



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



DEPARTAMENTO DE FISIOPATOLOGIA
Facultad de Medicina, UDELAR

ROL DE LOS MARCADORES DE PERFUSIÓN EN EL MANEJO DEL SHOCK SÉPTICO

AUTORES

ORIENTADOR: Prof. Dr. Javier Hurtado

Br. Lucas Mendieta
Br. Florencia Pérez
Br. Santiago Salaberry
Br. Natasha Smiliansky
Br. Marcela Zooby

ÍNDICE

ÍNDICE	2
RESUMEN	3
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	5
MATERIAL Y METODOS	8
RESULTADOS.....	11
DISCUSIÓN	17
CONCLUSIONES	19
AGRADECIMIENTOS	19
BIBLIOGRAFÍA	20

RESUMEN

INTRODUCCIÓN. La gravedad del Shock Séptico ha sido clásicamente evaluada mediante parámetros macro hemodinámicos que no son indicadores fiables del nivel de oxigenación ni de perfusión tisular. Por tal motivo es necesario buscar marcadores más representativos que puedan guiar el diagnóstico y tratamiento de los pacientes con Shock Séptico.

METODOLOGÍA. Análisis secundario de una base de datos de un modelo experimental de shock endotóxico por inyección de lipopolisacárido de *Escherichia coli*, con y sin resucitación hemodinámica. En todos los animales se determinaron variables hemodinámicas sistémicas y marcadores de perfusión tisular como Lactato, Saturación venosa mixta de O₂ (SvO₂) y Diferencia veno-arterial de CO₂ (Dv-aCO₂), junto con monitoreo de la microcirculación sublingual por video microscopía, en los diferentes tiempos de estudio.

RESULTADOS. De acuerdo al comportamiento del gasto cardíaco (GC), los datos obtenidos se dividieron en 3 subgrupos de estudio: GC Bajo, GC Normal y GC Alto. El Subgrupo de GC Bajo mostró deterioro severo de marcadores de perfusión tisular, junto con profundas alteraciones de la microcirculación en relación al descenso del GC. El subgrupo de GC Alto presentó discordancia entre cambios macro y microhemodinámicos, con persistencia de alteraciones microcirculatorias y mejoría parcial de marcadores de perfusión como SvO₂ y Dv-aCO₂.

CONCLUSIONES. El Lactato, la SvO₂ y la Dv-aCO₂ son útiles para detectar hipoperfusión tisular en los estados de bajo GC, que se acompañan de alteraciones severas de la microcirculación. Sin embargo, la normalización de algunas de estas variables no descarta la persistencia de disoxia tisular. La video microscopía aporta una información específica y de relevancia acerca de las alteraciones microvasculares subyacentes, que pueden persistir más allá de una eventual mejora en la hemodinamia sistémica. Estos trastornos pueden explicar la disfunción multiorgánica y tienen valor pronóstico en el Shock Séptico.

PALABRAS CLAVE: sepsis, shock séptico, shock endotóxico, microcirculación, perfusión tisular

ABSTRACT

INTRODUCTION: The severity of shock has classically been evaluated by macro hemodynamic parameters, which do not clearly represent tissue perfusion or oxygenation. In that sense, it is necessary to search for more reliability markers of tissue perfusion, for a more precise diagnosis and to guide the resuscitation treatment in Septic Shock patients.

METHODS: Secondary analysis of a data base from an endotoxic shock experimental model. Endotoxic shock was induced by Eschericcia coli lipopolysaccharide infusion. Then, the animals were randomly assigned or not to hemodynamic resuscitation. Systemic hemodynamic variables, along with tissue perfusion parameters like Lactate, mixed venous O₂ saturation (SvO₂), and venous to arterial CO₂ difference (Dv-aCO₂) were determined in all the animals a regular time intervals. These measurements were accompanied by microcirculatory evaluation using sublingual video microscopy.

RESULTS: According to cardiac output (CO) changes, all the data were classified in 3 subgroups: Low CO, Normal CO, and High CO. The Low CO subgroup showed profound alterations of tissue perfusion markers along with severe microvascular dysfunction. By contrary, the High CO subgroup showed the dissociation between macrocirculatory parameters and microvascular function. SvO₂ and Dv-aCO₂ showed partial recovery along with persistent hyperlactatemia and microvascular alterations.

CONCLUSION: Lactate, SvO₂ and Dv-aCO₂ were sensitive and useful parameters to detect tissue hypoperfusion in low CO states, and were accompanied by severe microvascular alterations. However, sublingual microcirculatory dysfunction may persist despite macro hemodynamic improvements after resuscitation treatment. The lack of correlation between macro and microcirculatory variables could explain progression to multiple organ failure and death in Septic Shock patients.

KEY WORDS: sepsis, septic shock, endotoxic shock, microcirculation, tissue perfusion

INTRODUCCIÓN

El tercer Consenso Internacional de Sepsis y Shock Séptico define a la Sepsis por la presencia de infección, con disfunción multiorgánica (DMO). La Sepsis siempre es una entidad de gravedad que amenaza la vida, por la respuesta exacerbada del huésped frente a la infección. Esta definición hace énfasis en la magnitud de la respuesta maladaptativa como el principal evento patológico. La identificación y el tratamiento precoz del cuadro séptico mejoran la probabilidad de supervivencia.^{1,2} Se ha propuesto que la DMO debe ser documentada mediante la utilización del score Sequential [Sepsis-related] Organ Failure Assessment (SOFA). Un valor ≥ 2 puntos de este score confirma la disfunción orgánica para completar el diagnóstico de sepsis. Alternativamente, puede utilizarse el qSOFA (quick SOFA), una versión abreviada del SOFA que sólo incluye la evaluación clínica del estado de conciencia, frecuencia respiratoria (FR) y presión arterial media (PAM). Por otra parte, el Shock Séptico se define como un estado de Sepsis acompañado de insuficiencia circulatoria y anomalías en el metabolismo celular. La presencia de la falla circulatoria aumenta la mortalidad de manera sustancial. El diagnóstico se lleva a cabo por la necesidad del uso de vasopresores para mantener la presión arterial en valores ≥ 65 mmHg y por la presencia de Lactato arterial > 2 mmol/L, luego de la reposición adecuada de la volemia. Más allá de éstos criterios diagnósticos adoptados por la nueva definición, no existen marcadores biológicos de referencia que puedan ser considerados como el gold standard para confirmar el diagnóstico de Sepsis o de Shock Séptico.¹

Tradicionalmente, la gravedad del shock ha sido evaluada a través de parámetros hemodinámicos como el gasto cardíaco (GC), la presión arterial media (PAM) o la presión venosa central (PVC).² Si bien estos parámetros reflejan el estado de la macrohemodinamia, no son indicadores fiables del nivel de oxigenación, ni de perfusión tisular. Por tal motivo se ha planteado recurrir a la búsqueda de otro tipo de marcadores, más representativos del estado de la perfusión de los tejidos, que puedan ser aplicados para el diagnóstico y como guía del tratamiento de los pacientes con Shock Séptico.³⁻⁵ Entre estas variables se incluyen: Lactato arterial, saturación venosa mixta de oxígeno (SvO₂), gradiente veno-arterial de CO₂ (Dv-aCO₂) y el estado de la microcirculación, evaluado por técnicas de video microscopía.^{6,7}

La concentración de Lactato plasmático resulta del balance entre su producción y metabolismo por diferentes tejidos. Clásicamente, el aumento de su concentración ha sido considerado como un marcador de hipoxia, hipoperfusión, o mala utilización tisular del oxígeno. En estas condiciones, una parte muy importante del Lactato circulante se debe al aumento de su producción por glucólisis anaeróbica.⁸ Además, la hiperlactatemia es aceptada como un predictor independiente de mortalidad. Así, su concentración y evolución temporal, definen el riesgo y la severidad de los pacientes sépticos.⁸⁻¹⁴ Sin embargo, la hiperlactatemia también puede deberse a

mecanismos más complejos. Así, aún en el contexto del shock séptico, podría existir un aumento de glucólisis aeróbica secundaria a una respuesta simpático adrenal, mediada por el sistema nervioso autónomo.³ Esto serviría para mejorar la eficiencia energética a través de un aumento de la oxidación de Lactato, como respuesta a la sepsis. Finalmente, en tanto el hígado también puede disfuncionar en la sepsis, una menor metabolización hepática del Lactato puede contribuir a su incremento plasmático. En todos los casos, cifras por encima de 2 mmol/L y la persistencia de valores elevados durante la evolución de un paciente séptico, siempre son factores de mal pronóstico.^{9, 11, 13}

La saturación venosa medida en la arteria pulmonar (SvO₂) es un parámetro fisiológico útil que refleja el desbalance oferta-demanda de O₂ sistémico (DO₂/VO₂) y ayuda a poner en evidencia los estados de hipoperfusión tisular, uno de los factores principales del daño multiorgánico en los estados de shock.¹⁵ Dado que acceder a muestras de sangre en la arteria pulmonar es complejo, de manera alternativa, se ha utilizado la saturación de la vena cava superior (ScvO₂) como marcador equivalente a la SvO₂. Para ambas variables se ha definido un valor pronóstico y han sido usadas como guías de la reanimación hemodinámica en pacientes con shock. Si bien es claro que la ScvO₂ no es equivalente al valor de la SvO₂, su uso se ha generalizado en la práctica clínica, por tratarse de una medida más accesible y menos invasiva.¹⁶⁻¹⁹ Sobre la base de estos conceptos, Rivers y col. demostraron que una estrategia terapéutica adecuada debe incluir la normalización de ScvO₂ a valores ≥ 70 % de forma temprana, en los pacientes con Shock Séptico²⁰. Este protocolo es conocido como la Terapia Precoz Guiada por Objetivos y ha constituido la piedra angular del tratamiento desde su introducción en el año 2001. Desde entonces, las directrices internacionales han recomendado alcanzar estos valores de referencia para PAM, PVC y ScvO₂, durante las primeras 6 horas de atención en pacientes sépticos.² Sin embargo, algunos estudios han demostrado un incremento en la mortalidad cuando la ScvO₂ se encuentra por encima de 80%. Es así que autores como Bauer y Reinhart¹⁵ proponen cifras de SvO₂ 70 ± 5 % como valores seguros de saturación. Cifras mayores de saturación venosa podrían deberse a un consumo celular de O₂ inadecuado (disfunción mitocondrial), o a fenómenos de distribución inhomogénea de la perfusión microvascular que generan efectos de shunt periférico.^{21, 22}

Mallat y col.²³ analizan el valor de la diferencia de presión parcial de CO₂ entre la sangre venosa mixta y arterial (Dv-aCO₂), como un parámetro a considerar en el manejo del paciente en estado de shock. Este gradiente es directamente proporcional a la producción de CO₂ e inversamente proporcional al gasto cardíaco, siendo este último su principal determinante. Si bien la producción tisular de CO₂ puede aumentar en los estados de hipoperfusión, autores como Vallet y Neviere²⁴ comprobaron que la Dv-aCO₂ no es un indicador seguro de hipoxia tisular. Más

probablemente, el aumento de la $Dv\text{-}a\text{CO}_2$ se relaciona con hipoperfusión tisular por caída del flujo sanguíneo (GC). Por otra parte, también se ha postulado que niveles elevados de $Dv\text{-}a\text{CO}_2$ (>6 mmHg) en las primeras horas de reanimación del shock se asocian a mal pronóstico. Su determinación podría adquirir importancia en situaciones en las que la saturación venosa de oxígeno (SvO_2) se encuentra aumentada, sobre todo en el contexto de hiperlactatemia.²⁵⁻²⁶ La determinación simultánea de estos tres parámetros de perfusión, podría ayudar a identificar con mayor precisión a pacientes en riesgo de DMO y muerte en el contexto del Shock Séptico.^{3, 10, 23}

La microcirculación es un extenso lecho conformado por capilares, arteriolas y vénulas donde se produce el intercambio tisular de oxígeno y nutrientes. La posibilidad de monitorear la función microcirculatoria por visualización directa de los lechos vasculares por video microscopía, ha abierto el campo de la investigación sobre los mecanismos que afectan la perfusión y la oxigenación en diferentes situaciones patológicas. En el shock séptico se han descrito alteraciones precoces y severas de la microcirculación cuya persistencia se asocia con disfunción multiorgánica y muerte.^{7,27} Los trastornos microcirculatorios consisten mayormente en disminución del flujo microvascular, descenso de la proporción y densidad de vasos perfundidos y una distribución inhomogénea de flujo capilar, condiciones que se asocian con desbalance oferta/demanda periférica de O_2 o disoxia tisular.²⁷⁻³⁰ Muchas veces coexisten alteraciones de la microcirculación en pacientes hemodinámicamente estables, lo cual llevó al concepto de “incoherencia hemodinámica”.³¹ Esto podría explicar por qué las medidas de soporte hemodinámico usualmente utilizadas, que focalizan el tratamiento en variables macrohemodinámicas, no sean suficientes para prevenir la aparición de hipoperfusión y disfunción orgánica múltiple en éstos pacientes. Se entiende entonces, la importancia de integrar el monitoreo de la perfusión tisular y de la microcirculación en el manejo de estos cuadros clínicos.

A partir de todos estos elementos, se puede hipotetizar que la utilización de estos parámetros, complementando los criterios hemodinámicos clásicos, podría constituirse en una herramienta útil para un diagnóstico precoz y guiar la reanimación del shock séptico.

El objetivo de este trabajo es estudiar el valor del Lactato, la SvO_2 , la $Dv\text{-}a\text{CO}_2$ y el estado de la microcirculación por video microscopía, como indicadores de perfusión tisular. Se analiza el comportamiento de estas variables en función de los cambios en el gasto cardíaco en un modelo experimental de Shock Endotóxico.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó un análisis secundario de una base de datos del Proyecto de Investigación: "Sepsis y disfunción multiorgánica. Resucitación precoz guiada por objetivos y terapias coadyuvantes" del Dpto. de Fisiopatología. La metodología fue descrita en detalle en un artículo recientemente publicado por López A, y col.⁵ El trabajo fue realizado siguiendo las normas nacionales e internacionales respecto del uso de animales de laboratorio con fines de investigación. El mismo fue aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA) de la Facultad de Medicina (Exp. N° 071140-000310-07, Mayo 2007). Se estudiaron treinta y dos cerdos, con peso promedio de $24,2 \pm 4$ kg. Todos los animales recibieron anestesia con ketamina (5 mg/kg i.m), seguido de tiopental (10 mg/kg, i.v), y analgesia con fentanilo (0,01 mg/kg i.v.). Después de la anestesia se realizó una traqueostomía para asegurar la ventilación mecánica (Amadeus Hamilton Medical AG, Switzerland). Se utilizó ventilación controlada por volumen, con bloqueo neuromuscular con atracurio (0,6 mg/kg/h, i.v.). La anestesia y el bloqueo neuromuscular se controlaron con monitoreo de la presión arterial, la frecuencia cardíaca, y de esfuerzos respiratorios frente a estímulos nociceptivos. La frecuencia del ventilador se ajustó para mantener una presión arterial de dióxido de carbono (PaCO_2) entre 40 a 45 mmHg. Se abordaron arteria y vena femoral derechas. Se midió la presión arterial sistémica con un catéter de estado sólido (modelo Millar SPC-370, 7F, 120cm, MILLAR Instruments Inc., Houston, TX, USA). Se colocó un catéter en la arteria pulmonar para medir presión venosa central (PVC), presión arterial pulmonar (PAP), y presión de oclusión arterial pulmonar (POAP). La saturación venosa mixta de oxígeno (SvO_2) y la presión parcial venosa mixta de CO_2 (PvCO_2) se obtuvo tomando muestras de sangre por el extremo distal de catéter pulmonar. El gasto cardíaco (GC) se midió por termodilución (Oximetrix 3 Computer, Abbott, Chicago, IL, USA). El Lactato arterial, las saturaciones arteriales y venosas de O_2 y las presiones parciales arteriales y venosas de CO_2 (PaCO_2 , PvCO_2), junto con el estudio completo de los gases en sangre, se midieron con un analizador de gases (Serie ABL 700, Radiometer. Copenhague, Dinamarca).

Medidas de la microcirculación. La microcirculación sublingual se evaluó utilizando la técnica de videomicroscopía por medio de un equipo Side Dark Field (SDF), Microvision Medial. En cada tiempo de estudio se registraron en promedio de 3 a 5 videos de 10 a 20 segundos de duración, en formato digital, para análisis posterior. Se aseguró la calidad de las imágenes grabadas ajustando el foco, evitando los artefactos de movimiento, la interposición de saliva y los fenómenos de compresión microvascular durante los registros. Las imágenes fueron analizadas por investigadores entrenados, que desconocían los tiempos de registro y los grupos de estudio. De acuerdo a las recomendaciones previamente publicadas.³² La densidad de vasos (MVD) se midió como el número total de vasos por mm^2 . El índice de flujo microvascular (MFI) se calculó

como el promedio del flujo de cada vaso individual, a partir de un score de flujo capilar de 0 a 3; donde 0 corresponde a ausencia de flujo, 1 es flujo intermitente, 2 es flujo lento y 3 es flujo microvascular normal. La heterogeneidad del flujo microvascular (HFI) se calculó a partir del MFI más alto, menos el MFI más bajo, dividido el promedio de MFI. La proporción de vasos perfundidos (PPV) se calculó por la siguiente fórmula: $((\text{número total de vasos} - \text{número de vasos con MFI}=0 \text{ o } 1) / \text{número total de vasos}) \times 100$. Se calculó la densidad de vasos perfundidos (PVD) como: $\text{MVD} \times \text{PPV}$.

Luego de la instrumentación inicial, se obtuvo una primera medida de todas las variables en el tiempo cero o basal (T0). Las mediciones se repitieron cada 60 minutos hasta los 180 minutos (T60, T120, T180). Finalmente, los animales se sacrificaron con una sobredosis de tiopental, seguido de una inyección de cloruro de potasio.

Grupos de estudio. Los animales fueron asignados de manera aleatoria a uno de tres grupos:

1- Grupo LPS (LPS). Recibieron una perfusión I.V. de lipopolisacárido de endotoxina de *Escherichia coli* (LPS, serotipo 0111: B4, Sigma -Aldrich St. Louis, MO, EE.UU), en suero salino isotónico.

2- Grupo Resucitación. Recibieron LPS y luego fueron tratados con: a) expansión de volumen con solución de gelatina (Haemacell, 250 ml/h) dentro de los primeros 120 minutos; b) Noradrenalina 0,1 mcg/kg/min, desde los 60 minutos de LPS; c) dobutamina 10 mcg/kg/min desde los 120 minutos de LPS. Estas dosis fueron definidas en experimentos piloto como aquellas eficaces para alcanzar una PAM entre 50-60 mmHg y para mantener el gasto cardíaco en relación a los valores basales.

3- Grupo Sham. Los animales sólo recibieron suero salino, sirviendo como controles sanos.

El conjunto de los datos obtenidos de todas las variables hemodinámicas y de la perfusión tisular se clasificaron en 3 subgrupos: GC Normal, Bajo y Alto. Para ello, se determinó la diferencia entre cada valor de GC respecto de sus cifras basales. Así, se consideró GC Normal cuando esta diferencia era cero respecto de su valor basal ($\Delta\text{GC}=0$). El subgrupo de GC Bajo quedó definido por una diferencia del GC con su basal menor de cero ($\Delta\text{GC}<0$). Finalmente el subgrupo de GC Alto se conformó con datos cuyas diferencias de GC respecto de los basales fueron mayores de cero ($\Delta\text{GC}>0$).

Análisis estadístico. El comportamiento de las variables en el tiempo de cada grupo de estudio se resumió por sus valores promedio y desvío estándar (DE). La distribución normal de las variables se investigó por test de Shapiro-Wilk. Las comparaciones entre grupos se realizaron por Análisis de Varianza para las variables con distribución normal seguido de test de Bonferroni, o pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis en el caso contrario. Las correlaciones entre variables se

estudiaron por coeficiente de correlación de Pearson. Se consideraron significativos los cambios cuando el valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Parámetros hemodinámicos y de la perfusión tisular entre los diferentes grupos.

Los principales resultados obtenidos se encuentran resumidos en la tabla 1 para los diferentes grupos de estudio (LPS, Resucitación, Sham). El deterioro de la hemodinamia sistémica se objetivó por una severa caída del GC y la PAM en el grupo LPS ($p < 0.05$). Por otra parte, la resucitación hemodinámica fue capaz de restaurar el GC por encima de los valores del grupo Sham ($p < 0.05$). Sin embargo, las cifras de PAM permanecieron relativamente descendidas a pesar del tratamiento ($p < 0.05$). Los efectos de LPS determinaron un aumento de las cifras de Lactato y de la Dv-aCO₂, mientras que ello se acompañó de un descenso significativo en los valores de SvO₂ ($p < 0.05$). Durante la Resucitación, si bien el Lactato permaneció elevado ($p < 0.05$), las cifras de SvO₂ y Dv-aCO₂ se corrigieron a valores comparables con los del grupo Sham.

Tabla 1

Parámetros hemodinámicos y marcadores de perfusión tisular en los Grupos de estudio.

	TIEMPO	GRUPO LPS	GRUPO LPS+RESUC	GRUPO SHAM
GC (L/min)	T0	2,15±0,9	1,82±0,4	1,5±0,5
	T60	1,41±0,4	1,51±0,5	1,53±0,5
	T120	1,29±0,3	2,21±0,9 #	1,52±0,6
	T180	1,05±0,5	2,28±0,6 *#	1,50±0,7
PAM (mmHg)	T0	92,3±20,1	87,8±19,8	86,4±18,1
	T60	45,5±13,3 *	56,2±16,5 *	89,2±17,6
	T120	34,9±9,5 *	54,8±12,2 *#	90,3±18,3
	T180	38,1±16,2 *	60,5±9,9 *#	84,2±11,9
Lactato (mmol/L)	T0	1,30±0,42	1,16±0,47	1,39±0,57
	T60	2,48±1,33	1,92±1,05	1,35±0,47
	T120	4,51±2,64 *	3,02±1,64	1,4±0,68
	T180	5,12±2,44 *	3,52±2,13 *	1,12±0,33
SvO ₂ (%)	T0	48,8±8,4	45,4±11,5	49±13,2
	T60	39,2±16,4	45,9±10,1	50,6±9,8
	T120	37,6±11	53,6±10,5 #	46,9±9,6
	T180	33,9±14,4 *	56,6±7,2 #	46,5±8,7
Dv-aCO ₂ (mmHg)	T0	15,4±4,8	14±6,6	13,4±4,9
	T60	15,9±4,9	14,4±7,6	10,8±4,9
	T120	17,9±4,9	10,7±7,3 #	11,9±2,6
	T180	24,7±7,1 *	12±6,2 #	13,8±4,1

GC:gasto cardíaco; PAM: presión arterial media; Lactato: Lactato arterial; SvO₂: Saturación venosa mixta; Dv-aCO₂: gradiente veno-arterial de CO₂. Valores promedio ± desvío estándar.

* $p < 0.05$ comparado con Grupo Sham; # $p < 0.05$ comparado con Grupo LPS.

Parámetros microcirculatorios entre los diferentes grupos.

En la tabla 2 se resumen los resultados obtenidos a partir del análisis de la microcirculación. La administración de LPS produjo un deterioro significativo de todos los parámetros que caracterizan la función microvascular: MFI, PVD y PPV ($p < 0.05$). La HFI mostró un incremento transitorio, mientras que la MVD se mantuvo sin cambios de significación en este grupo. Por su parte, la resucitación hemodinámica se acompañó de persistencia de las alteraciones microcirculatorias dado que tanto el MFI como la PVD y PPV fueron estadísticamente menores respecto de los valores del grupo Sham ($p < 0.05$). Este último grupo, no mostró alteraciones de la función microvascular en los tiempos de estudio.

Tabla 2

Parámetros de la microcirculación en los diferentes grupos de estudio

	TIEMPO	GRUPO LPS	GRUPO LPS+RESUC	GRUPO SHAM
MFI	T0	2,69±0,3	2,63±0,2	2,53±0,4
	T60	1,65±0,9 *	1,58±0,8 *	2,77±0,2
	T120	1,42±0,9 *	1,57±0,9 *	2,81±0,1
	T180	1,06±0,6 *	1,80±0,8 *	2,81±0,3
PVD	T0	28,9±7,9	30,6±8,9	23,8±3,8
	T60	19,8±12,3 *	15,7±9,4 *	35,4±8,5
	T120	13,6±10,2 *	14,5±11,6 *	34,5±4,2
	T180	12,6±8,7 *	14,4±7,6 *	27,4±5,5
HFI	T0	0,11±0,07	0,56±0,52 #	0,3±0,25
	T60	2,74±2,43	2,56±1,81	0,67±0,42
	T120	3,63±2,89 *	2,54±1,51	0,66±0,50
	T180	1,05±0,40	1,98±2,20	0,23±0,16
MVD	T0	31,1±9,4	33,7±8,7	24,7±4,9
	T60	33,2±6,5	25,6±5,9	37,7±8,2
	T120	25,4±7,5	24,3±8,6	36,6±3,3
	T180	25,4±6,8	22,8±5,1	28,3±5,9
PPV	T0	93,6±5,3	86,8±14,4	92,4±2,9
	T60	57,4±31,2 *	57,8±27,3 *	93,7±4,6
	T120	50,7±28,4 *	54,8±30,9 *	94,9±4,7
	T180	47,5±24,6 *	59,6±28,3 *	96,9±2,3

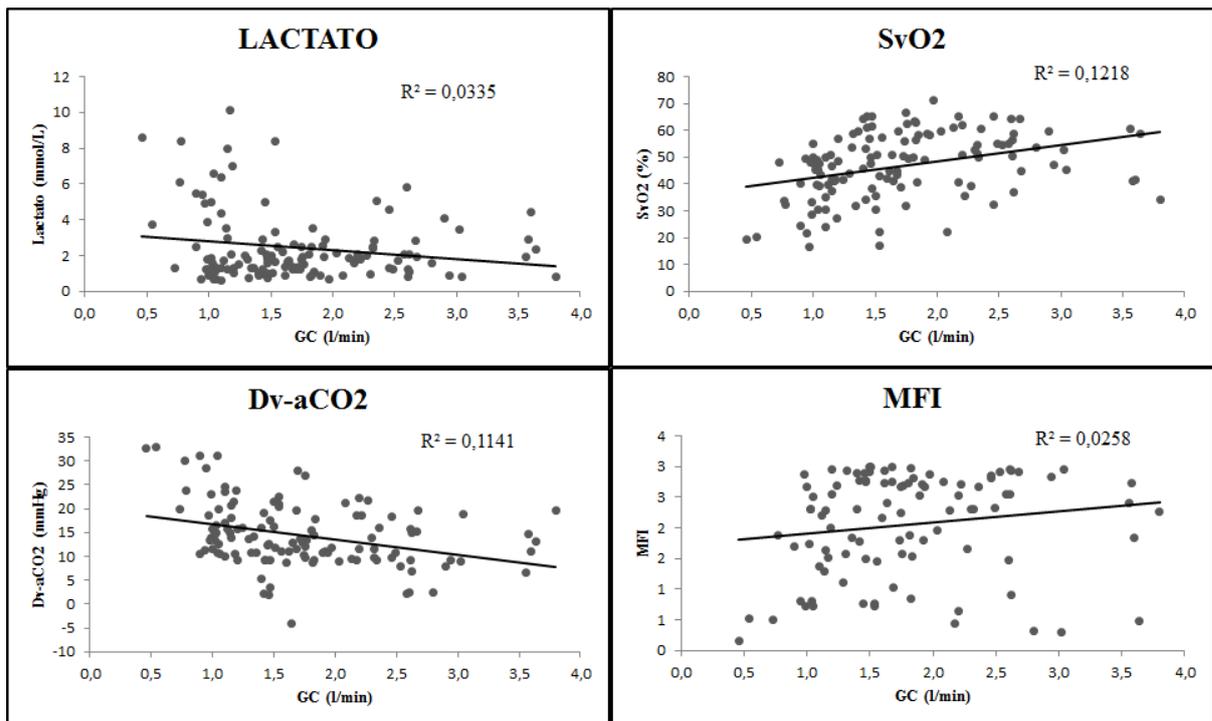
MFI: índice de flujo microvascular; PVD: densidad de vasos perfundidos; HFI: heterogeneidad de flujo microvascular; MVD: densidad microvascular; PPV: proporción de vasos perfundidos. Valores promedio \pm desvío estándar. * $p < 0.05$ comparado con Grupo Sham; # $p < 0.05$ comparado con Grupo LPS.

Relación entre parámetros de perfusión en función del GC

Al analizar las correlaciones entre el GC con los demás parámetros de perfusión, encontramos una correlación muy débil entre GC con Lactato arterial ($r^2=0.033$), SvO_2 ($r^2=0.12$) y $Dv-aCO_2$ ($r^2=0.11$). Por su parte, la correlación entre GC y MFI también fue muy baja ($r^2=0.026$). Estos resultados se resumen en la Figura 1

Figura 1

Correlaciones entre los parámetros de perfusión y el CG



GC: gasto cardíaco; Lactato: Lactato arterial; SvO_2 : Saturación venosa mixta; $Dv-aCO_2$: gradiente veno-arterial de CO_2 ; MFI: Índice de flujo microcirculatorio

Perfusión tisular en subgrupos de GC Bajo, GC Normal y GC Alto.

En la tabla 3 y figura 2 se resumen los datos hemodinámicos y de la perfusión tisular en los subgrupos de GC Bajo, Normal, y Alto. Por definición, tanto el GC como el Δ GC fueron significativamente menores en el subgrupo GC Bajo (Δ GC<0). El GC bajo se debe mayormente al efecto de LPS en animales que no han recibido tratamiento de soporte hemodinámico. En este subgrupo, el descenso del GC se acompañó de aumento significativo del Lactato y de la Dv-aCO₂. Por su parte, la SvO₂ descendió de manera significativa ($p<0.05$). El subgrupo GC Alto (Δ GC>0), conformado mayormente por animales que recibieron LPS seguido de tratamiento de resucitación hemodinámica, mostró elevación significativa de Lactato arterial, descenso de Dv-aCO₂ y valores aumentados de SvO₂ respecto del subgrupo con GC Normal. Todos estos cambios fueron de significación estadística ($p<0.05$).

Tabla 3

Parámetros hemodinámicos y metabólicos según subgrupos de GC Bajo, Normal y Alto

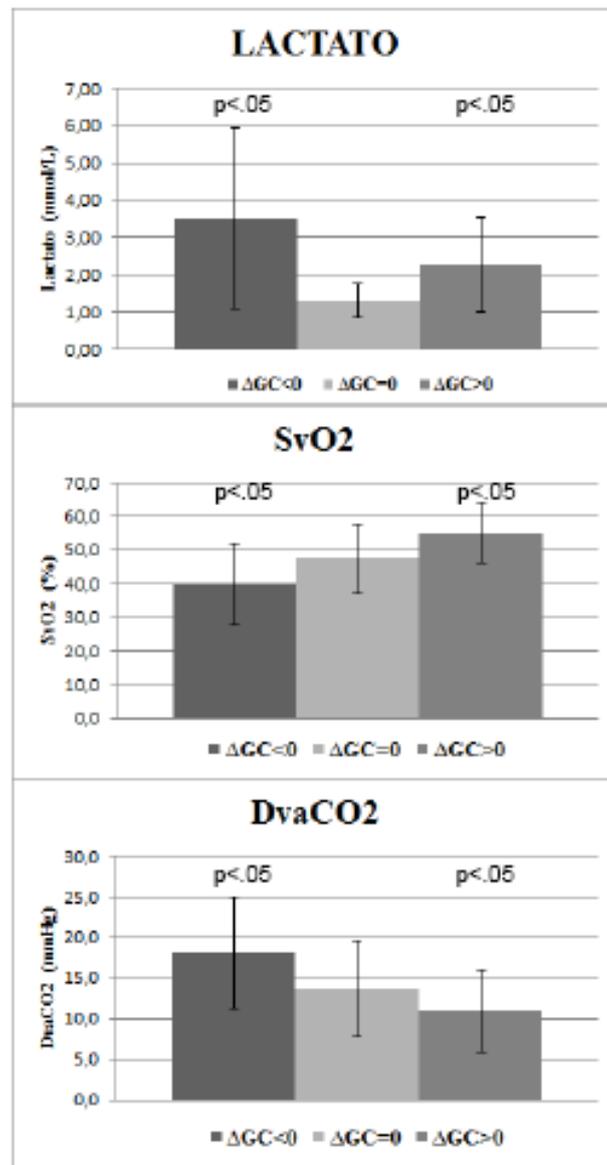
	GC Bajo (GC<0)	GC Normal (GC=0)	GC Alto (GC>0)
GC (L/min)	1,31±0,44*	1,82±0,64	2,18±0,74*#
Δ GC (L/min)	-0,7±0,71*	0±0	0,52±0,43*#
PAM (mmHg)	52,4±22*	88,5±19,1	68,4±21,1*#
Lactato (mmol/L)	3,3±2,4*	1,24±0,47	2,21±1,23*#
SvO ₂ (%)	40,4±12,2*	47,3±10,9	54,5±9,1*#
Dv-aCO ₂ (mmHg)	17,5±7,5*	14,3±5,4	11±4,9*#

GC: gasto cardíaco; PAM: presión arterial media; Lactato: Lactato arterial; SvO₂: Saturación venosa mixta; Dv-aCO₂: gradiente veno-arterial de CO₂. Valores promedio \pm desvío estándar.

* $p<0.05$ comparado con subgrupo GC=0; # $p<0.05$ comparado con subgrupo GC<0.

Figura 2

Comportamiento de marcadores de perfusión tisular en los subgrupos, según cambios en el GC



Lactato, Saturación venosa mixta (SvO₂) y Diferencia veno-arterial de CO₂ (Dv-aCO₂) en los subgrupos de estudio. GC Bajo ($\Delta GC < 0$), GC Normal ($\Delta GC = 0$), GC Alto ($\Delta GC > 0$). $p < 0.05$ comparado con subgrupo de GC Normal.

Microcirculatorios entre los diferentes subgrupos de GC Bajo, GC Normal y GC Alto.

Las variables de la microcirculación se resumen en la tabla 4 para los mismos subgrupos de análisis. El MFI, la PVD y PPV se encontraron significativamente disminuidos respecto del subgrupo GC Normal, tanto para el subgrupo $\Delta GC < 0$ ($p < 0.05$), como en el subgrupo $\Delta GC > 0$ ($p < 0.05$). Por su parte, también se registró un aumento de la HFI en los mismos subgrupos ($p < 0.05$) cuando se lo comparó con el GC Normal. En ninguno de los subgrupos se registraron cambios de significación en el MVD.

Tabla 4

Parámetros microcirculatorios según subgrupos de Gasto Cardíaco Bajo, Normal y Alto

	GC Bajo (GC<0)	GC Normal (GC=0)	GC Alto (GC>0)
MFI	1,71±0,9*	2,63±0,29	2,13±0,8*
PVD	18,1±11,6*	29,0±8,02	21,2±11,2*
HFI	1,85±1,6*	0,40±0,45	1,61±1,71*
MVD	27,4±7,9	31,4±8,9	27,4±7,9
PPV	61,4±28,3*	92±6,5	72,6±28,1*

MFI: índice de flujo microvascular; PVD: densidad de vasos perfundidos; HFI: heterogeneidad de flujo microvascular; MVD: densidad microvascular; PPV: proporción de vasos perfundidos. Valores promedio \pm desvío estándar. * $p < 0.05$ comparado con subgrupo GC=0.

DISCUSIÓN

Uno de los aspectos más importantes de este trabajo consistió en la posibilidad de relacionar los cambios ocurridos en la microcirculación sublingual con las variables que caracterizan el estado de la perfusión tisular: SvO₂, Dv-aCO₂ y Lactato. Nuestro modelo experimental de shock endotóxico ha permitido explorar el comportamiento de todos estos parámetros en un amplio rango de condiciones hemodinámicas, que hemos definido según los cambios producidos en el GC por la endotoxina y la resucitación cardiovascular. Considerando que el GC es la variable principal que gobierna la perfusión tisular, hemos analizado nuestros resultados en tres fenotipos hemodinámicos básicos: GC Bajo ($\Delta GC < 0$), GC Normal ($\Delta GC = 0$) y GC Alto ($\Delta GC > 0$). La falta de correlación entre la hemodinamia sistémica y la microcirculación ha sido señalada en numerosos trabajos clínicos y experimentales y sigue siendo un aspecto fundamental a ser estudiado. Esta falta de coherencia macro-microvascular surge cuando la resucitación, que logra normalizar la hemodinamia sistémica, no se acompaña de una mejora sustantiva de microcirculación, ni de la oxigenación de los tejidos. En este sentido, Dubin y col. han documentado esta disociación macro-microhemodinámica en diferentes escenarios clínicos, en respuesta a la expansión plasmática o la administración de vasopresores.^{33,34} Ello generalmente supone el fracaso de mecanismos neurales, hormonales, bioquímicos que afectan la regulación del tono vascular a nivel tisular y con ello, la distribución del flujo sanguíneo entre territorios vasculares y aún dentro de un mismo tejido. Esta disfunción está mediada por el propio proceso inflamatorio desencadenado por la Sepsis y otros mecanismos como el estrés nitrooxidativo, fenómenos de isquemia-reperfusión, trastornos de la coagulación y de la función endotelial, entre otros.³⁵ Ante los cambios registrados en el GC hemos podido objetivar dos comportamientos diferentes. En primer lugar, el descenso del GC inducido por LPS se acompañó de alteración de todos los marcadores de la perfusión tisular. Estas variables, en tanto útiles para identificar estados de hipoperfusión, han sido propuestas como guías para diferentes protocolos de resucitación hemodinámica.^{3, 6, 10, 23} Al mismo tiempo, se objetivó una disfunción significativa de la microcirculación sublingual. Este comportamiento fisiopatológico encuentra alineados los fenómenos macrohemodinámicos, con las alteraciones en los marcadores de perfusión y quizás lo más importante, en concordancia con una severa disfunción microcirculatoria. Bajo estas condiciones, la disfunción multiorgánica se explica por disoxia tisular secundaria a hipoperfusión.^{7, 29, 30} Notoriamente, la recuperación de las variables hemodinámicas sistémicas es esencial. Pero al mismo tiempo, para asegurar la sobrevida, ello debería acompañarse de la recuperación de la función microcirculatoria. Por otra parte, ante la restauración de la macrohemodinamia, hemos observado que tanto la SvO₂ como la Dv-aCO₂ corrigen sus alteraciones, mostrándose muy sensibles a los cambios en el flujo sanguíneo. Sin embargo, como ha sido señalado por otros

investigadores, este comportamiento no debe ser interpretado como una normalización de la oxigenación tisular.^{16, 23, 24} Por este motivo se recomienda la determinación simultánea de dos o más de éstos parámetros, en un abordaje de monitoreo multimodal, para mejorar la capacidad de identificar estados de disoxia tisular en pacientes sépticos.

Hemos mencionado que el aumento de Lactato en la Sepsis es multifactorial.⁸ Parte de su incremento puede deberse a hipoperfusión y metabolismo anaeróbico, mientras que también intervienen factores microcirculatorios, intracelulares y mitocondriales.³⁶ Nuestros datos han demostrado un descenso, pero no la normalización de las cifras de Lactato con la restauración de la hemodinamia sistémica. Ello denota la persistencia de las alteraciones metabólicas. Sin embargo, a partir de estos datos no resulta posible especular acerca del mecanismo responsable de la hiperlactatemia. La pérdida de la coherencia hemodinámica macro-microcirculatoria se documenta en este caso por la no recuperación de las alteraciones microvasculares. Esto mismo ha sido señalado por otros investigadores en diferentes situaciones clínicas y experimentales.

Finalmente, esta información da sustento al concepto de que la reanimación del Shock Séptico debe atender no sólo al soporte hemodinámico sistémico sino, fundamentalmente, a mejorar la perfusión tisular. Los marcadores de perfusión abren una alternativa para el monitoreo, mientras que la video microscopía ofrece un abordaje complementario esencial, que pone en evidencia las alteraciones de los lechos de intercambio gaseoso. El reclutamiento de capilares y la recuperación de una distribución microvascular homogénea es condición para asegurar la oxigenación tisular y prevenir la falla multiorgánica. Este abordaje, que toma en cuenta las ventajas y limitaciones de cada uno de éstos parámetros, es de fundamental importancia para el manejo de la disfunción multiorgánica en el Shock Séptico.

Limitaciones del estudio. El modelo experimental utilizado en este estudio, basado en la inyección de una endotoxina (LPS), produce un estado de shock endotóxico hiperagudo que no tiene el mismo curso clínico del shock séptico observado en la clínica. Sin embargo, resulta muy útil para ensayar las repercusiones cardiovasculares y metabólicas propias de este tipo de shock. El protocolo de resucitación hemodinámica utilizado se basó en los mismos recursos aplicados en la propuesta de la terapia precoz guiada por objetivos. Los resultados están entonces condicionados por la secuencia y la dosis de las drogas empleadas, no pudiendo ser extrapolados a eventuales efectos de otro tipo de protocolo.

CONCLUSIONES

Dentro de los marcadores de perfusión estudiados en este modelo experimental: Lactato, SvO₂ y la Dv-aCO₂ son sensibles y por lo tanto útiles para detectar estados de hipoperfusión tisular y se correlacionan con el deterioro de la microcirculación ocurrida en los estados de bajo gasto cardíaco. Sin embargo, su normalización no descarta la persistencia de alteraciones en la oxigenación tisular. En un abordaje multimodal complementario, el análisis de la microcirculación aporta una información específica y de relevancia acerca de las alteraciones subyacentes a nivel capilar. La no recuperación de la microcirculación, más allá de los cambios registrados en la hemodinamia sistémica, puede explicar la persistencia de la disfunción orgánica y tienen valor pronóstico en el Shock Séptico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo monográfico, realizado en el marco del Curso de Metodología Científica II, agradecen toda la información que se ha utilizado al equipo de investigación del proyecto “Sepsis y disfunción multiorgánica. Resucitación precoz guiada por objetivos y terapias coadyuvantes”, realizado en el Dpto. de Fisiopatología de la Facultad de Medicina, Universidad de la República. Dres: Alejandra López, Juan C. Grignola, Martín Angulo, Ignacio Alvez, Nicolás Nin, Gonzalo Lacuesta, Pablo Cardinal, Ivana Prestes, Juan P. Bouchacourt, Juan Riva. Este trabajo fue financiado en parte por fondos de CONICYT, Uruguay.

BIBLIOGRAFÍA

1. Singer M, Deutschman C, Seymour C, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016; 315(8): 801.
2. Dellinger R, Levy M, Rhodes A. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock. *Intensive Care Med.* 2013; 39(2): 165-228.
3. Wittayachamnankul B, Chentanakij B, Sruamsiri K, Chattipakorn N. The role of central venous oxygen saturation, and central venous to arterial carbon dioxide pressure difference as a goal and prognosis of sepsis treatment. *J Crit Care.* 2016; 36: 223-229-
4. Cecconi M, De Backer D, Antonelli M, Bakker J, Hofer C, Jaeschke R, et al. Consensus on circulatory shock and hemodynamic monitoring. Task force of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 2014; 40: 1795-1815.
5. López A, Grignola JC, Angulo M, Alvez I, Nin N, Lacuesta G, Baz M, et al. Effects of early hemodynamic resuscitation on left ventricular performance and microcirculatory function during endotoxic shock. *Intensive Care Medicine Exp.* 2015; 3:14.
6. Hernández G, Bruhn A, Castro R, Regueira T. The holistic view on perfusion monitoring in septic shock. *Curr Opin Crit Care.* 2012; 18: 280-286
7. Sakr Y, Dubois MJ, De Backer D, Creteur J, Vincent JL. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. *Crit Care Med.* 2004; 21: 1825-1831.
8. Garcia-Alvarez M, Marik P, Bellomo R. Sepsis-associated hyperlactatemia. *Critical Care.* 2014; 18(5): 503.
9. Haas SA, Lange T, Saugel B, Petzoldt M, Fuhrmann B, Metschke M, Kluge S. Severe hyperlactatemia, lactate clearance and mortality in unselected critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2016; 42(2):202-10.
10. Jansen TC, Bommel J, Schooderbeek FJ, Sleswijk Visser SJ, van der Klooster JM, et al. Early lactate-guided therapy in intensive care unit patients: a multicenter, open-label, randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010; 182(6): 752-761.
11. Mikkelsen ME, Miltiades AN, Gaieski DF, Goyal M, Fuchs BD, Shah CV, et al. Serum lactate is associated with mortality in severe sepsis independent of organ failure and shock. *Crit Care Med.* 2009; 37:1670-7.
12. Bakker J, Nijsten MW, Jansen TC. Clinical use of lactate monitoring in critically ill patients. *Ann Intensive Care.* 2013; 3:12.

13. Trzeciak S, Dellinger RP, Chansky ME, Arnold RC, Schorr C, Milcarek B, et al. Serum lactate as a predictor of mortality in patients with infection. *Intensive Care Med.* 2007; 33:970–7.
14. Michaeli B, Martinez A, Revelly JP, Cayeux MC, Chioléro RL, Tappy L, et al. Effects of endotoxin on lactate metabolism in humans. *Crit Care.* 2012; 16: R139.
15. Bauer P, Reinhart K, and Bauer M. Significance of venous oximetry in the critically ill. *Medicina Intensiva.* 2008; 32(3): 134-142.
16. Textoris J, Fouché L, Wiramus S, Antonini F, Tho S, Martin C, et al. High central venous oxygen saturation in the latter stages of septic shock is associated with increased mortality. *Critical Care.* 2011; 26: 15(4).
17. Boulain T, Garot D, Vignon P, Lascarrou JB, Desachy A, Botoc V, et al. Prevalence of low central venous oxygen saturation in the first hours of intensive care unit admission and associated mortality in septic shock patients: a prospective multicentre study. *Critical Care.* 2014; 6: 18(6).
18. Eliana C, Méndez M, Pérez L, Pertuso I, Sugo V, Grignola JC, Hurtado FJ. Significado de la Saturación Venosa Central en la Sepsis Experimental. *An Facultad Med.* 2015; 3: 1-19.
19. Chawla LS, Zia H, Gutierrez G. Lack of equivalence between central and mixed venous oxygen saturation. *Chest.* 2004; 126:1891-6.
20. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med.* 2001; 345: 1368-1377.
21. Singer M. Role of the mitochondrial dysfunction in sepsis-induced multi-organ failure. *Virulence.* 2014; S1: 66-72.
22. Klijjn E, Den Uil CA, Bakker J, Ince C. The heterogeneity of the microcirculation in critical illness. *Clin Chest Med.* 2008; 29:643–654.
23. Mallat J, Lemvyze M, Tronchon L, Vallet _B, Thevenin D. Use of venous-to-arterial carbon dioxide tension difference to guide resuscitation therapy in septic shock. *World J Crit Care Med.* 2016; 5(1): 47.
24. Vallet B, Teboul JL, Cain S, Curtis S. Venous arterial CO₂ difference during regional ischemic or hypoxic hypoxia. *J Appl Physiol.* 1985; 2000; 89: 1317-1321.
25. Dubin A, Estenssoro E. Mechanisms of tissue hypercarbia in sepsis. *Front Biosci.* 2008; 13: 1340-51.

26. Ospina-Tascon GA, Bautista-Rincón DF, Umaña M, Tafur JD, Gutiérrez A, García AF, et al. Persistently high venous-to-arterial carbon dioxide differences during early resuscitation are associated with poor outcomes in septic shock. *Critical Care*. 2013; 17(6).
27. Ince C. The microcirculation is the motor of sepsis. *Crit Care*. 2005; 9: S13-S19.
28. Ait-Oufella H, Bourcier S, Lehoux S, Guidet B. Microcirculatory disorders during septic shock. *Curr Opin Crit Care*. 2015; 21(4): 271-275.
29. De Backer D, Donadello K, Sakr Y, Ospina-Tascon G, Salgado D, Scolletta S, et al. Microcirculatory alterations in patients with severe sepsis: impact of time of assessment and relationship with outcome. *Crit Care Med*. 2013, 41:791-9.
30. Trzeciak S, McCoy JV, Dellinger P, Arnold RC, Rizzuto M, Abate NL, et al. Early increase in microcirculatory perfusion during protocol-directed resuscitation is associated with reduced multiorgan failure at 24 hours in patients with sepsis. *Intensive Care Med*. 2008; 34: 2210–2217.
31. Ince C. Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation. *Crit Care*. 2015; 19: S8.
32. De Backer D, Hollenberg S, Boerma C, Goedhart P, Büchele G, Ospina-Tascon G, et al. How to evaluate the microcirculation? Report of a round table conference. *Crit Care*. 2007, 11:R101.
33. Dubin A, Pozzo MO, Casabella CA, Pálizas F Jr, Murias G, Moseinco NC, et al. Increasing arterial blood pressure with norepinephrine does not improve microcirculatory blood flow: a prospective study. *Crit Care*. 2009; 13: R92.
34. Edul Vs, Ince C, Navarro N, Previgliano L, Risso-Vazquez A, Rubatto PN, et al. Dissociation between sublingual and gut microcirculation in the response to a fluid challenge in postoperative patients with abdominal sepsis. *Ann Intensive Care*. 2014; 4: 39.
35. Colbert J, Schmidt E. Endothelial and microcirculatory function and dysfunction in sepsis. *Clin Chest Med*. 2016; 37: 264-275.
36. Bakker J, de Backer D, Hernández G. Lactate-guided resuscitation saves lives: we are not sure. *Intensive Care Med*. 2016; 42: 472-474