

MONITORIZAÇÃO DA RESPOSTA ORGÂNICA AO TRAUMA E À SEPSE

TRAUMA AND SEPSIS METABOLIC RESPONSE MONITORING

Anibal Basile-Filho¹; Vivian Marques Miguel Suen²; Maria Auxiliadora Martins³;
Francisco Antonio Coletto³ & Flavio Marson³

¹Docente do Departamento de Cirurgia e Anatomia, Chefe da Disciplina de Terapia Intensiva; ²Pós-Graduanda da Disciplina de Nutrologia do Departamento de Clínica Médica; ³Médicos Assistentes e Pós-Graduandos da Disciplina de Terapia Intensiva do Departamento de Cirurgia e Anatomia. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

CORRESPONDÊNCIA: Anibal Basile-Filho. CTI - Campus - Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto. Campus Universitário. Ribeirão Preto - SP. CEP: 14048-900. e-mail: abasile@fmrp.usp.br

BASILE-FILHO A; SUEN VMM; MARTINS MA; COLETTI FA & MARSON F. Monitorização da resposta orgânica ao trauma e à sepse. **Medicina, Ribeirão Preto**, 34: 5-17, jan./mar. 2001.

RESUMO: O hipermetabolismo causado pela sepse, pelo trauma, pela síndrome da resposta inflamatória sistêmica e pela síndrome da disfunção de múltiplos órgãos é o responsável pela alta mortalidade dos pacientes internados nas unidades de terapia intensiva. O desenvolvimento do hipermetabolismo, fator provavelmente associado ou, até mesmo, secundário à liberação de mediadores e subprodutos, tem, como resultante final, a alteração do metabolismo de vários órgãos. Por essas razões, dada a suma importância de compreender-se o metabolismo dos pacientes críticos, este artigo de revisão analisa os diversos aspectos envolvidos na monitorização dos parâmetros fisiológicos do paciente em estresse metabólico, tais como o consumo de oxigênio, o grau de perfusão esplâncnica e sua relação com o lactato sérico e a cinética protéica corpórea total, através da administração intravenosa de ¹³C-leucina.

UNITERMOS: Ferimentos e Lesões. Sepse. Falência de Múltiplos Órgãos. Aminoácidos; metabolismo. Citocinas. Monitorização Fisiológica.

1. INTRODUÇÃO

A resposta orgânica ao estresse grave é complexa e integrada e sua finalidade básica é a restauração da homeostase. Na maioria dos casos, a resposta é harmônica e ordenada, conduzindo o paciente à cura, pois uma resposta generalizada do hospedeiro frente a um processo inflamatório, por exemplo, é necessária para a recuperação rápida das estruturas lesadas. No entanto, quando a resposta é excessiva, pode ocorrer um desequilíbrio profundo da homeostase, com bloqueio metabólico de vários órgãos, e a resultante final é a morte^(1,2).

Desde 1942, o bioquímico escocês, David Cuthbertson⁽³⁾, já havia definido duas fases distintas de resposta metabólica ao trauma: uma fase inicial ou “Ebb” e uma fase tardia ou “Flow”. A fase “Ebb”, com duração de dois a três dias, ocorre imediatamente após a agressão, caracterizando-se por uma franca instabilidade hemodinâmica, representada por hipovolemia, hipotensão, diminuição do fluxo sanguíneo, aumento da resistência vascular sistêmica, além de aumento da insulina, de catecolaminas, e de gluco e mineralocorticóides circulantes, esgotamento do glicogênio hepático, distúrbios no transporte de oxigênio para as células, e aumento do consumo de oxigênio (VO₂).

Após esse período, inicia-se a fase hiperdinâmica da resposta à agressão ou fase “Flow, simbolizada por uma retenção hídrica, aumento da permeabilidade vascular, diminuição da resistência vascular, sistêmica, com aumento crescente das catecolaminas, glicocorticóides, produzindo hiperglicemia e proteólise, sendo o denominador comum o hipermetabolismo (Tabela I).

Normalmente, passado o estresse cirúrgico, a maioria dos pacientes recuperam as principais funções vitais, em quatro a cinco dias. Contudo, em alguns pacientes, o processo de estresse nunca se resolve e uma disfunção de órgãos, do tipo seqüencial, se instala. O quadro inicial é conhecido por provocar alterações do estado da consciência, taquipnéia, febre, leucocitose, hiperbilirrubinemia, hipoxemia, hipocapnia, acidose metabólica, intolerância periférica à glicose e aumento da uréia e da creatinina plasmáticas. As razões dessa transição não estão definitivamente esclarecidas, porém acredita-se que o processo de base apresente-se como “problema não resolvido”.

Deve-se enfatizar que a resposta mais tardia ao trauma que não se resolve, pode estar ou não associada à infecção. A grande quantidade de termos, para designar condições clínicas similares ou suas diversas variantes de gravidade, provocou uma grande confusão e muitos inconvenientes para a uniformização de condutas terapêuticas e para a estratificação dos pacientes em diversos graus de gravidade, e a comparação, às vezes, entre os mesmos aspectos dos pacientes críticos, tornou-se bastante problemática, pois dentro do mesmo grupo de estudo existiam doentes com quadros clínicos idênticos, porém com gravidades variáveis. Um dos avanços importantes na comparação entre pacientes críticos com gravidade variável foi o desenvolvimento de inúmeros índices prognósticos, baseados nas constantes fisiológicas, apresentadas pelo paciente por ocasião de sua admissão na unidade de terapia intensiva⁽⁴⁾ ou, no caso de sepse, em variáveis fisiológicas, alteradas pela presença da infecção⁽⁵⁾.

Além disso, a individualização dos diferentes quadros clínicos foi efetuada através de uma conferência de consenso, realizada em agosto de 1991 e promovida pelo *American College of Chest*

Tabela I - Características principais das fases “EBB e FLOW” da resposta endocrinometabólica ao trauma e à sepse.

FASE “EBB”	FASE “FLOW”
- 2-3 dias de duração	- Estado hiperdinâmico
- Hipovolemia, Hipotensão	- Retenção fluidica
- Diminuição do fluxo sanguíneo	- Aumento da permeabilidade vascular
- Aumento da RVS*	- Diminuição da RVS
- Aumento das catecolaminas, glico e mineralocorticóides,	- Hipermetabolismo
- Diminuição da insulina	- Aumento das catecolaminas e glicocorticóides
- Aumento do Glucagon	- Aumento da insulina
- Hiperglicemia	- Hiperglicemia

* RVS = Resistência Vascular Sistêmica

Physicians em associação com a *Society of Critical Care Medicine (SCCM)*⁽⁶⁾, e dentre as principais definições, destacam-se:

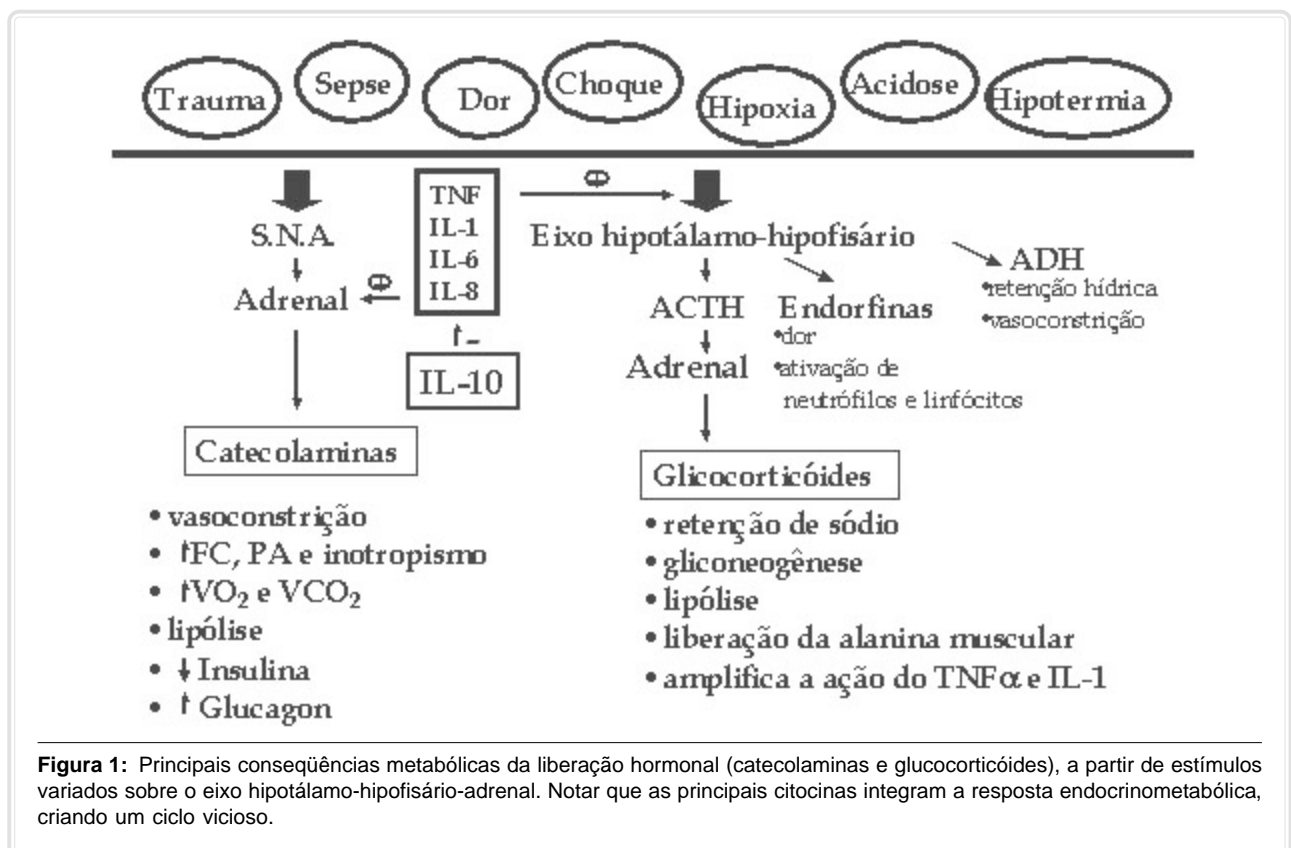
- **Infecção:** resposta inflamatória ligada à presença de microorganismos em tecidos normalmente estéreis;
- **Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS):** é uma resposta inflamatória sistêmica, na ausência de infecção, caracterizada pela presença de duas ou mais das seguintes condições: - temperatura > 38°C ou < 36°C; - frequência cardíaca > 90 bpm; - frequência respiratória > 20 ipm ou PaCO₂ < 32 mmHg; - contagem de glóbulos brancos > 12.000/mm³ ou < 4.000 mm³ ou bastonetes > 10%;
- **Sepse:** é uma resposta inflamatória, sistêmica, na presença de infecção, associada a duas ou mais das condições citadas acima;
- **Choque Séptico:** sepse relacionada com hipotensão, apesar de adequada reposição volêmica e anormalidades da perfusão tecidual, a despeito da administração de drogas vasoativas;
- **Síndrome da Disfunção de Múltiplos Órgãos:** é a presença de várias alterações nas funções orgânicas, de um determinado paciente crítico, cuja homeostase não pode ser mantida sem o adequado suporte avançado de vida.

Vários fatores podem ser responsáveis pela perpetuação da agressão inicial, através do desencadeamento de uma avalanche de substâncias que agirão como mediadores (“metabolic substance acting as mediators”), tendo como consequência deletéria a disfunção do sistema metabólico de vários órgãos.

Um grande número dos mediadores das respostas inflamatórias, associados ao estado de hipermetabolismo, é derivado do metabolismo dos lipídios. Na sepse, por exemplo, a depuração dos lipídios está diminuída em virtude da inibição da atividade da enzima lipaselipoprotéica, que hidroliza triglicerídios, liberando ácidos graxos, livres para a circulação. Por outro lado, o excesso de ácido araquidônico e de outros ácidos graxos, polinsaturados (ω 6-PUFA) resultam, após a ação das lipoxigenases e cicloxigenases, nas prostaglandinas, tromboxanas e leucotrienos. Esses metabólitos são coletivamente chamados de eicosanóides, por possuírem 20 átomos de carbono. Os leucotrienos causam aumento da permeabilidade microvascular, constrição arteriolar e modificação na função plaquetária. A resposta integrada do organismo a diversos estímulos, tais como, o trauma, a sepse, a dor, o choque circulatório, a hipoxia, a acidose e a hipotermia, entre outros, desencadeia uma resposta endocrinometabólica intensa, cujas repercussões podem ser desastrosas, dependendo da amplitude da resposta. Ainda, a ativação endotelial e macrofágica provoca a liberação de citocinas, ou seja, das interleucinas (IL-1, IL-6, IL-8) e do fator de necrose tumoral (“tumor

necrosis factor – TNF”), possuindo ação direta na manutenção do estímulo ao “eixo” hipotálamo-hipofisário-adrenal (Figura 1).

Em 1893, Coley⁽⁷⁾ notou, em seres humanos, a regressão de tumores variados, após a injeção de endotoxinas bacterianas. A causa e o significado desse fenômeno permaneceram obscuras, até 1985, quando Beutler et al.⁽⁸⁾ isolaram e purificaram uma citocina, dotada de efeito semelhante, denominada caquexina ou fator de necrose tumoral (sigla consagrada como “TNF”), o que logo demonstrou que os seus níveis plasmáticos estão, também, elevados no trauma e nas infecções graves⁽⁹⁾. A partir desses estudos, outras citocinas pró-inflamatórias foram purificadas e dentre elas destaca-se a IL-1 β ⁽¹⁰⁾. A elevação persistente ou temporal de algumas citocinas como, TNF- α , IL-1 β e IL-6, na evolução do trauma grave ou da sepse, foi relacionada à taxa de sobrevivência de pacientes críticos^(11, 12, 13). Os níveis de IL-6 podem persistir muito elevados durante a evolução clínica, talvez refletindo a persistência de lesão celular⁽¹³⁾. Na sepse experimental, induzida por administração sistêmica de lipopolissacáride, presente na parede das bactérias gram-negativas, observou-se que camundongos deficientes



no gene para IL-6 apresentam um maior índice de mortalidade e produção de TNF- α , sugerindo um papel antiinflamatório para a IL-6⁽¹⁴⁾. Nesse contexto, a IL-10, cujos níveis plasmáticos também estão elevados na sepse⁽¹⁵⁾, atua como citocina antiinflamatória por ser capaz de suprimir a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos⁽¹⁶⁾. Cabe ressaltar que a produção de TNF- α e IL-1 β estimulam a liberação sistêmica de IL-6 e IL-8, amplificando, dessa forma, a resposta inflamatória⁽¹⁷⁾.

Na sepse experimental e em humanos, também, ocorre um aumento da produção sistêmica de óxido nítrico (NO). Acredita-se que a infiltração e a ativação dos neutrófilos contribuam para a excessiva produção de NO⁽¹⁸⁾. A ausência de dados conclusivos sobre o uso de inibidores da síntese de NO na evolução clínica e na mortalidade em humanos, e modelos experimentais de sepse indicam que o papel desse mediador na fisiopatologia da doença não está claro⁽¹⁹⁾. Acredita-se, no entanto, que o balanço entre os mediadores pró e antiinflamatórios é determinante para a gravidade da resposta inflamatória. A migração de neutrófilos é um evento central da resposta inflamatória, porém, na sepse, pode ocorrer alteração dessa função. Em modelos experimentais, a falência da migração de neutrófilos para o sítio inflamatório é medida por TNF- α e IL-8⁽²⁰⁾ e o mecanismo da ação inibitória envolve a participação do NO⁽²¹⁾.

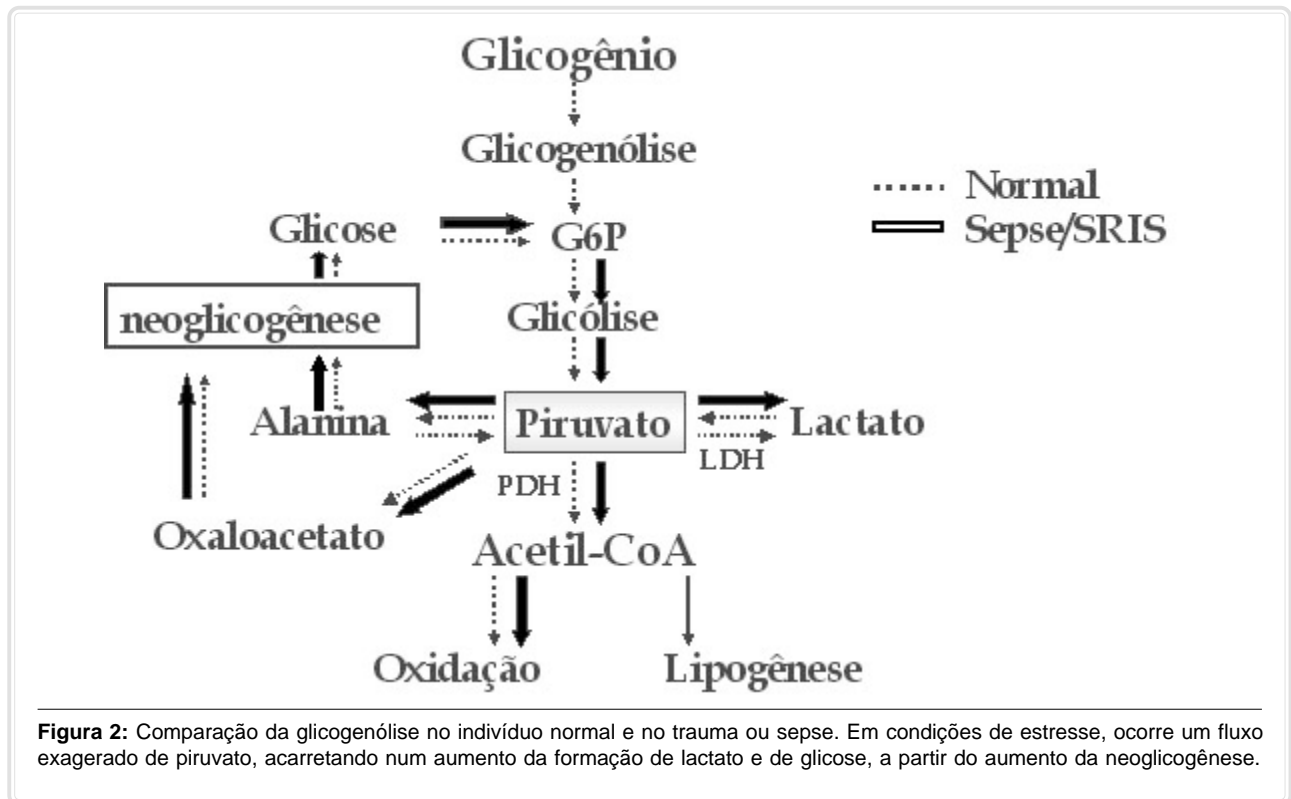
Enfim, as substâncias pró-inflamatórias são denominadas de pirógenos endógenos, por causarem febre, neutrofilia, proliferação de linfócitos e aumento da neoglicogênese e da proteólise muscular, com oxidação periférica de certos aminoácidos. É importante assinalar que a infusão de TNF- α , em humanos e animais de experimentação, induziu um estado hipermetabólico nítido, com estimulação do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal⁽²²⁾. Os efeitos metabólicos observados, após a administração de TNF- α incluem: o aumento do gasto energético de repouso, da neoglicogênese hepática, da lipólise e da taxa de catabolismo protéico global.

Conforme salientado anteriormente, as características endocrinometabólicas do hipermetabolismo incluem um aumento exagerado do gasto energético de base, do consumo de oxigênio (VO_2), do débito cardíaco, da produção de CO_2 (VCO_2) e do uso de nutrientes nobres como substrato energético. O estado hiperdinâmico, usualmente, revela o início do quadro. O evento debutante é a diminuição da resistência vascular periférica, associada ao aumento do débito cardíaco. Nessa fase, a expansão volêmica é a parte mais

importante do tratamento, porém, quando o volume do espaço intravascular não é mantido, desenvolve-se rapidamente uma queda da performance miocárdica. A extração periférica tecidual de oxigênio, por unidade de volume de sangue, diminui. Esse desvio (*shunt*) periférico acarreta numa redução marcante da diferença alveoloarterial de oxigênio. O efeito provocado por tais alterações é o aumento do fluxo visceral e muscular, com incremento da VO_2 . No início da disfunção de órgãos, esse estado hiperdinâmico persiste, sendo muito difícil estabelecer a fronteira exata entre um evento e outro. A VO_2 e o débito cardíaco podem atingir valores máximos de, respectivamente, 320 mL/min e 12 L/min. Se houver progressão do quadro para síndrome de disfunção de órgãos, ocorrerá uma queda drástica desses valores e a resistência vascular periférica aumentará.

O coeficiente respiratório ($QR = VCO_2/VO_2$) ultrapassa 0,8, situando-se num nível superior àquele observado na desnutrição (0,7) e inferior à queima da glicose (1,0). Embora existam muitas controvérsias, na literatura, esses números parecem indicar a utilização mista de nutrientes. Na fase final da síndrome de disfunção de múltiplos órgãos, o QR pode ser superior a 1,0, indicando a ocorrência de discreta lipogênese. Embora a captação de glicose seja normal, sua taxa de utilização celular, como energia, está prejudicada. Creditava-se a esse fato, no passado, ao provável, porém não confirmado, bloqueio da atividade da enzima piruvato desidrogenase, em virtude da anaerobiose celular⁽²³⁾. Porém, mais recentemente, através de infusões contínuas de [6,6-²H₂] glicose e de [1-¹³C]lactato, demonstrou-se que a acidose láctica, observada nos pacientes sépticos, é resultado do aumento exagerado do fluxo do piruvato, que é convertido a lactato, e não a possíveis déficits enzimáticos ou na disponibilidade de oxigênio intracelular⁽²⁴⁾. Com a progressão do quadro, a neoglicogênese e a formação de lactato e de piruvato aumentam (Figura 2). Wolfe et al.⁽²⁵⁾ acreditam que o aumento do lactato intracelular atua como mecanismo de defesa, pois uma queda do pH para 6,8-6,9 pode incrementar a captação celular de oxigênio. No entanto, níveis de lactato sérico, persistentemente elevados (> 2 mEq/L), têm sido relacionados ao aumento de mortalidade desses pacientes⁽²⁶⁾.

O metabolismo periférico dos triglicerídios é afetado em função da enzima lipase lipoprotéica e da carnitina intramitocondrial, ambas diminuídas no paciente crítico. Outra característica interessante do hipermetabolismo é a perda da auto-regulação endocrinometabólica, usualmente preservada na desnutrição



prolongada. Assim, por exemplo, a glicose não é capaz de reduzir a neoglicogênese e a lipólise.

A economia de nitrogênio é caracterizada pela redução da síntese de proteínas da massa magra, e pelo aumento na sua síntese hepática. Porém, existe uma predominância do catabolismo muscular. O resultado final no desequilíbrio do balanço anabolismo-catabolismo é o aumento sérico da uréia, creatinina, amônia e ácido úrico, que são excretados, em excesso, na urina. Essas alterações podem ser parcialmente revertidas com a administração exógena de aminoácidos, porém em doses muito maiores do que aquelas normalmente preconizadas pelas organizações internacionais⁽²⁷⁾. A oxidação dos aminoácidos não é uniforme no hipermetabolismo, pois os aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina) são, por exemplo, muito mais utilizados dos que os aminoácidos aromáticos (fenilalanina e tirosina), preferencialmente pelos tecidos periféricos (tecido muscular). Com a progressão da disfunção de múltiplos órgãos, a azotemia pré-renal instala-se e o catabolismo protéico muscular excede largamente o anabolismo hepático e muscular (Figura 3). Nos pacientes incapazes de manter o “pool” protéico, mesmo a partir da administração de aminoácidos exógenos, a mortalidade eleva-se muito.

Essas alterações podem produzir inúmeras variantes clínicas, todas de elevada morbidade, dependendo do fator etiológico e do processo desencadeante, do estado nutricional prévio do paciente, do tipo de complicação predominante e da qualidade dos fornecidos cuidados de suporte de vida, avançado.

1.1. A importância da determinação do consumo de oxigênio no trauma e na sepse

As alterações orgânicas, no pós-trauma ou na sepse, originam um desequilíbrio entre a oferta (DO_2) e o consumo de oxigênio (VO_2) pelos diferentes tecidos orgânicos. Em ambientes especializados, como nas unidades de terapia intensiva, é de crucial importância determinar-se, com precisão, certos parâmetros fisiológicos, indicadores do nível de oxigenação tecidual, sobretudo a VO_2 , permitindo o norteamto de decisões terapêuticas, nos pacientes críticos, admitidos nessas unidades.

A VO_2 reflete o estado metabólico de todo o organismo e não apenas de determinados tecidos localizados. A determinação do VO_2 no paciente crítico, é considerada um dos parâmetros fisiológicos mais importantes, uma vez que existe uma relação entre o seu valor e a taxa de sobrevivência do paciente⁽²⁸⁾.

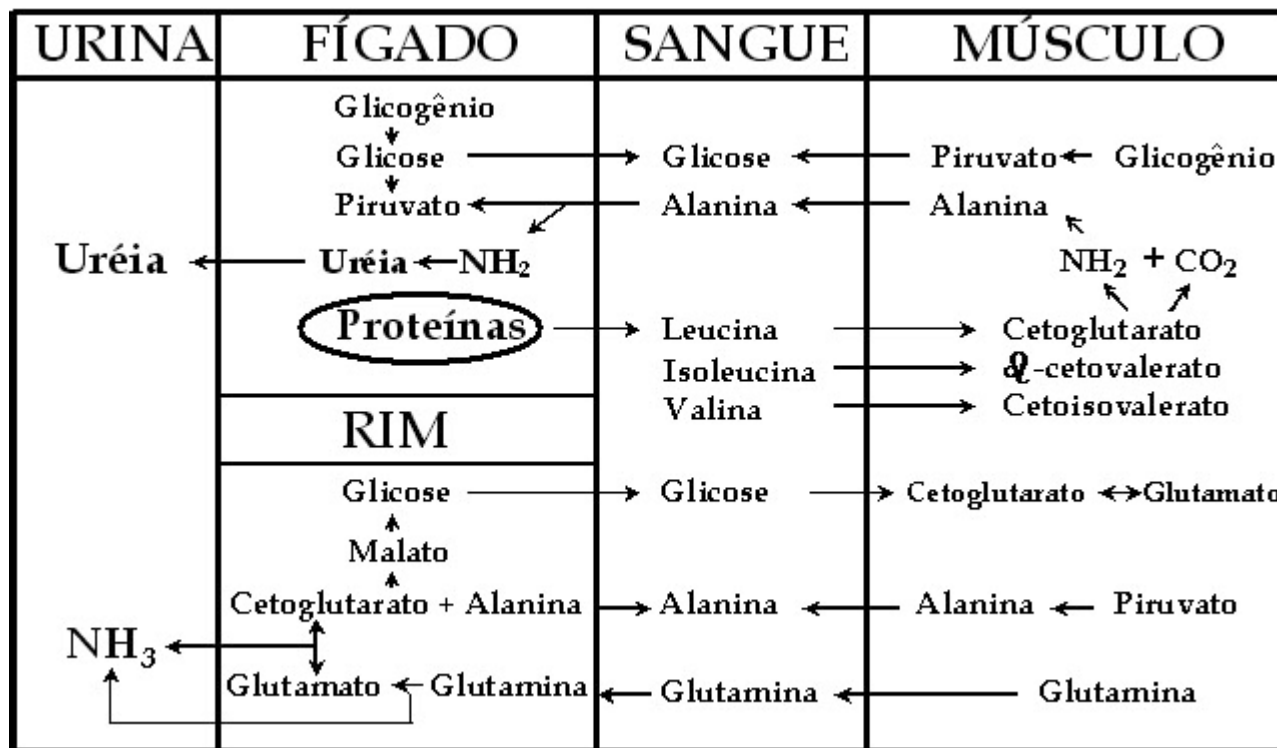


Figura 3: Resposta metabólica ao hipermetabolismo, com destaque aos ciclos de alanina-uréia, síntese “de novo” da alanina, a partir dos aminoácidos de cadeia ramificada e as relações entre a alanina e a glutamina com a neoglicogênese.

Existem dois métodos possíveis de monitorização da VO₂ nos pacientes críticos. Um dos métodos mais utilizados é invasivo, obtido através da inserção do cateter triluminal de Swan-Ganz, na artéria pulmonar, por punção venosa subclávia ou jugular. O segundo método de monitorização da VO₂ é não invasivo, sendo obtido através da calorimetria indireta, onde a VO₂ é obtida, imediatamente, à beira do leito. O valor normal de VO₂ situa-se entre 180 a 300 mL/min, podendo, também, ser indexado à superfície corpórea do paciente.

O método da medida de VO₂ através do cateter de Swan-Ganz baseia-se no princípio de Fick ou termodiluição, onde os cálculos são efetuados a partir da diferença entre a temperatura do sangue do paciente e da injeção de uma solução gelada, através do cateter. Muitas limitações são imputadas ao seu uso, tais como: o custo elevado e o caráter invasivo do procedimento; uma subestimação do consumo total de oxigênio em 10%, em pacientes com infecções pulmonares, pois esse método não leva em conta o consumo pulmonar de oxigênio⁽²⁹⁾ e a limitação dos cálculos pela possibilidade de erros matemáticos cumulativos (“mathematical coupling”), pois o cálculo da VO₂ utiliza, em sua equação, diversas variáveis, provenientes de outras equa-

ções, como, por exemplo, o débito cardíaco, o conteúdo arterial e venoso de oxigênio^(30, 31).

A calorimetria indireta é o método não invasivo mais preciso de medição da VO₂, utilizado largamente, à beira do leito, no paciente crítico. Denomina-se calorimetria indireta a medida da produção de energia pelo organismo, ao oxidar os três nutrientes básicos (carboidratos, lipídios e proteínas), por meio da quantidade de oxigênio consumido e dióxido de carbono produzido⁽³²⁾. O calorímetro é um aparelho simples, do tipo “circuito aberto”, que possibilita a respiração do paciente com ar ambiente ou pode ser conectado a um respirador; nos dois casos, amostras do gás inspirado/expirado são coletadas pelo aparelho para análise da fração do CO₂ no ar expirado, da fração de O₂ no ar in e expirado e dos fluxos in e expiratório. A partir da análise desses parâmetros, o consumo de oxigênio (VO₂) e a produção de dióxido de carbono (VCO₂) são medidos. Além disso, a partir dos parâmetros, o calorímetro efetua uma série de medidas importantes, como o coeficiente respiratório e o gasto energético de repouso, através da equação clássica de Weir, cujas técnicas foram descritas detalhadamente em outras publicações^(33, 34, 35).

Embora vários estudos comparativos tenham apontado uma diferença significativa entre o VO_2 obtido pelo método de Fick e pela calorimetria indireta, em pacientes críticos, uma atenção especial deve ser dada à interpretação dos resultados obtidos através da calorimetria indireta^(36, 37, 38). Dessa maneira, deve-se proceder a calibrações freqüentes do aparelho e impedir a possibilidade de qualquer vazamento de gás no circuito, pois todo o volume expirado do paciente deve ser recolhido pelo aparelho e, finalmente, as medidas de VO_2 necessitam ser repetidas através do tempo, uma vez que o momento metabólico de cada paciente pode ser modificado, em virtude da gravidade do quadro clínico e das diferentes intervenções terapêuticas efetuadas.

Embora não existam estudos comparativos nos pacientes críticos, em nosso meio, os diferentes estudos assinalados acima, apesar das vantagens e desvantagens dos dois métodos de determinação da VO_2 (Fick vs. Calorimetria), recomendam o uso da calorimetria indireta, como método mais seguro, mais preciso, não invasivo, menos oneroso e quase isento de complicações.

1.2. A Importância da determinação do grau de perfusão esplâncnica

No trauma ou na sepse, a presença de um débito cardíaco normal ou mesmo elevado não evita a isquemia intestinal, em virtude da redistribuição anormal do fluxo sanguíneo⁽³⁹⁾. Por essa razão, a isquemia intestinal, no paciente crítico, tem sido responsabilizada pela passagem de microorganismos da flora nativa da luz intestinal para a corrente circulatória (translocação bacteriana), surgindo a hipótese de que o intestino seria o órgão mantenedor da sepse, mesmo após a eliminação do foco infeccioso inicial⁽⁴⁰⁾. Assim sendo, a monitorização da perfusão regional, intestinal com a tonometria gástrica é importante na avaliação dessa perfusão, sobretudo na evolução e no prognóstico do trauma grave e da sepse. A medida do pH intramucoso gástrico, obtido através da tonometria, pode ser utilizada precocemente como parâmetro da oxigenação tecidual, regional, permitindo uma intervenção apropriada na ressuscitação fluidica e na administração de agentes vasoativos^(41, 42).

A tonometria gástrica avalia a oxigenação esplâncnica através de um tonômetro, similar à sonda nasogástrica, porém dotado de um balão de silicone em sua extremidade distal, permeável aos gases. Esse balão é preenchido com solução salina isotônica e dei-

xado no lúmen gástrico por cerca de uma hora, para que a PCO_2 da solução equilibre-se com a PCO_2 da luz gástrica. A difusão do CO_2 ocorre livremente, através da membrana das células parietais gástricas, e o equilíbrio é estabelecido com o fluido intraluminal e com a solução do balão do tonômetro. Após o equilíbrio ter sido estabelecido, uma amostra da solução salina é aspirada do balão e a sua PCO_2 é determinada por um analisador de gases, convencional. Uma amostra de sangue arterial é colhida concomitantemente e sua concentração de bicarbonato (HCO_3^-) é conhecida e o pH intramucoso é determinado pela equação de Henderson-Hasselbalch modificada. Assume-se, *a priori*, que as concentrações de bicarbonato, no fluido intracelular da mucosa gastrintestinal e no capilar sanguíneo, estão em equilíbrio, sendo iguais ao valor do bicarbonato, na amostra de sangue arterial⁽⁴³⁾.

Friedman et al.⁽⁴²⁾ demonstraram, em 1995, que a evolução temporal (admissão e 24 horas após a admissão) do pH intramucoso, associado à concentração do lactato sérico, pode ser utilizada como um indicador prognóstico, tendo observado uma maior mortalidade, de pacientes críticos, sobretudo se o lactato sérico for persistentemente superior a 2 mEq/L e o pH intramucoso inferior a 7,32.

1.3. A importância da determinação da fração de recuperação do ^{13}C bicarbonato no ar expirado na cinética do metabolismo aminoácido

A administração intravenosa, em dose única (Bolus) de $NaH^{13}CO_2$, em conjunção com um aminoácido marcado, é de particular relevância nos estudos isotópicos que envolvem o metabolismo do aminoácido estudado, em virtude da interligação entre o *pool* do bicarbonato e a oxidação desse aminoácido. Além disso, a administração intravenosa, em dose única, faz com que a concentração de $^{13}CO_2$ atinja um platô (*steady-state*) em duas horas, facilitando a sua detecção (dosagem), a partir dos valores basais e incorporação de seus valores nos cálculos de produção total de CO_2 e na taxa de oxidação do determinado aminoácido.

No entanto, uma fração variável de 52 a 95%⁽⁴⁴⁾ e de $89,9 \pm 2,6\%$ ⁽⁴⁵⁾ do ^{13}C bicarbonato, administrado em indivíduos saudáveis ou pacientes críticos, respectivamente, é recuperado como $^{13}CO_2$ no ar expirado. Contudo, o restante é retido pelo organismo, por várias razões, justificando, assim, um estudo prévio dessa fração de recuperação de $^{13}CO_2$ no ar expirado, através da infusão intravenosa, contínua, de $NaH^{13}CO_2$. Den-

tre essas razões, destacam-se: o dióxido de carbono isotópico ($^{13}\text{CO}_2$) pode ser incorporado na síntese de uréia, sendo eliminado pela urina ou retido no organismo por tempo indeterminado⁽⁴⁶⁾. As perdas urinárias de $^{13}\text{CO}_2$, incorporado na uréia, são estimadas em 3 a 4% do total do fluxo de bicarbonato; o $^{13}\text{CO}_2$ pode, também, ser utilizado em etapas intermediárias do metabolismo do oxaloacetato ou malato⁽⁴⁷⁾; o $^{13}\text{CO}_2$ pode fazer parte de troca do sistema do bicarbonato ósseo, contribuindo para o aumento da sua concentração no compartimento ósseo, com conseqüente diminuição de seu fluxo plasmático. Na verdade, Poyart et al.⁽⁴⁸⁾, em 1975, demonstraram que 7 a 10% do ^{13}C bicarbonato, infundido em ratos, eram retidos no esqueleto, e o modelo experimental baseou-se numa infusão de $\text{NaH}^{14}\text{CO}_2$, com 120 minutos de duração; o tempo de infusão de bicarbonato parece influenciar o grau de recuperação do $^{13}\text{CO}_2$ no ar expirado, pois em infusões de longa duração (12 a 36 horas) existe uma tendência de equilíbrio isotópico do $^{13}\text{CO}_2$ e de todos os compartimentos orgânicos; a diferença, na taxa metabólica dos diversos grupos de indivíduos estudados, em condições experimentais, dissimilares. Wolfe⁽⁴⁹⁾, em 1984, demonstrou que o exercício físico moderado e prolongado aumenta a fração do bicarbonato de 78 a 98%; e, finalmente, o padrão de recuperação do $^{13}\text{CO}_2$, no ar expirado, pode ser variável por alterações interindividuais ou em situações orgânicas especiais, como a obesidade⁽⁵⁰⁾.

Apesar dos estudos em pacientes críticos (trauma e/ou sepse) serem escassos, alguns relatos apontam para o fato de que a recuperação do $^{13}\text{CO}_2$, no ar expirado, varia com a gravidade do quadro clínico e com o estado nutricional prévio dos pacientes. Assim, foram observadas amplas variações no padrão de recuperação do dióxido de carbono isotópico, nesses pacientes, da ordem de 78⁽⁴⁵⁾ a 100%⁽⁵¹⁾.

Nesse particular, não existem publicações, no nosso meio, que indiquem qual é a variação do padrão de recuperação do dióxido de carbono isotópico ($^{13}\text{CO}_2$ ou $^{14}\text{CO}_2$) no ar expirado do paciente crítico, vítima de trauma ou de sepse.

Finalmente, a importância de estimar-se, com precisão, a fração de recuperação do $^{13}\text{CO}_2$, no ar expirado, num determinado grupo de pacientes, submetidos a um modelo experimental sobre a cinética protéica corpórea global, utilizando a ^{13}C -leucina como marcador, está ligada ao fato de a fração de recuperação ser utilizada como fator de correção no cálculo da taxa de oxidação desse aminoácido.

1.4. A importância da determinação da cinética protéica corpórea Global, através do metabolismo da ^{13}C -Leucina, no trauma e na sepse

Schoenheimer et al.⁽⁵²⁾, em 1939, utilizaram sessenta anos atrás, pela primeira vez, o isótopo estável ^{15}N , na tentativa de elucidar parte do metabolismo protéico no homem. A partir desse trabalho clássico e pioneiro, uma infinidade de investigações clínicas e em animais foram conduzidas, no sentido de explorar a cinética do metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas.

Entre as décadas de 50 e 60, no entanto, enquanto as técnicas de administração de isótopos radioativos estavam muito ativas em todos os campos de aplicação, sobretudo na pesquisa ou diagnóstico em Biologia, Medicina e Cirurgia, os maiores usuários dos isótopos estáveis ou não radioativos, pela sua inocuidade, eram os investigadores da área de nutrição. Várias razões justificaram o emprego de isótopos estáveis em nutrição, dentre as quais destacam-se: a dinâmica da interação dos nutrientes metabolicamente ativos com os seus locais de reserva foi, primeiramente, explorada e melhor compreendida através do uso de isótopos estáveis⁽⁵³⁾; seu emprego, sobretudo clínico, era seguro e absolutamente inócua, sendo o isótopo ^{15}N mais conveniente na exploração do metabolismo nitrogenado orgânico; a proibição formal do uso de substâncias radioativas, em populações desnutridas, para quem se aguardava, ansiosamente, a utilização de marcadores biológicos, atóxicos e rapidamente eliminados pelo organismo, para a exploração detalhada do seu metabolismo, e a melhor compreensão desse estado fisiopatológico e posterior tratamento.

É importante ressaltar as diferenças entre os isótopos estáveis (não radioativos) e os instáveis (radioativos). As propriedades de um elemento são determinadas pelo número de prótons do seu núcleo, enquanto a massa atômica depende do número de prótons e nêutrons. Cada elemento, por exemplo, o carbono, pode ter várias formas isotópicas, que apresentam as mesmas características químicas, mas, que, pelo fato de possuírem o mesmo número de nêutrons, têm diferentes massas. Certos isótopos, como o ^{14}C , são radioativos e se desintegram através do tempo, perdendo massa e emitindo partículas nocivas aos seres biológicos. Por outro lado, outros isótopos, como o ^{13}C , não se desintegram, sendo, portanto, constantemente estáveis. O termo isótopo estável é comumente utilizado para designar essa forma pouco abun-

dante de isótopos pesados, não radioativos e, portanto, inofensivos aos seres humanos. A incorporação dos isótopos estáveis, em moléculas de interesse biológico, permite sua larga utilização em experimentos, tendo, como objeto, o homem, de qualquer raça e idade, sem submetê-lo, contudo, a nenhuma forma de exposição radioativa.

Apesar das vantagens mencionadas acima, o emprego de certos isotopômeros foi restringido em virtude da limitada disponibilidade desses isótopos estáveis, assim como as dificuldades técnicas envolvidas em suas análises quantitativas. Porém, nessas duas últimas décadas, a situação mudou drasticamente. Esses obstáculos iniciais foram ultrapassados graças ao advento da análise de compostos estáveis específicos (*Compound-Specific Isotope Analysis*), através da introdução da cromatografia gasosa, acoplada a um espectrometro de massa (*Gas Chromatography/Mass Spectrometry* - GCMS) com ionização por impacto de eletrons (*Selective Ion Monitoring* - SIM). Tal método de análise foi descrito por Matthews & Hayes, em 1978⁽⁵⁴⁾, que se valeram da técnica para a análise quantitativa dos isótopos de carbono. Desde então, vários isótopos, entre eles os de carbono, de oxigênio e de hidrogênio, têm sido empregados no estudo de substâncias de alta relevância fisiológica, como os ácidos graxos, os carboidratos e os aminoácidos⁽⁵⁵⁾.

Vários estudos, publicados na literatura médica dos últimos anos, destacaram o uso de isótopos estáveis no estudo do metabolismo protéico, cujas finalidades específicas são a evolução no esclarecimento do metabolismo dos aminoácidos no homem e o estabelecimento das necessidades básicas diárias desses nutrientes^(56/59).

O interesse em serem conhecidos as necessidades básicas diárias dos aminoácidos reveste-se de particular importância em saúde pública, cujo leque estende-se desde a elaboração dos protocolos de alimentação em determinados grupos populacionais, até situações fisiopatológicas complexas como, por exemplo, no trauma e na sepse.

Dessa maneira, uma extensa série de investigações, utilizando a administração intravenosa de isótopos estáveis, em protocolos de curta duração (oito horas), tornou-se o marco inicial na pesquisa de novos níveis de necessidades básicas diárias, no indivíduo adulto, jovem e saudável, de vários aminoácidos. As pesquisas de longa duração (24 horas) comprovaram os achados dessas investigações, à exceção dos aminoácidos aromáticos^(60, 61, 62).

Um dos métodos, utilizando isótopos estáveis, para estimar a cinética total corpórea das proteínas foi a administração de ¹⁵N-glicina⁽⁶³⁾. A validação do método exige a assunção de várias hipóteses, tais como: o *pool* metabólico de nitrogênio (N) deve ser único; a glicina penetra igualmente em todos os compartimentos do organismo onde existe nitrogênio; deve existir proporção constante entre o N da glicina e o dos outros aminoácidos, em todo o organismo, e, durante o experimento, não deve existir reciclagem do N marcado.

Várias críticas surgiram após o emprego desse marcador protéico, e as maiores dificuldades de utilização do método repousam no fato de assumir-se a sua distribuição equitativa em todos os compartimentos, como se o organismo fosse um único compartimento (teoria do *single pool*). Na verdade, a glicina não tem distribuição uniforme no plasma e nem possui fluxo celular similar, como, por exemplo, nas hemácias⁽⁶⁴⁾. Além disso, ao utilizar-se a ¹⁵N-glicina, as condições metodológicas devem ser absolutamente pré-definidas e invariáveis, com grupos-controle adequados e critérios experimentais rigorosos, sob pena de verificarem-se resultados diferentes daqueles obtidos com outros marcadores protéicos⁽⁶⁵⁾.

Em virtude da inconstância nos resultados observados com o emprego da ¹⁵N-glicina e com o advento das técnicas de GCMS, mais precisas, que permitiram determinar o enriquecimento de produtos intermediários do metabolismo, em concentrações de nanomols a ¹³C-leucina e o seu metabólito, o ¹³C-acetoisocaproato (¹³C-KIC) começaram a ser mais empregados, como marcadores biológicos da cinética do metabolismo protéico, corpóreo, total, possibilitando cálculos mais acurados da síntese e da degradação protéica, em todas as situações clínicas, mesmo nos pacientes críticos.

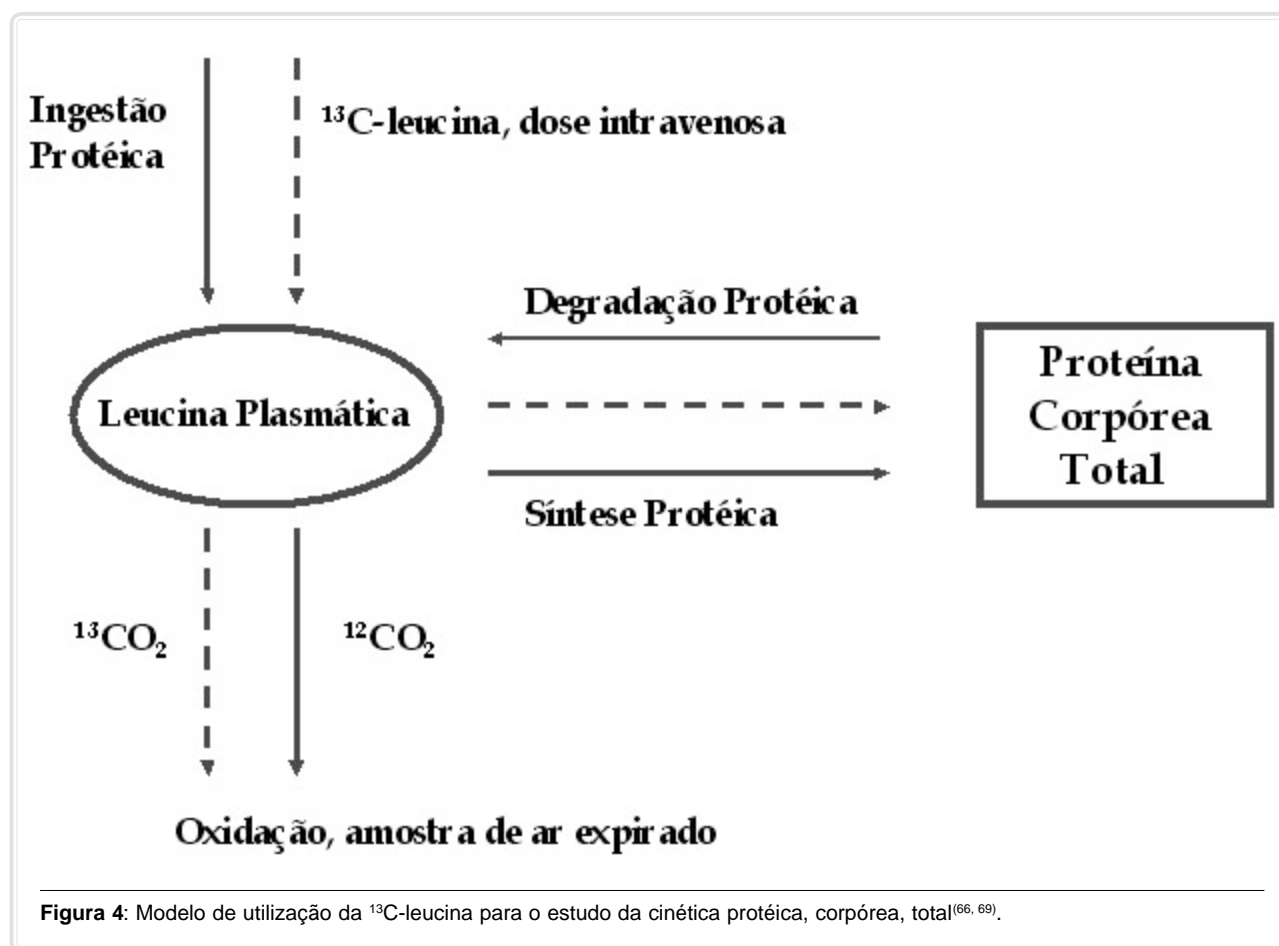
O uso da ¹³C-leucina, como marcador protéico, tem, também, embora menores do que a ¹⁵N-glicina, suas limitações; algumas hipóteses devem ser aceitas para validar a interpretação dos resultados obtidos, tais como: o isotopômero (¹³C-) não é reciclado durante a realização do experimento, ou seja, a única fonte de substância marcada é proveniente de sua própria administração exógena; o enriquecimento plasmático é semelhante ao intracelular. No caso da leucina, o enriquecimento plasmático é sempre maior do que o celular, razão pela qual se recomenda a utilização do seu metabólito transaminado intracelular, o ¹³C-acetoisocaproato (¹³C-KIC), para fins de cálculos de sua oxidação⁽⁶⁶⁾. Além disso, o enriquecimento intracelular do

^{13}C -KIC é semelhante ao da ^{13}C -leucina-t-RNA, no tecido muscular, resultando numa estimativa apropriada da síntese protéica ⁶⁷); a fração de recuperação deve ser estimada para o grupo específico de pacientes investigados, em estudos com infusão intravenosa e contínua de $\text{NaH}^{13}\text{CO}_2$, conforme foi salientado acima; a utilização de qualquer aminoácido essencial marcado deve fornecer resultados comparáveis. Apesar de a leucina ser oxidada, de maneira preferencial, na musculatura esquelética e a fenilalanina, no fígado, ambas permitem o cálculo da cinética protéica corpórea global, sendo os resultados semelhantes; enfim, o método que emprega a leucina, como aminoácido marcado, vem sendo utilizado, há mais de 20 anos. Um de seus pontos mais fortes repousa no fato de se apoiar em cálculos matemáticos consistentes e ser estocástico, isto é, ser baseado em compartimentos corpóreos bem definidos e constantes⁽⁶⁸⁾. A leucina é um aminoácido essencial, proveniente da dieta ou da degradação endógena de proteínas. Por outro lado, a leucina é oxida-

da de maneira irreversível a CO_2 ou incorporada em proteína, via síntese protéica, donde a administração intravenosa de ^{13}C -leucina é utilizada para fins de cálculo da cinética protéica, corpórea, total (Figura 4).

Existem poucos relatos, na literatura nacional que verse sobre o emprego de isótopos estáveis em Medicina⁽⁶⁹⁾, assim como, mesmo na literatura internacional, do uso da ^{13}C -leucina no paciente grave^(70, 71) ou submetido a estresse cirúrgico importante⁽⁷²⁾, para fins de cálculo da cinética protéica, corpórea, global, sendo de crucial importância o conhecimento, em nosso meio, do perfil de cinética protéica, global, de pacientes críticos, estratificado em diferentes grupos de gravidade.

Finalmente, todos os procedimentos envolvidos na monitorização dos parâmetros fisiológicos e metabólicos, utilizados atualmente, no trauma e na sepse, são importantes para nortear as tomadas de decisões terapêuticas e devem ser levados em consideração, no âmbito das unidades de terapia intensiva.



BASILE-FILHO A; SUEN VMM; MARTINS MA; COLETTI FA & MARSON F. Trauma and sepsis metabolic response monitoring. *Medicina, Ribeirão Preto*, **34**: 5-17, jan./march 2001.

ABSTRACT: Sepsis, trauma, systemic inflammatory response syndrome and multiple organ dysfunction syndrome cause hypermetabolism, which is the principal factor for high mortality in critical ill intensive care unit patients. The hypermetabolism evolution, probably connected to the release of the mediators and metabolites, ends up impairing the metabolism of several organs. By the reasons mentioned above, and due to the extreme concern in understanding the metabolism in critical ill patients, this paper evaluates the different aspects in monitoring the physiological parameters in patients with metabolic stress. These aspects are the oxygen consumption, and the splanchnic perfusion, linked with the lactate plasma and the protein turnover by means of the intravenous infusion of ^{13}C -leucine (stable isotopes).

UNITERMS: Wounds and Injuries. Sepsis. Multiple Organ Failure. Amino Acids; metabolism. Cytokines. Monitoring, Physiologic.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - WAXMAN K. Physiologic response to injury. In: SHOEMAKER WC. *Textbook of critical care*. 3th ed. WB Saunders, Philadelphia, p. 1395-1402, 1995.
- 2 - HILL AG & HILL GL. Metabolic response to severe injury. *Br J Surg* **85**: 884-890, 1998.
- 3 - CUTHBERTSON DP. Post-shock metabolic response. *Lancet* **I**: 433-437, 1942.
- 4 - KNAUSS WA; DRAPPER EA; WAGNER DP & ZIMMERMAN JE. APACHE II: A severity of disease classification system. *Crit Care Med* **13**: 818-829, 1985.
- 5 - ELEBEUTE EA & STONER HB. The grading of sepsis. *Br J Surg*, **70**: 29-31, 1983.
- 6 - AMERICAN COLLEGE OF CHEST PHYSICIANS. Society of Critical Care of Medicine. Consensus Conference : Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* **101**:1644-1655, 1992.
- 7 - COLEY WB. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas: with a report of ten original cases. *Am J Med Sci* **105**: 487-511, 1893.
- 8 - BEUTLER B; GREENWALD D; HULMES JD; CHANG M; PAN YC; MATHINSON J & CERAMI A. Identity of tumor necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature* **316**: 552-554, 1985.
- 9 - WAAGE A; HALSTENSEN A & ESPEVIK T. Association between tumor necrosis factor in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. *Lancet* **I**: 355-357, 1987.
- 10 - GIRARDIN E; GRAU GE; DAYER J & ROUX-LOMBARD P. Tumor necrosis factor and IL 1 in the serum of children with severe infectious purpura. *N Engl J Med* **319**: 397-400, 1988.
- 11 - DAMAS P; REUTER A; GYSEN P; DEMONTY J; LAMY M & FRANCHIMONT P. Tumor necrosis factor and interleukin-1 serum levels during in sepsis in humans. *Crit Care Med* **17**: 975-978, 1989.
- 12 - CASEY LC; BALK RA & BONE RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlates with survival in patients with sepsis syndrome. *Ann Intern Med* **119**: 771-778, 1993.
- 13 - GARDLUND B; SJOLIN J; NILSON A; ROLL M; WICKERTS C & WRETLIND B. Plasma levels of cytokines in primary septic shock in humans: correlation with disease severity. *J Infect Dis* **172**: 296-301, 1995.
- 14 - XING Z; GAULDIE J; COX G; BAUMANN H; JORDANA M; LEI X & ACHONG MK. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest* **101**: 3110-3120, 1998.
- 15 - MARCHANT A; DEVIÈRE J; BYL B; DE GROOTE D; VINCENT J & GOLDMAN M. Interleukin-10 production during septicemia. *Lancet* **343**: 707-708, 1994.
- 16 - HOWARD M & O'GARRA M. Biological properties of interleukin 10. *Immunol Today* **13**: 198-200, 1992.
- 17 - DINARELLO CA. Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Chest* **112**: 321S-329S, 1997.
- 18 - GOODE HF; HOWDLE PD; WALKER BE & WEBSTER NR. Nitric oxide synthase activity is increased in patients with sepsis syndrome. *Clin Sci* **88**: 131-133, 1995.
- 19 - KETTELER M; CETTO C; KIRDOF M; JESCHEKE GS; SCHAFER JH & DISTLER A. Nitric oxide in sepsis-syndrome: Potential treatment of septic shock by nitric oxide synthase antagonists. *Kidney Int* **53**: S27-30, 1998.
- 20 - CUNHA FQ & TAMASHIRO WMSC. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-8 inhibit neutrophil migration in vitro and in vivo. *Med Inflamm* **1**:397-401, 1992.
- 21 - TAVARES-MURTA BM; CUNHA FQ & FERREIRA SH. The intravenous administration of tumor necrosis factor alpha, interleukin 8 and macrophage-derived neutrophil chemotactic factor inhibits neutrophil migration by stimulating nitric oxide production. *Br J Pharmacol* **124**: 1369-1374, 1998.
- 22 - STARNES HF Jr; WARREN RS; JEEVANANDAM M; GABRILOVE JL; LARCHIAN W & OETTGEN HF. Tumor necrosis factor and the acute metabolic response to injury in man. *J Clin Invest* **82**: 1321-1325, 1988.
- 23 - VARY TC; SIEGEL JH & TALL B MORRIS JG. Role of anaerobic bacteria in intra-abdominal septic abscesses in mediating septic control of skeletal muscle glucose oxidation and lactic acidemia. *J Trauma* **29**: 1003-1010, 1989.

- 24 - GORE DC; JAHOOR F; HIBBERT JM & DEMARIA EJ. Lactic acidosis during sepsis is related to increased pyruvate production, not in tissue oxygen availability. **Ann Surg**, **224**: 97-102, 1996.
- 25 - WOLFE RR; JAHOOR F; HERNDON DN & MIYOSHI H. Isotopic evaluation of the metabolism of pyruvate and related substrates in normal and adult volunteers and severely burned children: effect of dichloroacetate and glucose infusion. **Surgery** **110**: 54-66, 1991.
- 26 - BAKKER J. Blood lactate levels are superior to oxygen-derived variables in predicting outcome in human septic shock. **Chest** **99**: 956-962, 1991.
- 27 - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. WORLD HEALTH ORGANIZATION. UNITED NATIONS UNIVERSITY (FAO/WHO/UNU). Energy and protein requirements. Report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. **World Health Organ Tech Rep Ser** **724**, 1985.
- 28 - SHOEMAKER W & KRAM H. Oxygen transport measurements to evaluate tissue perfusion and titrate therapy: dobutamine and dopamine effects. **Crit Care Med** **16**: 672-688, 1991.
- 29 - LIGHT B. Intrapulmonary oxygen consumption in experimental pneumococcal pneumonia. **J Appl Physiol** **64**: 2490-2495, 1988.
- 30 - RONCO J; PHANG T & WALLEY K. Oxygen consumption is dependent of changes in oxygen delivery in severe adult respiratory distress syndrome. **Am Rev Respir Dis** **143**: 1267-1273, 1991.
- 31 - YU M; BURCHELL S; TAKIGUCHI SA & McNAMARA JJ. The relationship of oxygen consumption measured by indirect calorimetry to oxygen delivery in critically ill patients. **J Trauma** **41**: 41-50, 1996.
- 32 - FERRANNINI E. The theoretical basis of indirect calorimetry. **Metabolism** **37**: 287-301, 1988.
- 33 - FRAYN KN. Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. **J Appl Physiol** **55**: 628-634, 1983.
- 34 - SIMONSEN DC & DEFONZO R. Indirect calorimetry: methodological and interpretative problems. **Am J Physiol** **258**: E399-E412, 1990.
- 35 - SUEN VMM; DA SILVA GA & MARCHINI JS. Determinação do metabolismo energético no homem. **Medicina**, Ribeirão Preto, **31**: 13-21, 1998.
- 36 - BRACCO D; CHIOLÉRO R; PASCHE O & REVELLY JP. Failure in measuring gas exchange in the ICU. **Chest** **107**: 1406-1410, 1995.
- 37 - CHIOLÉRO R; MAVROCORDATOS P; BRACCO D; SCHUTZ Y; CAYEUX C & REVELLY JP. O₂ consumption by the Fick method. **Am J Respir Crit Care Med** **149**: 1118-1122, 1994.
- 38 - MATARESE L. Indirect calorimetry: Technical aspects. **J Am Diet Assoc** **97**: S154-S160, 1997.
- 39 - TAKALA J. Splanchnic perfusion in shock. **Intens Care Med** **20**: 403-404, 1994.
- 40 - BORGES LAA. Choque séptico. **Clin Bras Med Intens** **1**: 101-107, 1996.
- 41 - RUSSEL JA. Gastric tonometry: does it work? **Intens Care Med** **23**: 3-6, 1997.
- 42 - FRIEDMAN G; BERLOT G; KAHN RJ & VINCENT JL. Combined measurements of blood lactate concentrations and gastric intramucosal pH in patients with severe sepsis. **Crit Care Med** **23**: 1184-1193, 1995.
- 43 - ARNOLD J; HENDRIKS J; INCE C & BRUINING, H. Tonometry to assess the adequacy of splanchnic oxygenation in the critically ill patient. **Intens Care Med** **20**: 452-456, 1994.
- 44 - HOERR RA; YU YM; WAGNER DA; BURKE JF & YOUNG VR. Recovery of ¹³CO₂ in breath from NaH¹³CO₂ infused by gut and vein: effect of feeding. **Am J Physiol** **257**: E426-438, 1989.
- 45 - TISSOT S; BERTRAND D; NORMAND S; BOUFFARD Y; ANNAT G; VIALE JP; PACHIAUDI C; RIOU JP & MOTIN J. Recovery of [¹³C] bicarbonate as respiratory ¹³CO₂ in mechanically ventilated patients. **Am J Clin Nutr** **57**: 202-206, 1993.
- 46 - ELIA M; FULLER M & MURGATROP P. The potential use of labelled bicarbonate method for estimating energy expenditure in man. **Proc Nutr Soc** **47**: 247-258, 1988.
- 47 - IRVING CS; WONG WW; SHULMAN RJ; SMITH EO & KLEIN PD. ¹³C bicarbonate kinetics in man: intra- vs interindividual variations. **Am J Physiol** **245**: R190-202, 1983.
- 48 - POYART CF; FREMINET A & BURSAUX E. The exchange of bone CO₂ in vivo. **Resp Physiol** **25**: 101-107, 1975.
- 49 - WOLFE RR. Radiosotope and stable isotope/mass spectrometry methods. **Methods Biol Med** **9**: 55-59, 1984.
- 50 - ELIA M & LEIJSSSEN DPC. Recovery of ¹³CO₂ and ¹⁴CO₂ in human bicarbonate studies: a critical review with original data. **Clin Sci** **91**: 665-677, 1996.
- 51 - JEEVANANDAM M; HOLADAY NJ & PETERSEN SR. Nutritional influence on the recovery of ¹⁴CO₂ in critically ill trauma patients. **Am J Physiol** **29**: E366-E371, 1994.
- 52 - SHOENHEIMER R; RATNER S & RITTENBERG J. Studies in protein metabolism. VII. The metabolism of tyrosine. **J Biol Chem** **127**: 333-345, 1939.
- 53 - SHOENHEIMER R. The dynamic state of body constituents. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 1942. 378p.
54. MATTHEWS DE & HAYES JM. Measurements of stable isotopes in nutrition. **Anal Chim** **50**: 1465-1479, 1978.
- 55 - MATTHEWS DE & BIER DM. Stable isotope methods for nutritional investigation. **Annu Rev Nutr** **3**: 309-339, 1983.
- 56 - YOUNG VR; BIER DM & PELLETT PL. A theoretical basis for increasing current estimates of the amino acid requirements in adult man, with experimental support. **Am J Clin Nutr** **50**: 80-92, 1989.
- 57 - YOUNG VR & MARCHINI JS. Mechanisms and nutritional significance of metabolic responses to altered intakes of protein and amino acids, with reference to nutritional adaptation in humans. **Am J Clin Nutr** **51**: 270-289, 1990.
- 58 - YOUNG VR. Adult amino acids requirements: the case for a major revision in current recommendations. **J Nutr** **124**: 1517S-1523S, 1994.
- 59 - YOUNG VR & EL-KHOURY AE. Can amino acid requirements for nutritional maintenance in adult humans be approximated from the amino acid composition of body mixed proteins? **Proc Natl Acad Sci USA** **92**: 300-304, 1995.
- 60 - SÁNCHEZ M; EL-KHOURY AE; CASTILLO L; CHAPMAN TE; BASILE-FILHO A; BEAUMIER L & YOUNG VR. Twenty-four-hour intravenous and oral tracer studies with L-[1-¹³C] phenylalanine and L-[3,3-²H₂]tyrosine at a tyrosine-free, generous phenylalanine intake in adults. **Am J Clin Nutr** **63**: 532-545, 1996.

- 61 - BASILE-FILHO A; EL-KHOURY AE; BEAUMIER L; WANG SY & YOUNG VR. Continuous Twenty-four-hour L-[1-¹³C]phenylalanine and L-[3,3-²H₂]tyrosine oral tracer studies at an "intermediate" phenylalanine intake, to estimate requirements in adults. **Am J Clin Nutr** **65**: 473-488, 1997.
- 62 - BASILE-FILHO A; BEAUMIER L; EL-KHOURY; YU YM; KENNEWAY M; GLEASON RE & YOUNG VR. Twenty-four-hour L-[1-¹³C]tyrosine and L-[3,3-²H₂]phenylalanine oral tracer studies at generous, intermediate, and low phenylalanine intakes to estimate aromatic amino acid requirements in adults. **Am J Clin Nutr** **67**: 640-659, 1998.
- 63 - WATERLOW JC; GOLDEN MH & GARLICK PJ. Protein turnover in man measured with ¹⁵N: comparison of end products and dose regimes. **Am J Physiol** **235**: E165-E174, 1978.
- 64 - DARMAUD D. Amino acid exchange between plasma and erythrocytes in vivo in humans. **J Appl Physiol** **67**: 2725-2729, 1989.
- 65 - FERN EB; GARLICK PJ & WATERLOW JC. Apparent compartmentation of body nitrogen in one human subject: its consequences in measuring the rate of whole body protein synthesis with ¹⁵N. **Clin Sci** **68**: 271-282, 1985.
- 66 - MATTHEWS DE. Relationship of plasma leucine and alpha-ketoglutarate during a L-[1-¹³C] leucine infusion in man: a method for measuring human intracellular leucine tracer enrichment. **Metabolism** **31**: 1105-1112, 1982.
- 67 - WATT PW. Isolation of aminoacyl tRNA and its labelling with stable isotope tracers used in studies of human tissue protein synthesis. **Proc Natl Acad Sci USA** **88**: 5892-5897, 1991.
- 68 - COBELLI C. Compartmental model of leucine kinetics in humans. **Am J Physiol** **261**: E539-E550, 1991.
- 69 - MARCHINI JS; BASILE-FILHO A; VANNUCCHI H; DARMAUD D & KREMPF M. Utilização de espectrometria de massa para o estudo do metabolismo protéico e aminoacídico, em medicina. **Medicina, Ribeirão Preto**, **30**: 494-507, 1997.
- 70 - YU YM; RYAN CM; BURKE JF; TOMPKINS RG & YOUNG VR. Relations among arginine, citrulline, ornithine, and leucine kinetics in adult burn patients. **Am J Clin Nutr** **62**: 960-968, 1995.
- 71 - YU YM; YOUNG VR & CASTILLO L. Plasma arginine and leucine kinetics and urea production rates in burn patients. **Metabolism** **44**: 659-666, 1995.
- 72 - CARLI F & HALLIDAY D. Effect of 48-h continuous epidural block with local anesthetics on leucine kinetics. **Reg Anesth** **21**: 430-435, 1996.

Recebido para publicação em 06/07/2000

Aprovado para publicação em 17/01/2001