurônico parecem desempenhar papel fundamental no processo de mecanotransdução vascular, sendo capazes de detectar forças de cisalhamento causadas pelo fluxo sanguíneo.¹⁴

Em seu estudo, Fernández-Sarmiento et al.¹⁴ aborda de forma contundente o papel dos glicocálices no controle da permeabilidade vascular. De forma complementar, Iba et al.¹² destaca a atual revisão dos conceitos relacionados à filtração vascular. O clássico princípio de Starling, que pressupõe que a filtração vascular é determinada por forças hidrostáticas e oncóticas opostas na luz vascular e no espaço intersticial, foi revisado, tendo em vista a descoberta de outros fatores importantes que a influenciam, como o glicocálice, proteínas juncionais e moléculas de adesão. No que diz respeito ao glicocálice, ele acaba funcionando como uma peneira eletronegativa, regulando assim, o deslocamento de fluido, possivelmente pela via transendotelial.¹² A porção mais superficial do glicocálice possui uma carga negativa relacionada aos glicosaminoglicanos, que a partir da interação com proteínas plasmáticas, como a albumina, de carga também negativa, promovem repulsão eletrostática, impedindo sua passagem para o terceiro espaço, prevenindo a formação de edema.¹⁴

A perda dos glicocálices permite uma exposição maior das células endoteliais ao estresse oxidativo, acarretando perda de junções aderentes, com consequente aumento da permeabilidade paracelular, o que causa edema tecidual que, por sua vez, aumenta a distância de difusão entre os capilares funcionais e as células teciduais. Além disso, há uma maior expressão de moléculas de adesão; logo, há uma maior chegada de leucócitos, propagando o processo inflamatório, bem como uma maior agregação de células e fatores pró-coagulantes, que contribuem para o processo de imunotrombose e, conseqüentemente, para o comprometimento do fluxo capilar.⁶

2. Disfunção óxido nítrico-dependente:

As células endoteliais são capazes de receber sinais metabólicos e físicos que expressam as alterações de oferta/demanda de nutrientes e oxigênio, por exemplo, e/ou visam impedir lesão endotelial. Um dos principais vasodilatadores produzidos pelas células endoteliais é o NO, que modula o fluxo sanguíneo microvascular através do tônus das células musculares lisas arteriolas.

O NO é produzido pelo grupo de enzimas NOS (do inglês *nitric oxide synthase*), que é composto por três isoenzimas, dentre as quais a iNOS (*inducible nitric oxide synthase*) e a eNOS (*endothelial nitric oxide synthase*). O tônus vasomotor é mantido por meio da atividade constitutiva contínua da eNOS (do inglês). Dessa forma, o NO se liga e ativa a guanilato ciclase, catalisando a desfosforilação do GTP em GMP cíclico (GMPC) que, por sua vez, promove o relaxamento da musculatura lisa vascular através de uma série de mecanismos, seja pela inibição da entrada de cálcio na célula, ativação de canais de potássio (acarretando em hiperpolarização) ou através de regulação positiva de quinases.^{6,15}

Durante a sepse, o sistema relacionado com o NO é afetado de forma importante, de modo que a enzima iNOS acaba sendo expressa de forma heterogênea nos diferentes leitos vasculares do corpo. Este processo acaba promovendo um *shunt* arteriovenoso microvascular patológico, havendo hipoperfusão de áreas com deficiência de iNOS, por serem menos vasodilatadas.⁶

Os autores Iba et al.¹², Charlton et al.¹⁵, Rossaint et al.¹⁶ e Sharawy et al.¹⁷ parecem ser unânimes no sentido de que a sepse cursa com disfunção no processo de vasodilatação dependente de NO. Entretanto, apresentam diferentes mecanismos para justificar tais alterações. A iNOS é ativada por várias citocinas e endotoxinas, através de um processo independente de cálcio, acarretando em quantidades exacerbadas de NO na circulação.¹⁵ A liberação de NO também parece ser regulada, pelo menos em parte, pelo glicocálice endotelial, reforçando o papel vasculoprotetor dessa estrutura.¹² A produção excessiva de ROS contribui para a inativação da eNOS, bem como para a expressão heterogênea de iNOS dentro da microvasculatura; logo, considera-se que há uma deficiência relativa de NO.^{16,17}

3. Alteração nas vias de transdução e de transmissão de informações:

Na sepse, há uma desregulação nas vias de transdução de sinal das células endoteliais, bem como perda da comunicação eletrofisiológica, endotélio-endotélio e controle sobre as células musculares lisas; sendo assim, a transmissão de informações da rede capilar para as arteríolas fica comprometida.¹⁶ Possivelmente, pelo excesso de produção de NO em determinados leitos microvasculares (através da iNOS), estes perdem sua sensibilidade adrenérgica e tônus, o que

contribui para a piora da perfusão tecidual.⁶ Entretanto, tais alterações são aparentemente reversíveis.¹⁶

Enquanto Miranda et al.⁶ e Rossaint et al.¹⁶ abordam disfunções transduccionais mais voltadas diretamente para a vasodilatação, Iba et al.¹² apresenta em seu estudo diversas vias transduccionais que poderiam ser prejudicadas. Algumas interações entre ligantes enzimáticos e os glicocálices são deveras importantes, visto que a transdução de sinal depende da presença destas estruturas endoteliais. É o caso de enzimas envolvidas com a modulação da coagulação, por exemplo a antitrombina, bem como enzimas que auxiliam na redução do estresse oxidativo, eliminando as ROS.¹²

4. Interface com o sistema de coagulação:

As células endoteliais formam uma interface com a inflamação. Frente a produtos bacterianos e/ou citocinas pró-inflamatórias, as células endoteliais são ativadas e expressam fator tecidual (FT) em sua superfície, liberando-o em parte de forma solúvel na circulação, onde pode se ligar e ativar o fator VII, resultando, através do fator X, na geração de trombina e fibrina. A coagulação é contra-regulada, principalmente, através da antitrombina, do sistema da proteína C e do inibidor da via do FT.²

A função fisiológica da antitrombina depende da presença dos glicosaminoglicanos presentes na parede dos vasos. Em seu estudo, Opal et al.² demonstra aspectos semelhantes aos que foram apontados nos estudos de Iba et al.¹² e Fernández-Sarmiento et al.¹⁴, uma vez que na sepse tais estruturas relacionadas aos glicocálices acabam sendo removidas e/ou destruídas, processo este mediado por citocinas pró-inflamatórias.^{2,12,14} Além disso, o inibidor da via do FT, que é o principal inibidor do complexo FT-fator VIIa, é predominantemente expresso por células endoteliais, estando em condições normais ligado ao endotélio através proteoglicanos; logo, também tem a sua importante ação anticoagulante endógena reduzida em razão da lesão ao glicocálice. Entretanto, também há uma menor produção de proteína C ativada pelo endotélio, que fisiologicamente é responsável por inativar proteoliticamente os cofatores de coagulação Va e VIIIa.² Logo, Opal et al.² acaba abordando também mecanismos que parecem não estar associados diretamente com os glicocálices.

De uma forma diferente dos autores anteriormente citados, Opal et al.² discute um mecanismo adicional no processo de adesão ao endotélio de plaquetas e outras células. Em condições fisiológicas, multímeros do fator de von Willebrand (FvW) se formam nas células endoteliais com o intuito de promover adesão celular diante de insultos endoteliais. Porém, dentro da homeostase normal, estes grandes multímeros são regulados por uma protease, a ADAMTS13

(do inglês *a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13*), processo este estimulado em circunstâncias de alta tensão de cisalhamento. Entretanto, na sepse ocorre uma deficiência relativa desta protease, resultando em níveis aumentados de multímeros grandes do FvW, que facilitam a adesão das plaquetas ao endotélio lesado.²

Eritrócitos:

As hemácias participam ativamente da modulação do fluxo microvascular e do fornecimento de oxigênio aos tecidos, visto que, em condições fisiológicas, gradientes locais aumentados de oxigênio promovem alterações conformacionais na hemoglobina que acabam facilitando a liberação de um derivado do NO, chamado de nitrosotiol, e ATP vasoativo, sinalizando, assim, a microvasculatura para se dilatar. Tanto o ATP quanto a conversão de nitrosotiol exerce efeito de vasodilatação, permitindo que um eritrócito que esteja passando por uma zona hipóxica seja capaz de induzir vasodilatação, e, por consequência, aumentar o fluxo sanguíneo microvascular para os tecidos. Entretanto, durante a sepse, tal processo se torna inadequado; além disso, ocorre perda da capacidade de deformação dessas células, o que culmina numa maior agregação celular microvascular, na vigência de um ambiente com expressão aumentada de fatores de adesão.^{6,16}

Na presença de hipóxia, normalmente há liberação de ATP pelos eritrócitos. Na sepse, contudo, parecem estar presentes mudanças biofísicas que interferem nas propriedades das membranas dos eritrócitos, que podem ser responsáveis pela redução da liberação de ATP, reduzindo ainda sua deformabilidade. Em verdade, as mudanças nas propriedades físicas não afetam apenas eritrócitos, atingindo também leucócitos e plaquetas. Todas essas células se tornam mais rígidas e menos deformáveis, o que facilita sua agregação no endotélio, em um processo imunotrombótico que aumenta a inflamação e liberação de ROS, bem como prejudica ainda mais a microcirculação, reduzindo a densidade capilar funcional.¹⁶ Todos estes mecanismos podem ser alterados na sepse por efeito direto do patógeno, através de enzimas e/ou ROS.¹⁸

Serroukh et al.¹⁸ destaca a quebra de um mito histórico no qual a função dos eritrócitos era subestimada, corroborando com os autores Miranda et al.⁶ e Rossaint et al.¹⁶. No passado, os eritrócitos eram considerados apenas um recipiente para a hemoglobina; entretanto, atualmente sabe-se que a membrana destas células exerce um papel fundamental na homeostase intravascular, especialmente na modulação da microcirculação.¹⁸

Plaquetas:

Fisiologicamente estas células anucleadas são responsáveis pelo processo de hemostasia primária, especialmente na formação do trombo branco. Entretanto, no quadro de sepse, a interação destas células com o sistema imune parece ser o mecanismo pelo qual há uma importante contribuição ao dano orgânico.¹⁹ A partir da lesão endotelial vascular, ocorre a adesão plaquetária e ativação destas células, que por sua vez, contribuem para perpetuar o processo de ativação endotelial.^{2,19} Uma vez ativadas, as plaquetas interagem com outros tipos celulares através da expressão de receptores de superfície celular (como CD40, CD154 e receptores *Toll-like*) e liberação de grânulos citoplasmáticos compostos de proteínas imunomoduladoras (como quimiocinas, proteínas adesivas e fatores de coagulação).¹⁹

Opal et al.² e Greco et al.¹⁹ reforçam a possível existência de uma alça de *feedback* positivo patológica e autossustentada em um processo denominado de imunotrombose. A ação das glicoproteínas plaquetárias IIb e IIIa aumenta a expressão do ligante CD40 na membrana plaquetária, de modo a ativar as células endoteliais, que por sua vez, expressam mais moléculas de adesão e FT. Além disso, a expressão de P-selectina na membrana plaquetária medeia a aderência das plaquetas aos leucócitos e células endoteliais, aumentando também a expressão de FT nos monócitos.² Em indivíduos com sepse, acaba havendo uma desregulação no processo de adesão plaqueta-endotélio e plaqueta-leucócitos e formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETS), que acabam contribuindo para a formação de trombos na microcirculação. Foi demonstrado que plaquetas saudáveis, quando incubadas em soro de paciente séptico, apresentam alterações pós-transcricionais que resultam em maior atividade pró-coagulante.¹⁹

Greco et al.¹⁹ também cita alterações plaquetárias quantitativas, e não apenas qualitativas como descrito por Opal et al.². A sepse é marcada também por um consumo exacerbado de plaquetas, de modo que a trombocitopenia parece ser um importante marcador prognóstico.¹⁹ Ao interagir com as plaquetas, os leucócitos acabam expressando mais receptores envolvidos no processo inflamatório e bactericida. Foi demonstrado, em animais e humanos com sepse, um menor número de complexos plaquetas-leucócitos, que por sua vez estão associados com o desenvolvimento de falência orgânica múltipla. Apesar de ainda não haver uma correlação clara, tal processo poderia estar relacionado com um consumo de plaquetas exacerbado na microcirculação.¹⁹

Neutrófilos:

Os neutrófilos, com o auxílio de outros tipos celulares, são capazes de desenvolver armadilhas extracelulares conhecidas pela sigla NET (do inglês *neutrophil extracellular traps*). Trata-se de estruturas complexas, semelhantes a teias de DNA, que apresentam atividade de

proteólise, auxiliando na captura de patógenos bem como facilitando sua eliminação. Tal processo tende a ocorrer especialmente na microcirculação.¹⁹ Os NETs amplificam a inflamação e coagulação intravascular. Sua ação pró-coagulante promove adesão, ativação e agregação de plaquetas, bem como ativação do sistema complemento. Facilita ainda a promoção da adesão de glóbulos vermelhos. Além disso, são capazes de mediar a morte de células endoteliais, o que ocorre provavelmente pela ação das proteases associada às armadilhas.²

A formação destas estruturas se inicia quando os neutrófilos promovem a ativação da enzima NADPH oxidase para produzir espécies reativas de oxigênio, o que em última análise determina a perda da densificação da cromatina. A cromatina é então liberada no citoplasma como um DAMP (do inglês *damage associated molecular patterns*) com o intuito de ativar ainda mais a resposta imune e formar as armadilhas extracelulares. Com a formação destas estruturas, em geral, ocorre a morte do neutrófilo. As armadilhas extracelulares dos neutrófilos promovem ativação endotelial por efeito sinérgico com IL-1 alfa e catepsina G, fazendo com que o endotélio libere mais fatores de adesão e fator tecidual, recrute mais células inflamatórias e promova trombose. Através da ativação de metaloproteinases de matriz do tipo 2, os NETs geram também disfunção endotelial.^{2,9,10} Opal et al.², Chen et al.⁹ e Østergaard et al.¹⁰ citam este mecanismo peculiar dos neutrófilos que, na tentativa de defender o organismo de uma ameaça, num contexto de sepse, pode acabar contribuindo para a lesão orgânica, o que é corroborado pelo estudo de Greco et al.¹⁹, que aponta que níveis aumentados destes biomarcadores estão associados com disfunção orgânica múltipla.¹⁹

Miranda et al.⁶ destaca que, além de produzirem NETs, alterações físicas nos neutrófilos parecem estar envolvidas no processo de disfunção microvascular, semelhante ao que Rossaint et al.¹⁶ discute em relação aos eritrócitos. Em um ambiente séptico, os neutrófilos ativados também perdem sua capacidade de se deformar, aumentando a agregação celular no leito microvascular.⁶ Ao serem ativadas por lipopolissacarídeos de bactérias gram-negativas (endotoxina), por exemplo, as plaquetas são ativadas de modo a atrair neutrófilos, que por sua vez interagem com as plaquetas circulantes para formar agregados, além de liberarem NETs. Os neutrófilos e mieloperoxidases ainda se aderem a estas armadilhas. Desta forma, sob ação do FT, os NETs formam trombos juntamente com as hemácias e plaquetas, destruindo as células endoteliais vasculares.¹⁰

Østergaard et al.¹⁰ demonstra ainda que, aparentemente, o endotélio não é o único tecido a possuir uma interface mediadora no processo de coagulação, como cita Opal et al.². Os NETs são capazes de ativar diversas vias diferentes do complemento, auxiliando ainda mais na formação do trombo, bem como na perpetuação da ativação de neutrófilos. Uma vez ativados, os fatores do complemento C5a e C3b ativam mais neutrófilos e se ligam a receptores C3R e C5aR na superfície

dos mesmos, acarretando maior liberação de NETs, amplificando assim a resposta inflamatória e imunotrombótica que culmina com a oclusão de diversos leitos microvasculares.¹⁰

Desfecho microvascular:

Apesar de a oferta global de oxigênio ser aumentada durante a sepse, diversos leitos capilares acabam não recebendo suprimento sanguíneo suficiente devido à lesão endotelial microvascular. A associação de um fluxo sanguíneo alterado com o fornecimento de oxigênio prejudicado acaba resultando em falência de múltiplos órgãos.^{10,12}

O estado da perfusão tecidual depende essencialmente de dois conceitos principais. O primeiro deles é a difusão, que por sua vez depende estritamente da densidade global de vasos para que o sangue difunda. Nesse sentido, quanto menos vasos, menor a densidade vascular e, portanto, maior a distância para que o oxigênio se difunda para os tecidos. Já o segundo princípio é a convecção, que por sua vez, depende da velocidade em que os glóbulos vermelhos passam pelos vasos, bem como da saturação de hemoglobina. Pode-se dizer que a sepse acaba alterando estes dois fatores, pois ao mesmo tempo em que há uma redução global da densidade de capilares funcionantes, há uma desproporção entre capilares funcionantes e capilares com fluxo interrompido ou intermitente, acarretando *shunts* patológicos.^{19,21}

Enquanto Charlton et al.¹⁵ destaca a origem multifatorial da disfunção microcirculatória na sepse, De Backer et al.²² aponta dados clínicos que sugerem a necessidade de haver um conjunto de mecanismos que culminam com tal processo. A densidade capilar é reduzida e heterogênea devido a uma diversidade de fatores, que incluem oclusão por eritrócitos não deformáveis, adesão de neutrófilos e plaquetas, além de um estado pró-coagulante.¹⁵ A conjunção de vários mecanismos parece ser essencial; casos de neutropenia e trombocitopenia induzidos por quimioterapia foram ineficazes em prevenir a ocorrência de alterações microvasculares, por exemplo.²² Vale destacar que a sepse é caracterizada por um aumento global na produção de NO; entretanto, conforme já assinalado, a iNOS é distribuída de forma heterogênea. Além disso, a formação endotelial de NO está reduzida, o que impede sua ação de inibir a agregação celular no leito microvascular, bem como de promover seu efeito vasodilatador local.^{21,23}

Pool et al.²¹ realiza relevantes comparações entre a resposta tecidual frente à hipóxia em alguns tipos de choque, refletindo a importância prática de seu conhecimento, bem como reforça as ideias de autores como Charlton et al.¹⁵, Greco et al.¹⁹, De Backer et al.²² e Hawiger et al.²³. Em um choque cardiogênico ou hipovolêmico, por exemplo, a baixa perfusão tecidual homogênea cursa com um aumento, também homogêneo, da extração de oxigênio (VO₂), de forma que a saturação venosa central de oxigênio tende a cair. Já em casos de baixa perfusão heterogênea,

como o que ocorre na sepse, pode não haver uma queda tão significativa da saturação venosa de oxigênio, uma vez que os tecidos que permeiam os capilares bem perfundidos irão manter uma taxa de extração de O₂ mais baixa, enquanto os tecidos distantes dos capilares bem perfundidos não irão conseguir extrair o oxigênio. Dessa forma, uma saturação venosa central de oxigênio elevada, que em outro cenário poderia indicar, levando em consideração a macrocirculação, uma boa perfusão tecidual, na sepse pode estar presente mesmo havendo hipóxia tecidual importante.²¹

Disfunção orgânica:

O número significativo de capilares obstruídos acaba promovendo hipóxia tecidual seguida de reprogramação metabólica, que envolve mudança na geração de ATP – de fosforilação oxidativa para glicólise anaeróbia, o denominado efeito Warburg –, com inibição da cadeia respiratória mitocondrial e parada do ciclo celular.⁵ O mecanismo aceptor final de oxigênio (cadeia de transporte de elétrons) no interior das mitocôndrias parece se tornar disfuncional.¹⁹ Portanto, outros mecanismos contribuem para a lesão tecidual na sepse, como alterações metabólicas celulares, disfunção mitocondrial e apoptose desregulada. Tais mecanismos parecem ser respostas adaptativas tardias à hipóxia tecidual persistente.^{6,15}

Fisiologicamente, a produção de ATP por meio da cadeia transportadora de elétrons (fosforilação oxidativa) acarreta geração de ROS, como o superóxido. Estas moléculas atuam como agentes oxidantes, reagindo com outras moléculas e gerando dano oxidativo. Contudo, essa atividade é normalmente regulada de forma rigorosa por mecanismos antioxidantes. Porém, em um cenário séptico, há um desequilíbrio entre geração e inativação de ROS, sendo o acúmulo dos mesmos denominado de estresse oxidativo. Este processo, quando associado à disfunção da iNOS, faz com que haja reação entre superóxido e o NO, formando peroxinitrito, que se acredita ser responsável por diversos danos relacionados à sepse, como disfunção endotelial e extravasamento capilar.¹⁵

De forma complementar ao processo de estresse oxidativo apontado por Charlton et al.¹⁵, Pool et al.²¹ destaca possíveis mecanismos envolvidos na tentativa de se evitar maiores danos orgânicos. A perda precoce e transitória da função orgânica pode estar relacionada a um processo de reprogramação metabólica que parece ser um mecanismo adaptativo com o objetivo de priorizar o consumo de energia para limitar lesões adicionais, mantendo assim o equilíbrio energético e prevenindo danos ao DNA. Desta forma, as células expostas a condições de hipóxia persistente respondem reduzindo a demanda de oxigênio. Há ainda uma resposta autofágica sugerida como mecanismo integrante da reprogramação metabólica em resposta à inflamação, de modo que a remoção de mitocôndrias disfuncionais e a diminuição da massa mitocondrial poderiam reduzir a

lesão induzida por espécies reativas de oxigênio, por exemplo, principalmente na mudança aguda de retorno à glicólise aeróbica.²¹

CONCLUSÕES:

Os diversos mecanismos fisiopatológicos citados no trabalho agem em consonância para que haja uma redução importante de capilares perfundidos de forma adequada, acarretando em um transporte anormal de oxigênio e hipóxia tecidual nos pacientes com sepse. Ainda que existam outros mecanismos envolvidos na lesão celular, as evidências falam a favor de que o evento primário para a disfunção orgânica relacionada à sepse sejam os distúrbios da microcirculação, o que reforça a importância de sua compreensão, bem como a necessidade de aumentar os esforços para melhorar as técnicas de sua avaliação.

REFERÊNCIAS:

1. Santos DM, Quintans JS, Quintans-Junior LJ, Santana-Filho VJ, Cunha CLP, Menezes IAC, et al. Associação entre Perfusão Periférica, Microcirculação e Mortalidade em Sepse: Uma Revisão Sistemática. *Braz J Anesthesiol*. Nov 2019;69(6):605-621.
2. Opal SM, Poll TVD. Endothelial Barrier Dysfunction in Septic Shock. *J Intern Med*. Fev 2015;277(3):277-293.
3. Munford RS. Sepse grave e choque séptico. In: Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Fauci AS, Longo DL, Loscalzo J. *Medicina Interna de Harrison*. 19ª ed. Nova York. AMGH Editora Ltda. 2017. Pág 7205 – 7229.
4. Ince C, Mik EG. Microcirculatory and Mitochondrial Hypoxia in Sepsis, Shock, and Resuscitation. *J Appl Physiol*. Jan 2016;120(2):226-235.
5. Sygitowicz G, Sitkiewicz D. Molecular mechanisms of organ damage in sepsis: an overview. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2020 Oct;
6. Miranda M, Balarini M, Caixeta D, Bouskela E. Microcirculatory Dysfunction in Sepsis: Pathophysiology, Clinical Monitoring, and Potential Therapies. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. Jul 2016;311(1):24-35.
7. Guven G, Hilty Matthias P, Ince C. Microcirculation: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Application. *Blood Purification*. 2019 Dec 18;49(1-2):143–150.
8. Lipinska-Gediga M. Sepsis and septic shock – is a microcirculation a main player? *Anestezjologia Intensywna Terapia*. 2016 Oct 28;48(4):261–5.
9. Chen Z, Zhang H, Qu M, Nan K, Cao H, Cata JP, et al. Review: The Emerging Role of Neutrophil Extracellular Traps in Sepsis and Sepsis-Associated Thrombosis. *Frontiers in cellular and infection*

microbiology [Internet]. Jan 2021;11:653228.

10. Østergaard L, Granfeldt A, Secher N, Tietze A, Iversen N, Jensen MS, et al. Microcirculatory Dysfunction and Tissue Oxygenation in Critical Illness. *Acta Anaesthesiol Scand*. Jul 2015;59(10):1246-1259.
11. Colbert JF, Schmidt EP. Endothelial and microcirculatory function and dysfunction in sepsis. *Clinics in chest medicine* [Internet]. 2016 Jun 1;37(2):263–275.
12. Iba T, Levy JH. Derangement of the endothelial glycocalyx in sepsis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* Feb 2019;17(2):283–94.
13. Belousoviene E, Kiudulaite I, Pilvinis V, Pranskunas A. Links between Endothelial Glycocalyx Changes and Microcirculatory Parameters in Septic Patients. *Life (Basel, Switzerland)* [Internet]. 2021 Aug 5;11(8):790.
14. Fernández-Sarmiento J, Salazar-Peláez LM, Carcillo JA. The Endothelial Glycocalyx: A Fundamental Determinant of Vascular Permeability in Sepsis. *Pediatric Critical Care Medicine* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2021 Dec 8];21(5):e291.
15. Charlton M, Sims M, Coats T, Thompson JP. The microcirculation and its measurement in sepsis. *Journal of the Intensive Care Society*. 2016 Nov 10;18(3):221–227.
16. Rossaint J, Zarbock A. Pathogenesis of Multiple Organ Failure in Sepsis. *Critical Reviews in Immunology*. 2015;35(4):277–291.
Morelli A, Passariello M. Hemodynamic coherence in sepsis. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*. 2016 Dec;30(4):453–463.
17. Sharawy N, Lehmann C. New directions for sepsis and septic shock research. *The Journal of Surgical Research* [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2021 Dec 8];194(2):520–7.
18. Serroukh Y, Djebara S, Lelubre C, Zouaoui Boudjeltia K, Biston P, Piagnerelli M. Alterations of the Erythrocyte Membrane during Sepsis. *Critical Care Research and Practice* [Internet]. 2012;2012:702956.
19. Greco E, Lupia E, Bosco O, Vizio B, Montrucchio G. Platelets and Multi-Organ Failure in Sepsis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017 Oct 20;18(10):2200.
20. McDonald B, Urrutia R, Yipp Bryan G, Jenne Craig N, Kubes P. Intravascular Neutrophil Extracellular Traps Capture Bacteria from the Bloodstream during Sepsis. *Cell Host & Microbe*. 2012 Sep;12(3):324.
21. Pool R, Gomez H, Kellum JA. Mechanisms of Organ Dysfunction in Sepsis. *Critical Care Clinics*. 2018 Jan;34(1):63–80.
22. De Backer D, Orbegoza Cortes D, Donadello K, Vincent J-L. Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. *Virulence*. 2013 Sep 25;5(1):73–79.

23. Hawiger J, Veach RA, Zienkiewicz J. New paradigms in sepsis: from prevention to protection of failing microcirculation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* [Internet]. 2015 Oct 1;13(10):1743–1756.