

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

Instituto de Ciências Biomédicas

Laboratório de Ciências Fisiológicas

Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

MICHAEL BRIAN SANTIAGO

Avaliações neuroendócrinas e cardiovasculares
resultantes da expansão de volume sanguíneo durante
o choque séptico experimental.

Alfenas/MG
2010

MICHAEL BRIAN SANTIAGO

Avaliações neuroendócrinas e cardiovasculares
resultantes da expansão de volume sanguíneo durante
o choque séptico experimental.

Dissertação apresentada ao programa
Multicêntrico de Ciências Fisiológicas da
Universidade Federal de Alfenas-MG para
obtenção do título de mestre em Ciências
Fisiológicas. Orientador: Prof. Dr. Alexandre
Giusti-Paiva

Alfenas/MG
2010

Santiago, Michael Brian.
Avaliações neuroendócrinas e cardiovasculares resultantes da
expansão de volume sanguíneo durante o choque séptico experimental /
Michael Brian Santiago. -

Alfenas, 2010.

54 f. -

Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Universidade
Federal de Alfenas.
Bibliografia.

MICHAEL BRIAN SANTIAGO

**Avaliações neuroendócrinas e cardiovasculares resultantes da
expansão de volume sanguíneo durante o choque séptico
experimental.**

A banca examinadora abaixo-assinada aprova a dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal de Alfenas.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Giusti-Paiva

Aprovada em:

Prof. Dr. José Antunes Rodrigues

Instituição: FMRP/USP

Assinatura:

Prof. Dra. Carina A. F. de Andrade

Instituição: UNIFAL

Assinatura:

Prof. Dr. Alexandre Giusti Paiva

Instituição: UNIFAL

Assinatura:

Dedico esta tese de mestrado
aos meus pais, minha namorada e
meus amigos por tudo que
representam para mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que durante esse tempo contribuíram de diferentes formas para minha formação e desenvolvimento deste trabalho, em especial agradeço:

- A Deus, por iluminar sempre o meu caminho.
- Aos meus Pais e namorada por sempre me ajudarem e incentivarem nos momentos de maior dificuldade.
- Ao meu orientador, Prof. Dr. Alexandre Giusti Paiva, por acreditar no meu trabalho, pela amizade e por ser uma pessoa e um profissional exemplar, que me ajudou no meu desenvolvimento tanto profissional quanto pessoal.
- As discentes, Fabiana Cardoso Vilela, Luciana Costa Teodoro, Clarice Veloso Carvalho e Maria Ângela Rodrigues pela amizade e por compartilhar a maioria dos momentos vividos no laboratório, sempre com estudo, trabalho e alegria.
- Aos Docentes do laboratório de fisiologia pela amizade e ajuda.
- Aos Professores Dr. José Antunes Rodrigues e Dra. Carina A. F. de Andrade por fazerem parte da banca avaliadora.
- Aos técnicos e alunos de iniciação científica que de uma forma ou de outra sempre ajudaram no desenvolvimento do trabalho.
- Capes pelo apoio concedido em forma de bolsa.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	09
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	Reatividade vascular e produção de óxido nítrico no choque séptico	14
2.2	Vasopressina	16
2.3	Expansor de volume sanguíneo	17
3	JUSTIFICATIVA	20
4.	OBJETIVOS	21
4.1	Objetivos específicos	21
5	MATERIAL E MÉTODOS	22
5.1	Cirurgia	22
5.2	Medida invasiva da pressão arterial	23
5.3	Gasometria	23
5.4	Dosagem hormonal	23
5.5	Medida da reatividade vascular <i>in vitro</i>	23
5.6	Drogas	24
5.7	Análise estatística	24
6	PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	25
7	RESULTADOS	27
8	DISCUSSÃO	38
9	CONCLUSÃO	42
	REFERÊNCIAS	43

RESUMO

Choque séptico, a forma mais grave de sepse associada com hipotensão refratária e disfunção orgânica, é uma doença letal. A incidência aumentada é provavelmente devido ao envelhecimento progressivo da população, melhorias no suporte de terapia intensiva e o progresso nas terapias imunossupressoras, ocasionando no aumento da expectativa de vida, aumentando assim a ocorrência de episódios de sepse durante a vida. A lista de terapias ineficazes na sepse é longa e desanimadora. No estudo foram avaliados os efeitos da infusão intravenosa de salina e hidroxietilamido em soluções isotônicas e hipertônicas sobre a pressão arterial média e eletrólitos, os níveis de vasopressina, parâmetros sangue e reatividade vascular durante o choque séptico experimental induzido por ligadura e punção cecal. Ratos Wistar (250-300 g) com a veia jugular e artéria femoral canulados foram anestesiados com tribromoetanol (250 mg/kg) e submetidos à perfuração e ligadura cecal (CLP) ou cirurgia fictícia (CF). A pressão arterial média (PAM) foi monitorada durante 24 horas e os parâmetros sanguíneos (Na^+ , osmolaridade, hematócrito, pH, pO_2 , pCO_2 , saturação de O_2 , HCO_3^-) foram avaliados nos tempo 0, 6 e 24 horas após CLP ou CF. A expansão de volume com solução isotônica de hidroxietilamido (Iso-HES) (HES 6% em NaCl 0,9%, 4 ml/kg, 8 ml/kg, 16ml/kg), solução hipertônica de hidroxietilamido (Hyper-HES, HES 6% em NaCl 7,5 %, 4 ml/kg) ou salina hipertônica (SH, NaCl a 7,5%, 4 ml/kg) foi realizada seis horas após a CLP. PAM foi medida durante 30 minutos, os parâmetros sanguíneos foram avaliados aos 30 min, e vasopressina plasmática foi avaliada 5 minutos após expansão de volume. Na vigésima quarta hora os animais foram sacrificados para retirada da aorta para análise da reatividade vascular. CLP diminui a PAM que persistiu durante 24 horas, além da redução da reatividade vascular. A infusão endovenosa de Iso-HES provocou redução do hematócrito, mas não mudou PAM e os demais parâmetros sanguíneos. No entanto, ambas as infusões do Hyper-HES e HS aumentaram PAM, a liberação de vasopressina e ocitocina, o sódio plasmático e osmolaridade plasmática. Não houve outras alterações nos parâmetros sanguíneos e na reatividade vascular após a administração de soluções hipertônicas. A expansão de volume com coluções hipertônicas (Hyper-HES e HS), mas não com soluções isotônicas (Iso-HES), produziu um aumento da PAM durante o choque séptico induzido por ligadura e punção cecal, e esse efeito é mediado pela liberação de vasopresina.

Palavras chave: Hetamido, Choque Séptico, Arginina Vasopressina, Solução Salina Hipertônica.

ABSTRACT

Septic shock, the most severe form of sepsis associated with refractory hypotension and organ dysfunction, is a deadly disease. The augmented incidence is probably due to progressive aging of the population, improvements in critical care support, and progress in immunosuppressive therapies, including chemotherapy, so that individuals with immunosuppression and malignancies now have increased life expectancy, therefore increasing the occurrence of septic episodes during their life course. The list of therapies proven ineffective in sepsis is long and discouraging. In the present study we evaluated the effects of intravenous infusion of isotonic and hypertonic hydroxyethyl starch solutions on mean arterial pressure and on electrolytes, vasopressin levels and gases in the blood during experimental septic shock induced by cecal ligation and perforation. Male Wistar rats (250 – 300 g) with jugular vein and femoral artery catheters were anesthetized with tribromoethanol (250 mg/kg) and submitted to cecal ligation and perforation (CLP) or sham surgery (SS). Mean arterial pressure (MAP) was monitored for 24 hours and blood parameters (Na^+ , osmolality, hematocrit, pH, pO_2 , pCO_2 , O_2 saturation, HCO_3^-) were evaluated at 0, 6 and 24 hours after CLP or SS. Volume expansion with isotonic hydroxyethyl starch solution (Iso-HES) (HES 6% in NaCl 0.9%; 4 ml/kg, 8ml/kg, 16ml/kg), hypertonic hydroxyethyl starch solution (Hyper-HES, HES 6% in NaCl 7.5%; 4 ml/kg) or hypertonic saline (HS, 7.5% NaCl; 4 ml/kg) were performed 6 hours after CLP or SS. MAP was measured for 30 minutes, blood parameters were measured at 30 min, and plasma vasopressin was assessed 5 minutes after volume expansion. In the twenty-fourth hours the animals were sacrificed for removal of the aortic for analysis of vascular reactivity CLP decreased MAP and this decrease last for 24 hours, besides the reduction of vascular reactivity. Intravenous infusion of Iso-HES decreased hematocrit but did not change MAP or other blood parameters. However, both infusions of Hyper-HES and HS increased MAP, increased vasopressin and ocitocin release, increased plasma sodium and also increased plasma osmolality. There were no other changes in blood parameters and vascular reactivity after administration of hypertonic solutions. Volume expansion with hypertonic solutions (Hyper-HES and HS), but not with isotonic solution (Iso-HES), produced an increase in MAP during septic shock induced by cecal ligation and perforation, and this effect is mediated by vasopressin release.

Key Words: Hetastarch, Shock, Septic, Arginine Vasopressin, Saline Solution, Hypertonic.

1 INTRODUÇÃO

A manutenção da constância do meio interno dos organismos vivos, dentro de parâmetros relativamente estreitos, denominada homeostase, é condição essencial para a preservação da vida nas diferentes espécies. O volume, a pressão, e a composição eletrolítica do líquido extracelular devem ser mantidos dentro de estreitos limites de variação (ANTUNES-RODRIGUES et al, 2004). Alguns agentes, principalmente externos (agente estressor), podem perturbar a homeostase do meio interno, gerando uma situação denominada de estresse. Durante o estresse, o organismo promove a ativação de alguns sistemas de controle (denominados genericamente de carga alostática), a fim de retornar às condições de equilíbrio. Esta nova situação em que o organismo apresenta-se em equilíbrio apesar da presença do agente estressor é denominado alostase (MCEWEN, 2000; MCEWEN; SEEMAN, 1999; FRANCI, 2004; MCEWEN, 2007). Entre os sistemas fisiológicos envolvidos no retorno do organismo a uma situação de equilíbrio, destaca-se o sistema nervoso, endócrino e o sistema imune.

A resposta do organismo é diferente para os diversos agentes estressores, implicando em uma variedade na magnitude de ativação de cada sistema (BAUER, 2010). O sistema endócrino tem uma importante função na manutenção da homeostase em diversas situações de estresse, incluindo na sepse induzida por lipopolissacarídeos (LPS) (BERTOK, 1998). A resposta do organismo frente ao distúrbio da homeostase causado pelo LPS (componente da membrana de bactérias Gram-negativas) é referida como resposta de fase aguda e inclui a produção de citocinas, e também a secreção de hormônios, tais como hormônio liberador de corticotrofina (CRH), vasopressina e ocitocina, envolvidos na ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal durante esse tipo de estresse (AGUILERA; RABADAN-DIEHL, 2000).

O LPS dos microorganismos Gram-negativos, e o ácido teicóico dos microorganismos Gram-positivos são potentes ativadores do sistema imune do hospedeiro. Experimentalmente, o LPS tem sido utilizado para mimetizar uma situação de choque séptico, caracterizado por sinais sistêmicos de infecção, pronunciada queda da pressão arterial e hiporesponsividade a agentes vasoconstritores (SCHALLER et al, 1985; KEANEY et al, 1994; GIUSTI-PAIVA et al, 2002; 2004a, 2007). O LPS desencadeia uma cascata de eventos que simulam a resposta inflamatória, inicialmente liberando o fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interleucina -1 (IL-1), que estimulam uma intensa resposta celular, com

liberação de mediadores secundários, quimiotaxia e ativação de células do sistema imune (RIVEST, 2003).

Outro modelo experimental de choque séptico consiste na ligadura e perfuração cecal (CLP). CLP é sem dúvida, o modelo que mais se aproxima da natureza real dos pacientes com choque séptico pós-trauma, devido principalmente a produção de infecção ao invés de intoxicação e uso de misturas complexas de microorganismos ao invés de um único (HUBBARD et al, 2005). A principal razão para o uso do CLP é sua versatilidade, pois é possível adaptação para uma investigação aguda, bem como investigação crônica (WICHTERMAN et al, 1980; BENJAMIN et al 2004). Além disso, a ligação cecal é uma fonte de tecidos necrosados, que é frequentemente encontrado na clínica, especialmente em pacientes pós-trauma tecidual grave (SINGLETON; WISCHMEYER, 2003).

Dentre as alterações endócrinas observadas no choque séptico, uma das mais intrigantes é o padrão de secreção de vasopressina. Estudos experimentais e dados obtidos com pacientes com choque séptico descrevem que a secreção de vasopressina está elevada durante a fase inicial do choque séptico e, com o decorrer do tempo, a secreção de vasopressina reduz, apesar da queda significativa da pressão arterial (KASTING 1986, GIUSTI-PAIVA et al, 2002, SHARSHAR et al, 2003). Entre os fatores que levariam a uma deficiência da secreção de vasopressina podem ser destacados: 1) diminuição dos seus estoques na neuro-hipófise decorrente da menor inibição dos baroreceptores no núcleo ventrolateral rostral na situação de queda da pressão arterial (SKLAR; SCHRIER, 1983); 2) insuficiência autonômica, indicada pela diminuição da variabilidade da frequência cardíaca (GARRARD et al, 1993) e ausência de bradicardia reflexa durante a infusão de vasopressina (LANDRY, et al 1997); 3) excessiva produção de óxido nítrico no sistema nervoso central, inibindo a secreção de vasopressina (GIUSTI-PAIVA et al, 2002; 2003b).

Os principais estímulos para o aumento da secreção de vasopressina são: queda do volume plasmático (10%) e da pressão arterial e aumento da osmolalidade plasmática (1 a 2%). Assim, a secreção de vasopressina que está reduzida na fase avançada do choque séptico pode ser restabelecida pela administração endovenosa de uma solução hipertônica (solução de NaCl 7,5%), que é capaz de aumentar a concentração plasmática de sódio e, conseqüentemente, a osmolalidade do plasma (GIUSTI-PAIVA et al, 2007; BATISTA et al, 2009). Vários estudos mostram os efeitos positivos da administração de solução hipertônica sobre a pressão arterial e sobrevida durante o choque hemorrágico (VELASCO et al, 1980; BARBOSA et al, 1990), embora o seu emprego durante o choque

séptico experimental, não tem sido abordado. O seu efeito sobre a pressão arterial tem sido associado a um aumento do volume plasmático resultante da mobilização de água do compartimento intracelular para o intravascular (VELASCO et al, 1980; VELASCO et al, 1989; OLIVEIRA et al, 2002; KRAMER, 2003). Porém, recentemente foi demonstrado que a administração de salina hipertônica (NaCl 7,5%) eleva a concentração plasmática de vasopressina, e o pré-tratamento com um antagonista do receptor V_1 bloqueou a resposta pressora da salina hipertônica durante o choque endotóxico (GIUSTI-PAIVA et al, 2007). Isto sugere que a mobilização de água entre os compartimentos não é o único mecanismo responsável pela recuperação da pressão arterial após a administração de salina hipertônica, e que um componente neuroendócrino é importante nesta resposta, principalmente durante o choque séptico.

A principal vantagem dos expansores de volume colóide sobre os cristalóides está no tempo de ação. O efeito das soluções colóides é mais prolongado quando comparado ao efeito dos cristalóides, principalmente por terem elevado peso molecular, favorecendo sua permanência no leito vascular. Entre os principais colóides utilizados clinicamente pode ser destacada a gelatina, dextran, hidroxietilamido e a albumina. Normalmente os colóides são dissolvidos em cristalóides isotônicos (NaCl ou glicose). O hidroxietilamido (HEA) é sintetizado a partir da amilopectina, um amido derivado do milho. Após uma reação com óxido de etileno, ocorre uma substituição no carbono 2 (C2) da glicose, do hidrogênio pelo grupo hidroxietil, o que confere maior resistência a ação da alfa-amilase. Existem três gerações desta substância que são o hidroxietilamido 450/0,7 (Plasmin[®], primeira geração), 200/0,6 (Haes-Steril[®], segunda geração) e o 130/0,4 (Voluven[®], terceira geração). Todas são identificadas quanto ao peso molecular (450, 200 ou 130 kDa) e quanto ao grau de substituição. Na prática, o hidroxietilamido 450/0,7 possui maior capacidade de tracionar água para o vaso sanguíneo e maior resistência a ação da amilase plasmática em decorrência do maior peso molecular e maior grau de substituição, respectivamente; no entanto, devido a sua maior permanência na corrente sanguínea também esta associado a maior grau de comprometimento hematológico, principalmente distúrbios da coagulação (TRIEB, 1998). Com o desenvolvimento do hidroxietilamido de segunda e terceira gerações, a capacidade como expensor de volume é menor, porém é acompanhada de menor comprometimento hematológico. O hidroxietilamido é utilizado em solução contendo 6%, freqüentemente dissolvidos em salina isotônica e utilizados na dose de 4ml/kg.

Os expansores de volume têm sido empregados em alguns quadros clínicos de queda da pressão arterial ou de redução do volume sanguíneo (principalmente durante o choque hemorrágico). Entretanto, no choque séptico, a utilização dos expansores de volume tem sido bastante restrita, e de pouca eficácia. Isto se deve principalmente pelo fato de que a utilização de soluções cristalóides isotônicas provocarem edema, complicando o quadro clínico do paciente, pelo curto tempo de ação, e da falta de um expansor adequado para esta situação clínica.

Recentemente foi demonstrado que a simples expansão de volume no choque séptico tem pouca repercussão sobre a restauração da pressão arterial se não for acompanhada por um vasoconstritor (BATISTA et al., 2009). No choque séptico, a vasodilatação provocada pela excessiva produção de óxido nítrico aumenta a complacência do vaso, permitindo que maior volume ocupe o leito vascular sem provocar aumento da pressão arterial (NDUKA; PARRILLO, 2009). Neste sentido o agente vasoconstritor endógeno (a vasopressina) torna-se necessária para o aumento da pressão arterial durante a expansão de volume no choque séptico (REHBERG et al, 2009). Apesar da pouca efetividade das soluções colóides isotônicas sobre a pressão arterial durante o choque, tem sido demonstrado que o hidroxietilamido reduz a produção de citocinas (IL-1, IL 15 0), expressão de moléculas de adesão, entre elas a ICAM e expressão de NF-KB, indicando possíveis efeitos anti-inflamatórios (TIAN et al., 2003; LV et al., 2005; FENG et al., 2007; BOLDT et al., 2008; WANG et al., 2009). Diante disso, propusemos analisar o efeito da administração de hidroxietilamido 450/0,7 em soluções isotônicas (NaCl 0,9%) ou hipertônicas (NaCl 7,5%) sobre a: 1) pressão arterial; 2) reatividade *in vitro* à vasoconstritores; 3) secreção de vasopressina e ocitocina e análise de parâmetros gasosos no modelo experimental de choque séptico induzido por perfuração e ligadura cecal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Choque séptico, a forma mais grave de sepse associada com hipotensão refratária e disfunção orgânica, é uma doença mortal. A incidência aumentada é provavelmente devido ao envelhecimento progressivo da população, melhorias no suporte de cuidados intensivos, e os progressos nas terapias imunossupressoras, incluindo a quimioterapia, de modo que os indivíduos com imunossupressão e doenças malignas agora aumentaram a expectativa de vida, aumentando assim a ocorrência de episódios de choque séptico durante a vida (GIUSTI-PAIVA; SANTIAGO, 2010).

Sepse é considerado uma doença inflamatória sistêmica. Pode ser caracterizada com falência circulatória, caracterizada por hipotensão sistêmica, hiporeatividade para vasoconstrictores e subsequente mudanças na função e perfusão dos órgãos, seguido de falência múltipla dos órgãos (BONE et al, 1997). Bactérias Gram-negativas (principalmente *Escherichia coli*, *Pseudomonas Aeruginosa*) e bactérias Gram-positivos (estafilococos e estreptococos) são agentes infecciosos isolados de pacientes com choque séptico (BOCHUD et al, 2001). Com o resultado da invasão na corrente sanguínea de bactérias, vírus ou parasitas ocorre ativação da cascata inflamatória generalizada com a liberação sistêmica de vários produtos tóxicos (PARRILLO, 1993). As bactérias Gram-negativas contém um componente na parede celular, lipopolissacarídeo, enquanto as bactérias Gram-positivas contém ácido teicóico, e outras endotoxinas (GLAUSER et al, 1994) que ativam as células de defesa, que liberam vários mediadores como interleucina (IL)-1 e fator de necrose tumoral α (TNF)- α , metabólitos do ácido araquidônico e óxido nítrico (NO) (MARSH; WEWERS, 1996).

A produção de citocinas pode ser observada no estabelecimento, manutenção e controle de diversas funções fisiológicas como sono, ovulação e exercícios. Entretanto, durante o desenvolvimento de um processo inflamatório/infeccioso a produção dessas citocinas apresenta-se extremamente elevada (TURNBULL; RIVIER, 1996). É descrito que em resposta a um estímulo inflamatório/infeccioso, como por exemplo, o induzido pela administração de LPS, o sistema imune desencadeia a produção de uma variedade de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF- α) (RAMACHANDRA et al., 1992). Estes estimulam uma intensa resposta celular, com liberação de células do

sistema imune (LICINIO; FROST, 2000). Esta atividade do sistema imune é sinalizada para o sistema nervoso central (SNC) que desencadeia algumas respostas tais como febre, alterações comportamentais e alterações neuroendócrinas, (RIVIER, 2003) como por exemplo, ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, redução da atividade dos eixos hipotálamo-hipófise-tireóide e hipotálamo-hipófise-gonadal, resultando em modificações na concentrações plasmáticas de vários hormônios (KARCH et al, 2002; WILLIAMS et al 2001; BATTAGLIA et al, 1997, 1998, 2000; WATANOBE; HAYAKAWA, 2003; MANDRUP-POULSEN et al, 1996; RETTORI et al 1991, 1987; RIVEST et al, 1993; RIVEST; RIVIER, 1993 a,b,c; PEETERS et al, 2003; YAMASHITA et al 1989; SATO et al, 1990; TUMBULL; RIVIER, 1999; PHELPS et al, 2001).

2.1 Reatividade vascular e produção de óxido nítrico no choque séptico.

Thiemermann; Vane (1990) mostraram que a hipotensão, a produção de edema e o aumento da permeabilidade vascular no choque séptico eram reflexos da produção aumentada de NO, pois sua inibição atenuava os sintomas do choque e hipotensão. Existem no mínimo três diferentes isoformas de NO sintase (NOS) em células de mamíferos: NOS endotelial (NOSe ou NOS III) encontrada em células endoteliais, células epiteliais e miócitos cardíacos; NOS neuronal (NOSn ou NOS I) encontrada em células neuronais e músculo esquelético e NOS induzida (NOSi ou NOS II) encontrada em macrófagos, hepatócitos, músculo liso e uma variedade de outros tecidos (DAVIES; HAGEN, 1997). A NOSe e a NOSn são expressas constitutivamente e são ativadas por um aumento no Ca^{+2} intracelular e estão envolvidas na regulação do tônus vascular e neurotransmissão respectivamente, ao passo que a expressão da NOSi é encontrada em macrófagos ativados e polimorfonucleares (PMNs), é induzida por endotoxinas e substâncias pró-inflamatórias, é cálcio-independente e está envolvida na defesa imune (KLOSTERHALFEN; BHARDWAJ, 1998).

As enzimas constitutivas, NOSn e NOSe são capazes de produzir pequenas quantidades de NO, que ativam a guanilato ciclase solúvel no músculo liso vascular, regulam o tônus vascular fisiológico, a pressão sangüínea e a perfusão tecidual, ao passo que o aumento da expressão da NOSi, no endotélio vascular e no músculo liso de animais (MONCADA et al, 1991) resulta em produção de grandes quantidades de NO por longos períodos, mantendo a vasodilatação e a resistência a vasoconstritores, mediando as alterações no sistema vascular e o dano tecidual, causando disfunção

múltipla de órgãos. Estas alterações podem ser prevenidas pelo pré-tratamento com substâncias anti-inflamatórias, as quais inibem a expressão da NOSi, mas não afetam a atividade da enzima constitutiva (MONCADA et al., 1991; THIEMERMANN, 1997; TITHERADGE, 1999).

A indução da NOS, aumenta produção de NO, contribuindo para a fisiopatologia do choque séptico e disfunção múltipla de órgãos, e tem sido proposta ser o maior fator envolvido na vasodilatação patológica e no dano tecidual (THIEMERMANN, 1997). A hiporeatividade cardiovascular para as catecolaminas e outros fármacos vasoconstritores é um dos efeitos mais pronunciados do choque séptico humano e contribui para a alta taxa de mortalidade associada ao choque. É sabido que a endotoxina reproduz a hiporreatividade em animais de laboratório, e uma alta produção de NO é implicada no efeito da endotoxina em alterar a reatividade vascular.

Foi descrito que o LPS induz a NO sintase, que produz NO a partir da L-arginina em tecidos de ratos e que a dexametasona e o inibidor desta enzima (N ω NLA), previnem sua indução e a hiporreatividade vascular associada em aorta de rato (RODRIGUES; FRACASSO, 2007). Todavia, alguns efeitos da endotoxina sobre a pressão sanguínea e reatividade vascular podem preceder a indução da NOS, a qual leva várias horas em modelos animais. Porém, segundo outros autores, a hiporreatividade rápida a norepinefrina (NE), se deve à estimulação da óxido nítrico sintase constitutiva (NOSc) pela endotoxina e a hiporreatividade tardia à NE, se deve à indução do óxido nítrico sintase induzida (NOSi) (AMBROSIO; FRACASSO, 2000). Foi verificado também que, uma vez estabelecida a hiporreatividade à NE, o tratamento com dexametasona não produz efeito. Portanto, a dexametasona só é eficaz em prevenir a hiporreatividade à NE quando o tratamento é prévio (PAYA et al., 1993; REES et al., 1990; THIEMERMANN; VANE, 1990; FRACASSO et al., 2003). A relevância da produção excessiva de NO para o desenvolvimento do choque endotóxico foi demonstrada pelo uso de inibidores da NOS e agentes os quais bloqueiam a expressão da NOSi. A administração de inibidores do óxido nítrico sintase, em modelos animais e no homem, com choque séptico, restaura a pressão sanguínea e a hiporreatividade a agentes vasoconstritores (THIEMERMANN; VANE, 1990). Porém, doses suficientes para inibirem ambas as enzimas, constitutiva e induzida, diminuem a produção de NO, responsável pelo tônus vasodilatador, e, na presença de vasoconstritores durante a sepse, leva a danos fatais nos órgãos (TITHERADGE, 1999; LANDRY; OLIVER, 2004; RODRIGUES; FRACASSO, 2007).

Além disso, está bem estabelecido que a expressão da NOSi em resposta a endotoxinas é negativamente regulada por glicocorticóides endógenos, e esses aumentos nos níveis plasmáticos de esteróides foi proposto para contribuir com o desenvolvimento da tolerância cardiovascular a injeções repetidas de endotoxinas (SZABO et al., 1994; FRACASSO et al., 1999; AMBRÓSIO; FRACASSO, 2000). A inibição do NO restituiu a pressão em pacientes com sepse, foi recebida com entusiasmo. Supôs-se que com a supressão desse vasodilatador, os vasoconstrictores (por exemplo: noradrenalina) fariam o seu papel. No entanto, os resultados foram trágicos, pois o NO tem atuação muito diversificada e pouco compreendida no corpo humano, e sua inibição levou a problemas graves e imprevistos (LANDRY; OLIVER, 2004; TITHERADGE, 1999; MONCADA et al, 1991).

2.2 Vasopressina

A vasopressina (AVP) é peptídeo constituído por 9 aminoácidos, produzidos por neurônios parvocelulares do núcleo paraventricular (PVN) e neurônios magnocelular do núcleo PVN e supraóptico (SON) do hipotálamo. Esse peptídeo é produzido nestes neurônios e liberado na eminência mediana e transportado pelos vasos longos a adeno-hipófise onde atuam estimulando a liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e prolactina (RIVIER; VALE, 1983; DE BOLD et al, 1984; GIBBS et al, 1984; TURNBULL; RIVIER, 1996; AGUILERA; RABADAN-DIEHL, 2000). Os neurônios magnocelulares tem seus terminais axonais principalmente na neuro-hipófise, onde a vasopressina é armazenada. Após estímulos adequados, e a conseqüente ativação dos corpos celulares dos neurônios magnocelulares, esse peptídeo é liberado na neuro-hipófise e transportado pelos vasos portais curtos à adeno-hipófise e/ou atingem a circulação sistêmica (PORTER et al, 1983; ANTUNES-RODRIGUES et al, 2004).

Uma vez lançados na circulação esses neuropeptídeos são transportados na forma livre, sendo rapidamente degradados pelas endopeptidases o que resulta em vida média curta. Desta forma a concentração plasmática constitui um bom indicador da capacidade de secreção hormonal pelo sistema hipotálamo neuro-hipofisário (PORTER et al, 1983).

As ações da AVP são mediadas por três receptores subtipos diferentes, V_{1a} , V_{1b} e V_2 (BIMBAUMER, 2000). Expressão de receptor V_{1a} foi observada em músculo liso vascular e fígado, de receptor V_{1b} na pituitária anterior e V_2 nos rins (MOREL et al,

1993; BIMBAUMER, 2000). Os receptores V_{1a} estão envolvidos no controle da pressão sanguínea e em todas as outras funções conhecidas da AVP, exceto para a estimulação da secreção de corticotropina pela adeno-hipófise, a qual é mediada por receptor V_{1b} e pelos efeitos antidiuréticos, mediados pelos receptores V_2 . A presença de receptores V_{1a} foi detectada em várias estruturas do SNC, sugerindo que o V_{1a} é o principal receptor responsável pelos principais efeitos centrais da AVP (TRIBOLLET et al, 1988).

A secreção de AVP no choque endotóxico tem um padrão bifásico em animais e seres humanos. Inicialmente é caracterizado uma elevada secreção, enquanto em uma fase tardia, é anormalmente baixo para o grau de hipotensão. Nos seres humanos, esse declínio inicia-se 6 h após o diagnóstico de choque séptico e resultam em deficiência relativa de 36 h. Sharshar e colaboradores (2003) demonstraram que todos os pacientes apresentaram baixos níveis de vasopressina no prazo de 24 horas do diagnóstico de choque séptico. Durante a hipotensão, a vasopressina ajuda a manter a pressão arterial, agindo como um potente vasoconstritor. Em contraste com choque cardiogênico e hipovolêmico, durante o qual a concentração plasmática de vasopressina está elevada, a concentração de vasopressina não é elevada durante o choque séptico estabelecido. O choque séptico provoca um aumento transitório inicial de vasopressina, mas os níveis de vasopressina diminuem na fase tardia, o que tem sido interpretado como deficiência de vasopressina. O baixo nível de vasopressina é mais provável devido à secreção prejudicada, ao invés, do aumento do metabolismo das endopeptidases. Mecanismos propostos para a redução de vasopressina durante a sepse incluem o esgotamento da pituitária em resposta a liberação mediada por barorreceptores, disfunção autonômica e efeito inibitório do aumento da liberação de óxido nítrico (NO) no hipotálamo através da ação do óxido nítrico neural e induzível (GIUSTI-PAIVA et al, 2002; 2003b; SKLAR; SCHRIER, 1983; GARRARD et al, 1993; LANDRY, et al 1997).

2.3 Expansor de volume sanguíneo

A fluido terapia é uma prática clínica de rotina para se obter um equilíbrio hemodinâmico e de perfusão dos tecidos no tratamento de pacientes com choque hemorrágico ou séptico. Devendo ser a primeira medida a ser tomada no suporte hemodinâmico ao paciente com choque séptico e hipovolêmico (SILVA, 2007; RIVERS et al. 2001; DELLINGER et al. 2004). No choque hemorrágico o tratamento inicial com

expansores de volume sanguíneo é efetivo para manter os parâmetros cardiovasculares (LETSON et al, 2010), mas o mesmo não é observado em pacientes com choque séptico, onde somente expansão com solução hipertônica promove melhora aguda da pressão arterial média (PAM) (GIUSTI-PAIVA et al, 2009). Uma das possíveis explicações pode ser concentração plasmática de vasopressina, pois no choque hemorrágico a concentração da mesma é elevada (RAJANI, 2010), enquanto no choque séptico é baixa (SHARSHAR et al, 2003), uma vez que vasopressina em altas concentrações promove efeito de vasoconstricção.

A fluidoterapia é baseada na restauração do volume e composição dos líquidos corporais à normalidade, assim como a manutenção do equilíbrio dos eletrólitos. A infusão de grandes quantidades de líquido (colóides ou cristalóides) é freqüentemente usada para restabelecer a perfusão adequada dos tecidos (RIVERS *et al.* 2004).

Ainda é amplamente discutida a escolha da solução a ser infundida no paciente hemodinamicamente instável. Como primeira escolha, na reposição volêmica, é recomendado a utilização de solução cristalóide, no entanto, ambas, colóides e cristalóides, apresentam vantagens e desvantagens (MARTEL *et al.* 2002; WADE *et al.* 1997).

Infusões de cristalóides, como por exemplo, cloreto de sódio 0,9% ou solução Ringer com lactato, são os tipos mais comum de fluidos administrados durante o tratamento de choque séptico. Expansão do volume plasmático ocorre e é benéfico no regime de reanimação, mas pode promover alteração na estabilidade hemodinâmica. Apenas um quarto do montante infundido permanece no espaço intravascular, com os restantes três quartos distribuídos no espaço extravascular, resultando em apenas um aumento transitório no volume de plasma. Significativa hemodiluição das proteínas do plasma e uma diminuição da pressão coloidosmótica, juntamente com um aumento generalizado da permeabilidade microvascular (tanto do ponto de função pulmonar e sistêmica) pode ocorrer (SINGH et al, 2009). A expansão do volume plasmático pode resultar em redução do nível plasmático de vasopressina (GODINO et al, 2005) e aumento de outros hormônios, como: peptídeo natriurético (ANP) e ocitocina (RUGINSK et al, 2007; VENTURA et al, 2002).

Em relação a expansão de volume com soluções coloidais, na forma de compostos sintéticos ou não sintéticas (por exemplo, hidroxietilamido e albumina), têm teoricamente maior expansão de volume por unidade de infusão, em relação as soluções cristalóides. O uso do Colóide, no entanto, tem o potencial para um maior

número de efeitos adversos, por exemplo, lesão tubular renal, diminuir os níveis do fator VIII, e prolongamento do tempo de tromboplastina parcial (SCHORTGEN et al, 2001; SHATNEY et al, 1983). Soluções colóides possuem maior custo de administrar do que são soluções cristalóides.

O uso de tipos alternativos de fluidos para a ressuscitação, como a salina hipertônica foi proposto por Velasco em 1980. Essa solução pode causar uma rápida expansão do volume plasmático induzida pela mobilização dos fluidos do compartimento intracelular para intravascular. Isso resulta em um aumento no volume plasmático total em até 4 vezes maior que o volume real infundido, no entanto, estes efeitos são de curta duração. A adição de colóides em solução hipertônica prolonga a duração da expansão do volume e, portanto, acentua os efeitos sobre a circulação central e regional (SINGH et al, 2009).

Solução de dextran em salina hipertônica (NaCl, 7,5%) tem sido estudado na fluidoterapia de animais experimentais e seres humanos com choque hemorrágico ou traumático (WADE et al, 1997; JUNGER et al, 1997). Com base nestes resultados, o interesse no uso da solução hipertônica no tratamento da sepse tem surgido. Estudos utilizando soluções colóide em salinas hipertônicas sobre os efeitos da função hemodinâmica, a expansão do volume intravascular, função do sistema imunitário, e a função endotelial foram realizados. Uma melhora na função cardiovascular e perfusão esplâncnica foi observado em um modelo de choque septic induzida em cães (ING et al, 1994). A salina hipertônica apresentou melhora transitória no fluxo sanguíneo tanto sistêmica e regional em cães durante choque septic (HORTON & WALKER, 1991).

Após o choque induzido por infusão de endotoxina de *E. coli*, a administração de solução hipertônica de hidroetilamido ou salina resultou em aumento do volume plasmático, pressão arterial e débito cardíaco, sendo esses efeitos foram apenas transitórios (ARMISTEAD et al, 1989; GIUSTI-PAIVA et al, 2007; BATISTA et al, 2009). Vários efeitos imunomoduladores também têm sido descritos após o uso da solução hipertônica no tratamento do choque séptico, como a redução significativa de colônias bacterianas e produção de superóxido (SHIELDS et al, 2003).

Os mecanismos envolvidos na melhora do estado hemodinâmico provavelmente é multifatorial, o rápido aumento do volume intravascular, através da mobilização de água (a partir do espaço intracelular, endotélio microvascular e as células vermelhas do sangue) no espaço intersticial e intravascular pode ocorrer (OLIVEIRA et al, 2002; POLI-DE-FIGUEIREDO et al, 2006).

3 JUSTIFICATIVA

Choque séptico, a forma mais grave de sepse associada com hipotensão refratária e disfunção orgânica, é uma doença mortal. A incidência aumentada é provavelmente devido ao envelhecimento progressivo da população, melhorias no suporte de terapia intensiva e o progresso nas terapias imunossupressoras, ocasionando no aumento da expectativa de vida, aumentando assim a ocorrência de episódios de sepse durante a vida. A lista de terapias ineficazes na sepse é longa e desanimadora. Para o tratamento do choque séptico preconizam-se, além da antibioticoterapia, medidas de suporte como a intenção de restabelecer o volume sanguíneo e conseqüentemente a pressão arterial e a perfusão dos diversos tecidos. O atendimento inicial dos pacientes com choque séptico consiste na administração de fluidos, que muitas vezes não consegue melhorar a hipotensão e, posteriormente, leva ao uso de vasopressores. Os mecanismos responsáveis pelo fracasso do fluido para corrigir a hipotensão arterial têm recebido pouca atenção.

4 OBJETIVOS

Avaliar o efeito da administração de salina e hidroxietilamido 6% 450/0,7 em soluções isotônicas ou hipertônicas sobre vários parâmetros fisiológicos durante o choque séptico experimental induzido por perfuração e ligadura cecal.

4.1 Objetivos específicos:

1) Avaliar o efeito da expansão de volume sobre a pressão arterial durante o choque séptico experimental.

2) Avaliar, *in vitro*, a reatividade vascular em aortas de ratos sépticos tratados com expansores de volume.

3) Avaliar o efeito da expansão de volume sobre a concentração plasmática de vasopressina e ocitocina, eletrólitos, osmolaridade, gases sanguíneos e hematócrito durante o choque séptico.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados ratos Wistar, adultos (200-300 g), provenientes do biotério da Universidade Federal de Alfenas – MG. Os animais foram aclimatizados a temperatura controlada (23 ± 2 °C) e tinham livre acesso à água e alimento, sob regime de luz com ciclo claro-escuro de 12h (Luz 7:00 – 19:00h). Todos os experimentos foram iniciados pela manhã entre 09:00 - 10:00h. Aprovado no comitê de ética no uso dos animais (n.: 131/2007).

5.1 Cirurgias

5.1.1 Canulação da veia jugular

Ratos foram anestesiados com tribromoetanol (250 mg/kg, ip), para implantação de uma cânula de silicone (Silastic) na veia jugular externa. A extremidade livre da cânula foi exteriorizada na área interescapular, de acordo com a técnica descrita por Harms & Ojeda (1974). Todos os expansores de volume sanguíneo foram administrados através da veia jugular durante 2 minutos.

5.1.2 Canulação da artéria femoral

Para a canulação da artéria femoral direita foi feita uma incisão de 1 cm na região inguinal direita, expondo artéria femoral direita. Um cateter de polietileno composto por um segmento PE-10 de 4,5 cm de comprimento ligado a um cateter PE-50 de 15 cm, foi colocado nesta artéria, atingindo a aorta abdominal, de acordo com a técnica descrita por Giusti-Paiva et al (2007). A extremidade livre do cateter foi exteriorizada e fixada na área interescapular. A cânula foi imediatamente heparinizada.

5.1.3 Ligadura e perfuração cecal (CLP)

Foi realizada uma laparotomia mediana de aproximadamente 2 cm, expondo o ceco, e realizou-se a ligadura do colo ascendente na porção mais proximal com fio de algodão, e 10 perfurações com agulha 18G na porção avascular, como descrito por Wichterman et al (1980). Em todos os experimentos após realização do CLP foi determinado o tempo 0 h. Houve a expansão de volume sanguíneo em todos os protocolos experimentais foi realizado após 6 h do CLP.

5.2 Medida invasiva da Pressão Arterial

Para medir a pressão arterial foram utilizados ratos que tiveram veia jugular e a artéria femoral canulada. A medida da pressão arterial foi realizada através de um transdutor de pressão e um conversor analítico-digital (Biopac MP-100) acoplado a um computador. Os animais foram acompanhados durante 24 horas após a realização do CLP ou cirurgia fictícia (Sham).

5.3 Gasometria

Para a medida dos parâmetros gasosos os animais foram previamente canulados a veia jugular e artéria femural. Houve a coleta de sangue de aproximadamente 300µl através da artéria femural, e o mesmo, foi medido em um gasômetro (Cobas b 121). Os parâmetros (sódio, osmolaridade plasmática, hematócrito, pH, pressão parcial de O₂ (pO₂), saturação de O₂ (sO₂), pressão parcial CO₂ (pCO₂), bicarbonato (cHCO₃)) foram medidos antes e após a realização do CLP ou cirurgia fictícia (Sham).

5.4 Dosagens hormonais

Após a decapitação, sangue do tronco foi coletado em tubos plásticos, mantidos sob gelo, contendo heparina. O plasma foi separado por centrifugação (3000 rpm, 4°C, 15 min.) dividindo em alíquotas, e mantidas a -70°C até o momento das dosagem hormonal. A dosagem hormonal de vasopressina e ocitocina foi realizada utilizando-se o método de radioimunoensaio (ANTUNES-RODRIGUES et al, 2004). A coleta foi realizada 5, 10 e 20 min após expansão de volume sanguíneo.

5.5 Medida da reatividade vascular de aortas *in vitro*

Os animais foram decapitados 24h após CLP ou cirurgia fictícia (Sham), e a seguir, a aorta torácica foi isolada e dissecada de tecidos conectivos e, de sua parte proximal, foram cortados anéis de aproximadamente 3 mm de largura. Dois ganchos de metal foram inseridos no lúmen de cada anel. Um destes ganchos foi fixado à base da cuba e o outro conectado a um transdutor de força isométrica acoplado a um amplificador. Esse sistema (Biopac) é conectado a um computador para registro, em

gramas, da tensão isométrica. O anel de aorta permaneceu em uma cuba para órgão isolado contendo solução nutriente de Krebs (em mM): NaCl: 118; KCl 4,7; $\text{CaCl}_2 + \text{H}_2\text{O}$: 2,5; $\text{MgSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O}$: 1,64; KH_2PO_4 : 1,18; NaHCO_3 : 24,9; Glicose 11,1), com pH 7,4, mantida a 37°C e sob aeração constante com mistura carbogênica (95% O_2 e 5% CO_2). Antes do início de cada experimento, os anéis de aorta, após o equilíbrio na tensão passiva de 1g (PIEPER E SIEBENEICH, 1998; KARASU, 2000), foram desafiados com uma concentração fixa de fenilefrina (10^{-7} M), até apresentarem respostas vasoconstritoras semelhantes; a presença do endotélio vascular foi verificada pela resposta vasodilatadora à acetilcolina (10^{-6} M) em preparações pré-contraídas com fenilefrina. A partir de então, foram construídas curvas concentração-efeito para fenilefrina (concentrações de 10^{-9} a 3×10^{-6} M).

5.6 Drogas

As drogas utilizadas nestes experimentos foram: Tribromoetanol (Sigma-Aldrich); Fenilefrina (Sigma-Aldrich); Hidroxietilamido 450/0,7 (Freseius Kabi); Acetilcolina (Sigma-Aldrich); Antagonista V_1 (β -mercapto- β , β -cyclopentamethylenepropionyl, O-Et-Tyr(2), Val(4), Arg(8)-vasopressin) (Sigma-Aldrich) e Atosiban (Sigma-Aldrich).

5.7 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média. Para comparação de duas médias foi aplicado o teste “t” de Student. Para comparação de três ou mais médias aplicou-se a análise de variância (One-way) seguido do pós-teste de Newman-Keuls, quando apropriado. O nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade foi fixado em 5% ($p < 0.05$).

6 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS.

Os experimentos foram divididos em 3 protocolos descritos abaixo:

6. 1 Indução de choque séptico induzido por CLP.

Para a realização desse experimento os animais (n=6 por grupo) foram anestesiados com Tribromoetanol e tiveram canulados veia jugular e arterial femoral. No dia seguinte, houve a medida da PAM e coleta de sangue desses animais para dosagem dos parâmetros gasosos. Em seguida, foram submetidos à laparotomia (CLP) ou cirurgia fictícia (Sham), no qual foi determinado o tempo 0h. Os animais tiveram sua PAM monitorada por 24h após CLP, e seu sangue coletado na sexta e vigésima quarta hora após o CLP. Na 24h, os animais foram sacrificados para retirada da aorta torácica, a fim de analisar a reatividade vascular.

6. 2 Efeito da expansão de volume sanguíneo com salina isotônica (NaCl 0,9%) e hipertônica (NaCl 7,5%) durante o choque séptico induzido por CLP.

Para a realização desse experimento foram divididos 3 conjuntos de animais (n=6 por grupo). Eles foram anestesiados com Tribromoetanol e tiveram canulados veia jugular e arterial femoral. No dia seguinte, um grupo de animais foi analisado a PAM e coleta de sangue desses animais para dosagem dos parâmetros gasosos. Em seguida, foram submetidos a Laparotomia (CLP), no qual foi determinada o tempo de 0h. Após 6h do CLP, houve a expansão de volume sanguíneo com salina isotônica (NaCl 0,9% 4ml/kg) ou hipertônica (7,5%; 4ml/kg). Os animais tiveram sua PAM monitorada por 24h, e seu sangue coletado na 6h, 6'30" e na 24h após o CLP. Na 24h, os animais foram sacrificados para retirada da aorta torácica, a fim de analisar a reatividade vascular

Para dosagem hormonal, outro grupo de animais foram sacrificados 5, 10 e 20 min após a expansão de volume sanguíneo. Para verificar ação da vasopressina e ocitocina na resposta pressorica, foi utilizado um terceiro conjunto de animais, no qual, foi administrado antagonista de vasopressina ou ocitocina antes da expansão de volume sanguíneo.

6.3 Efeito da expansão de volume sanguíneo com hidroxietilamido 6% isotônico (NaCl 0,9%) e hipertônico (NaCl 7,5%) durante o choque séptico induzido por CLP.

Foi utilizado o mesmo protocolo (2) da expansão de volume com salina isotônica e hipertônica, com algumas modificações. Houve administração de hidroxietilamido isotônico (NaCl 0,9%; 4, 8 e 16ml/kg) e hipertônico (NaCl 7,5%; 4ml/kg). Houve análise da PAM e parâmetros gasosos e somente verificou ação do antagonista de vasopressina na resposta pressórica e verificou somente a dosagem hormonal desse peptídeo 5 minutos após a expansão.

7 RESULTADOS

Na figura 1, observa-se uma queda significativa da pressão arterial média (PAM) a partir da segunda hora após o CLP (CLP: $90,85 \pm 1,54$ vs Sham: $101,2 \pm 0,84$), que se mantém por todo o período de avaliação quando comparado ao grupo Sham (n=6).

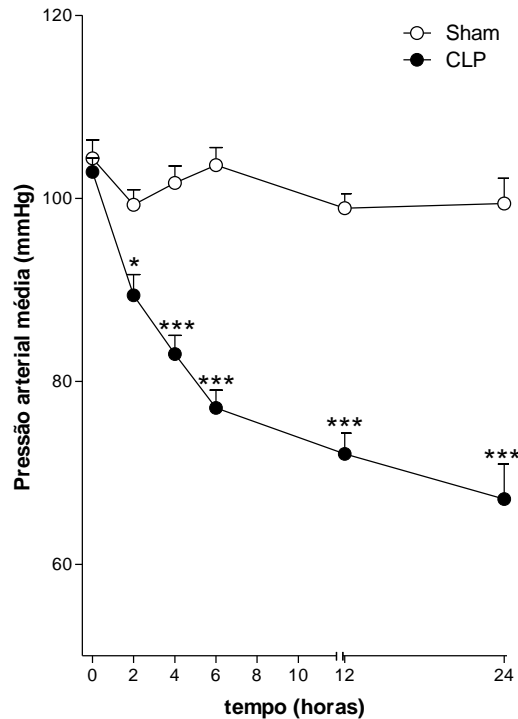


Figura 1 Queda da PAM nos animais submetidos ao choque séptico induzido por CLP quando comparado com grupo SHAM. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ comparado com Sham.

De acordo com figura 2, demonstra-se a curva concentração-resposta para fenilefrina ($3 \times 10^{-9} \text{M} - 1 \times 10^{-4} \text{M}$) em anéis de aorta na vigésima quarta hora após realização do CLP ou operação fictícia. Houve uma menor resposta máxima ($E_{\text{máx}}$) nos grupos CLP com endotélio (E+) e CLP sem endotélio (E-) quando comparado com grupos Sham E+ e Sham E-, respectivamente, como demonstrado na tabela 1. Em relação a concentração de fenilefrina que promove metade do efeito máximo (pD_2 ; - Log EC_{50}), houve um aumento de pD_2 nos grupos CLP e Sham sem endotélio (E-) quando comparado com os respectivos grupos com endotélio (E+).

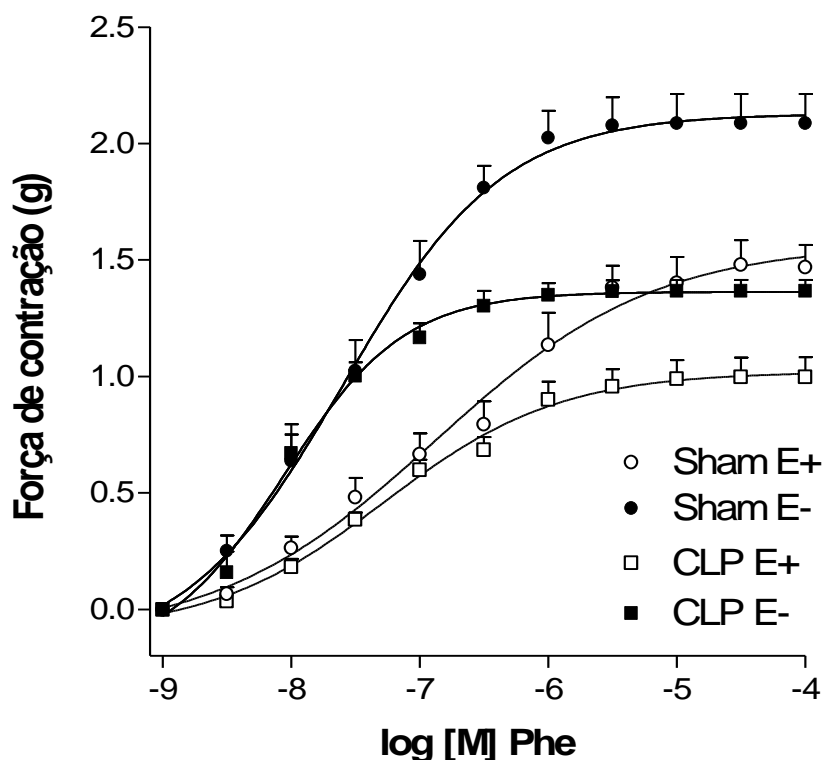


Figura 2 Curva concentração-resposta à fenilefrina ($3 \times 10^{-9} \text{M} - 1 \times 10^{-4} \text{M}$) em anéis de aorta de ratos com endotélio (E+) ou sem endotélio (E-) vinte quatro horas após serem submetidos a cirurgia fictícia (SHAM) ou ao CLP.

Tabela 1- Reatividade vascular durante o choque séptico.

	$-\log EC_{50}$	$E_{max}(g)$
Sham E+	$6,88 \pm 0,20$	$1,57 \pm 0,11$
Sham E-	$7,59 \pm 0,15^*$	$2,12 \pm 0,07^{***}$
CLP E+	$7,25 \pm 0,21$	$1,03 \pm 0,05^{***}$
CLP E-	$8,05 \pm 0,13^*$	$1,39 \pm 0,06$

* $p < 0,05$ comparado com Sham E+ e CLP E+; *** $p < 0,001$ comparado com Sham E+ e CLP E+.

Como demonstrado na figura 3, não houve diferença significativa entre grupo SHAM e CLP com relação concentração plasmática de sódio, osmolaridade plasmática, hematócrito, pH, pressão parcial de O_2 (pO_2), saturação de O_2 (sO_2), pressão parcial CO_2 (pCO_2), bicarbonato ($cHCO_3$) nos tempos 0, 6 e 24 horas após a realização da cirurgia fictícia ou ao CLP.

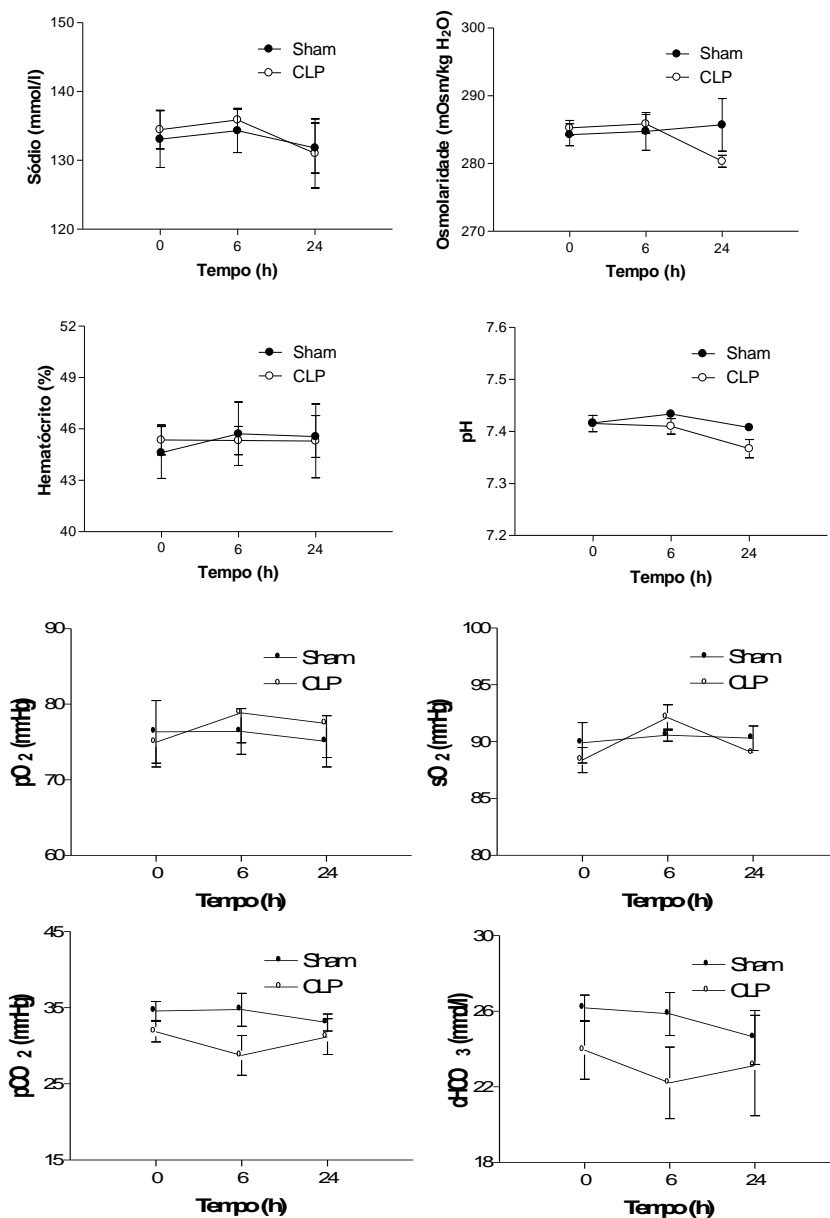


Figura 3 Concentração plasmática de Sódio, osmolaridade plasmática (mmol/l), hematócrito (%), PH, pCO₂(mmHg), pO₂ (mmHg), sO₂ (mmHg) e cHCO₃ (mmol/l) nos tempos 0, 6 e 24 horas após a realização da cirurgia fictícia (SHAM) ou ao CLP.

A expansão de volume sanguíneo com salina hipertônica (Sh) (NaCl 7,5%; 4ml/kg) durante o choque séptico induzido por CLP promoveu aumento da concentração de sódio plasmático, aumento da osmolaridade plasmática, e a redução do hematócrito quando comparado com salina isotônica (Si) (NaCl 0,9%; 4ml/kg). Além disso, a salina hipertônica (NaCl 7,5%) promoveu a elevação da concentração plasmática de vasopressina e ocitocina nos tempos 5, 10 e 20 minutos após expansão

quando comparado a administração de salina isotônica (NaCl 0,9%; 4ml/kg), descrito na figura 4.

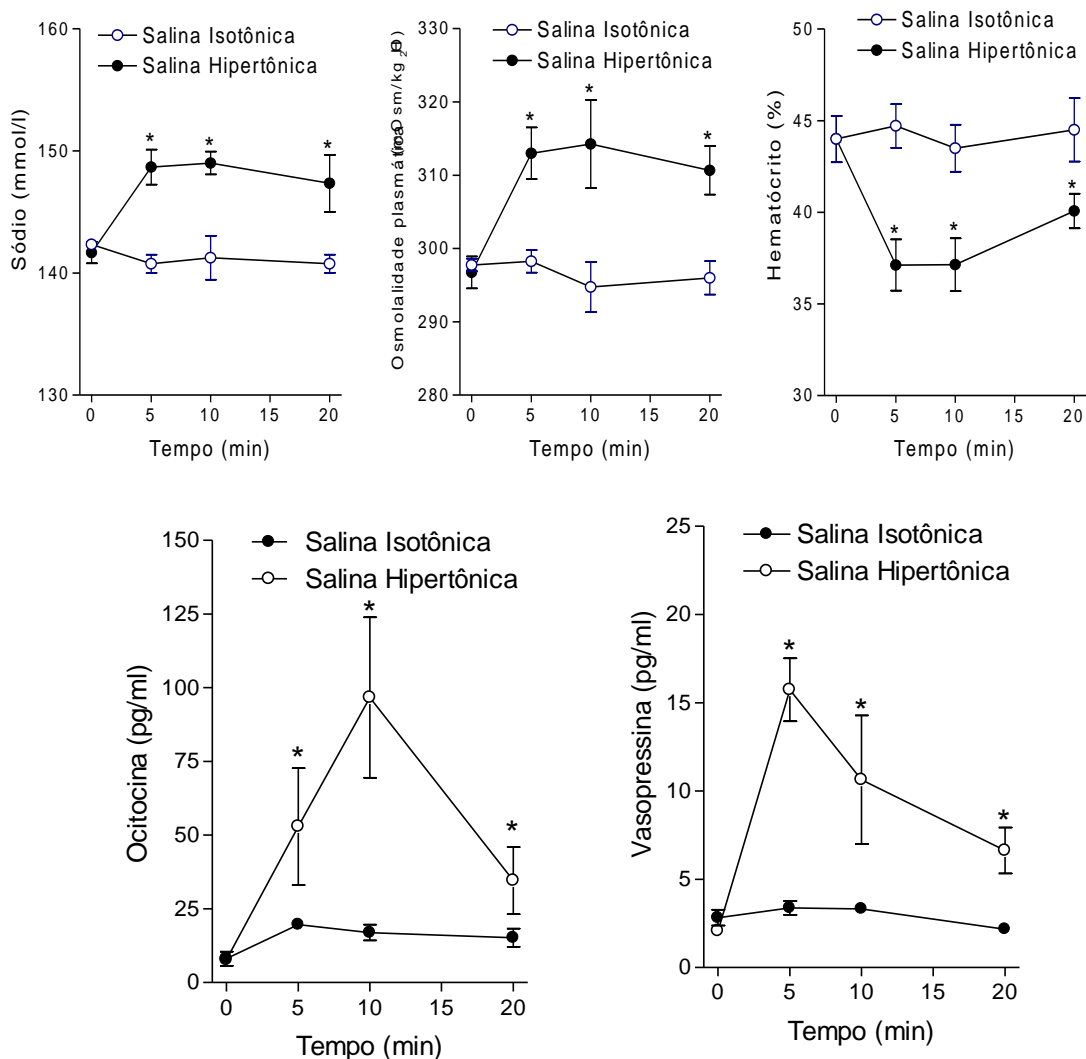


Figura 4 Efeito da administração de salina isotônica (NaCl 0,9%; 4ml/kg) e hipertônica (7,5% NaCl; 4ml/kg) sobre concentração plasmática de sódio, vasopressina e ocitocina, osmolaridade plasmática, hematócrito durante o choque séptico induzido por CLP. *p < 0,05 comparado com salina isotônica.

A expansão de volume sanguíneo com salina hipertônica (7,5% NaCl; 4ml/kg) durante o choque séptico induzido por CLP promoveu aumento da pressão arterial. A administração previa de um antagonista de vasopressina (seletivo para V_1), bloqueou a resposta pressórica da expansão de volume com salina hipertônica. A administração de Atosiban, antagonista de ocitocina previamente a realização da expansão, não alterou a resposta pressórica quando comparado com grupo que somente administrou salina hipertônica. (figura 5)

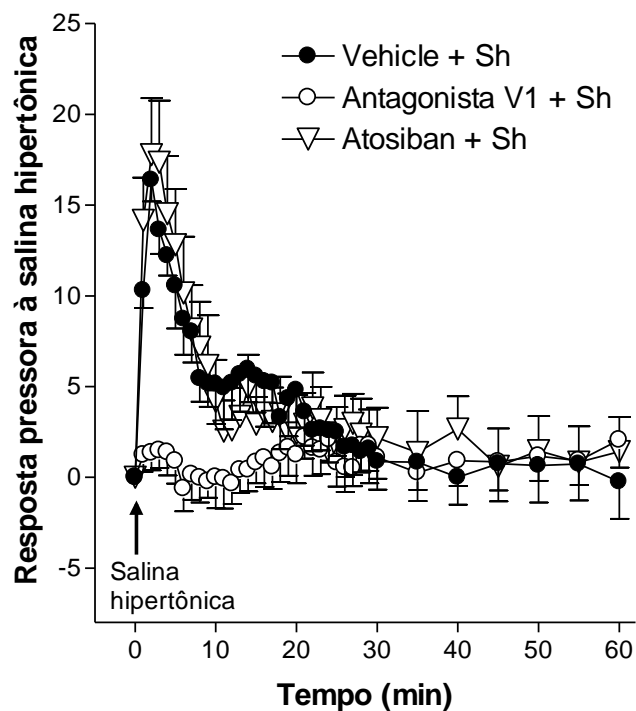


Figura 5 Efeito da expansão com salina hipertônica sobre a pressão arterial média, e ação da administração prévia de antagonistas de vasopressina e ocitocina durante o choque induzido por CLP.

A figura 6, mostra que no momento da administração do Hidroxietilamido 6% isotônico (NaCl 0,9%), 6hrs após CLP, nas doses 4, 8 e 16ml/kg não houve alteração da PAM. No entanto, administração de Hidroxietilamido 6% hipertônico (NaCl 7,5%) promoveu um aumento da PAM. O mesmo se observa na administração de salina hipertônica (NaCl 7,5%). No tempo de 24hrs, não há diferença significativa da PAM entre os grupos tratados.

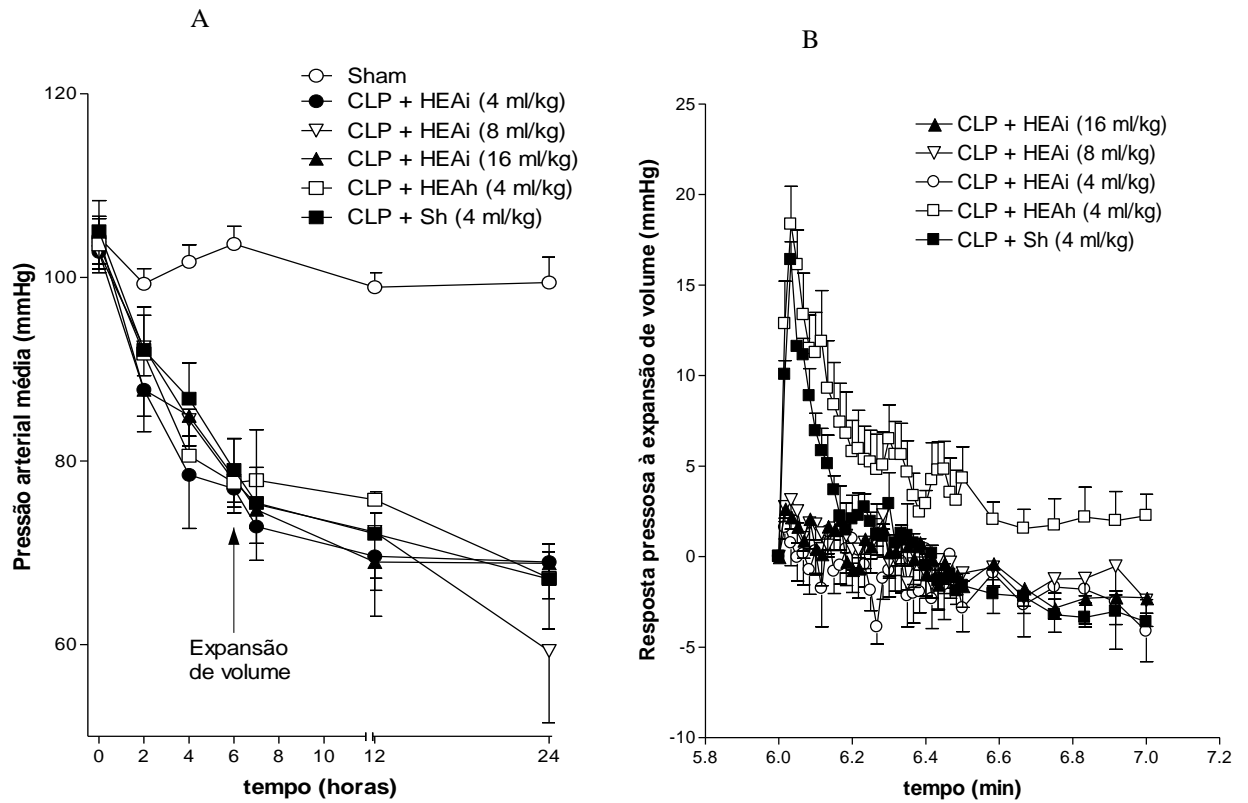


Figura 6 Efeito da administração de hidroxietilamido 6% isotônico (NaCl 0,9%) nas doses de 4, 8, 16 ml/Kg ou salina e hidroxietilamido hipertônico (NaCl 7,5%) na dose de 4 ml/Kg sobre a pressão arterial durante o choque séptico induzido por CLP. A) Pressão arterial média no tempo de 0 à 24hrs. B) Indica PAM no tempo 0 à 1h após a expansão.

O efeito da expansão com hidroxietilamido 6% hipertônico (NaCl 7,5%) e isotônico (NaCl 0,9%) assim como da salina hipertônica (NaCl 7,5%) não alteraram o PH, pO_2 , pCO_2 , sO_2 , $CHCO_3$ e BE durante o choque séptico induzido por CLP. No entanto, hidroxietilamido 6% hipertônico (NaCl 7,5%; 4ml/kg) e salina hipertônica (NaCl 7,5%; 4ml/kg), promoveu um aumento da osmolaridade plasmática e da concentração de sódio plasmático. A expansão de volume sanguíneo com soluções hipertônicas e isotônicas promoveram redução do hematócrito quando comparado com o momento imediatamente prévio à administração dos expansores de volume, conforme demonstrado na figura 7.

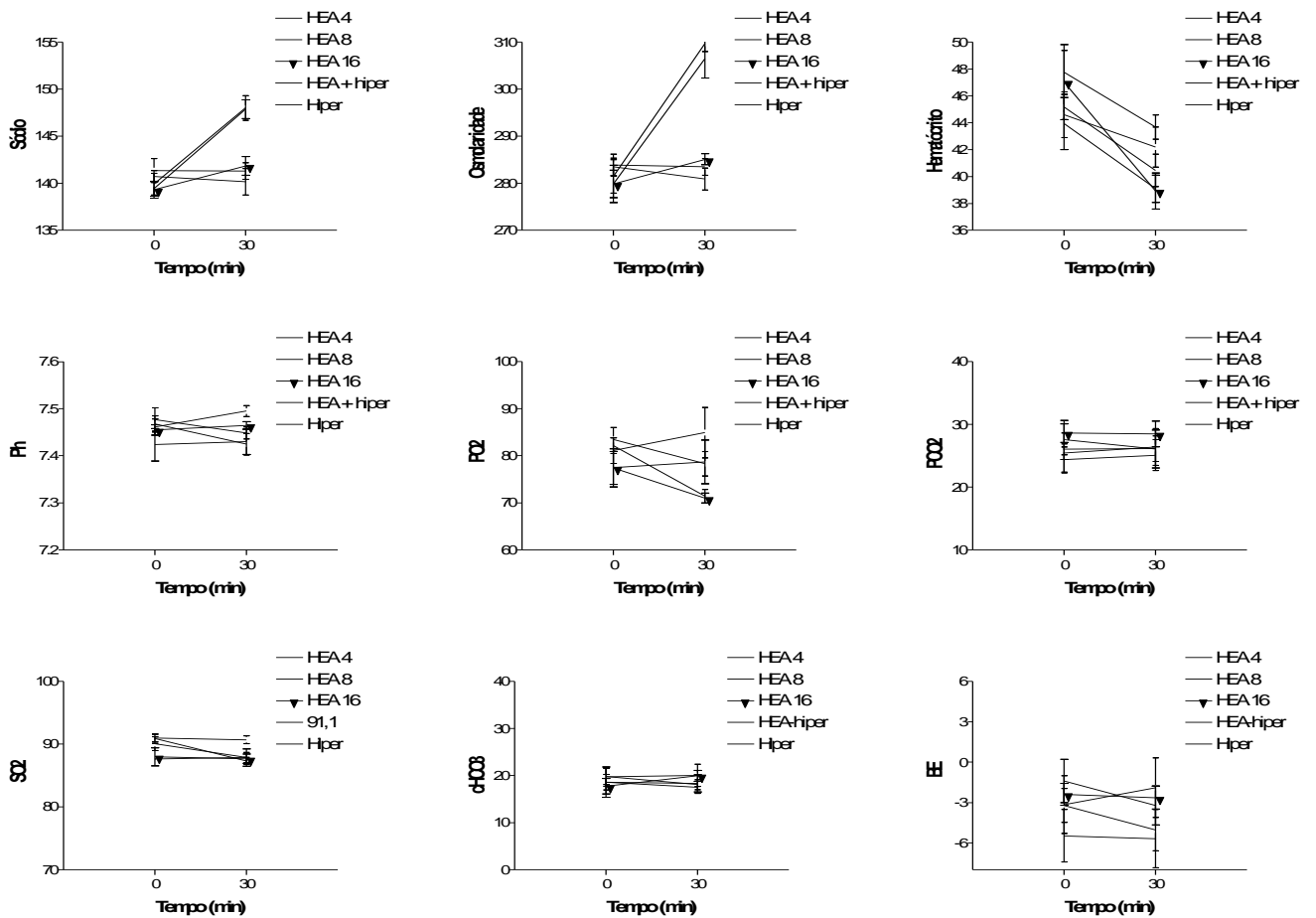


Figura 7 Efeito da administração de salina hipertônica (NaCl 7,5%; 4ml/kg), hidroxietilamido 6% hipertônico (NaCl 7,5%; 4ml/kg) e isotônico (NaCl 0,9%; nas doses de 4, 8, 16 ml/kg) 30 minutos após expansão, sobre concentração plasmática de sódio, osmolaridade plasmática, hematócrito, PH, pCO₂, pO₂, sO₂, chCO₃ e BE durante o choque séptico induzido por CLP. * p < 0,05 comparado com o tempo 0min; *** p < 0,001 comparado com tempo de 0 min.

Com relação à concentração plasmática de vasopressina, demonstrado na figura 8, somente as soluções hipertônicas (HEAH e SH) promoveram o aumento da concentração plasmática de vasopressina durante o choque séptico induzido por CLP, enquanto as soluções isotônicas não apresentaram diferenças significativas quando comparadas ao grupo controle.

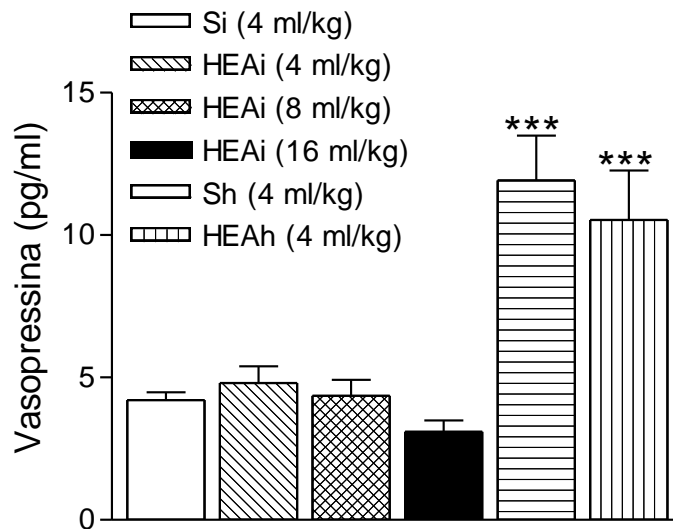


Figura 8 Efeito da administração de salina hipertônica (NaCl 7,5%; 4ml/kg), hidroxietilamido 6% hipertônico (NaCl 7,5%; 4ml/kg) e isotônico (NaCl 0,9%; nas doses de 4, 8, 16 ml/kg) 5 minutos após a expansão, sobre a concentração plasmática de vasopressina durante o choque séptico induzido por CLP. * $p < 0,05$ comparado com grupo salina isotônica.

Conforme apresentado na figura 9, salina hipertônica (NaCl 7,5%; 4ml/kg), assim como, hidroxietilamido 6% hipertônico (NaCl 7,5%; 4ml/kg) promoveram aumento da pressão arterial média durante o choque séptico induzido por CLP, e esse efeito foi bloqueado pela administração prévia do antagonista de vasopressina, seletivo para V_1 .

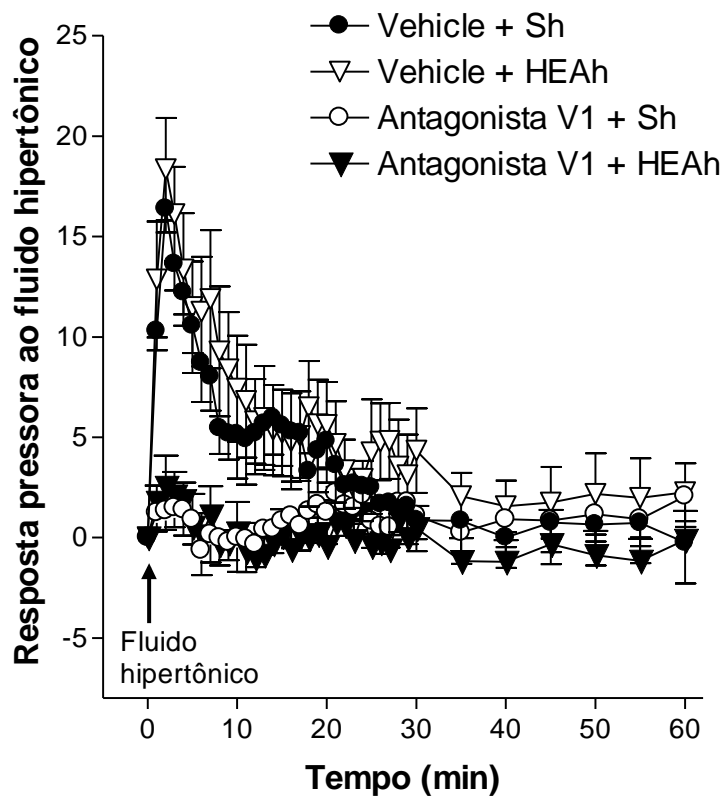


Figura. 9 Efeito da administração prévia do antagonista de vasopressina após expansão com salina hipertônica (NaCl 7,5%; 4ml/kg) e hidroxietilamido 6% hipertônico durante o choque séptico induzido por CLP (NaCl 7,5%; 4ml/kg).

A administração de hidroxietilamido isotônico (NaCl 0,9%) nas doses 4, 8, 16 ml/kg não alterou a E_{max} e pD_2 (-Log EC_{50}), para fenilefrina em aortas com endotélio 24 horas após CLP, como demonstrado na figura 10 e tabela 2, permanecendo assim, hiporeatividade à fenilefrina, uma vez que todos os grupos submetidos ao CLP, independente do tratamento, tiveram uma redução do E_{max} quando comparado com o grupo Sham. O mesmo é observado na figura 11 e tabela 3, com o tratamento com hidroxietilamido 6% hipertônico (NaCl 7,5%) e salina hipertônica (NaCl 7,5%).

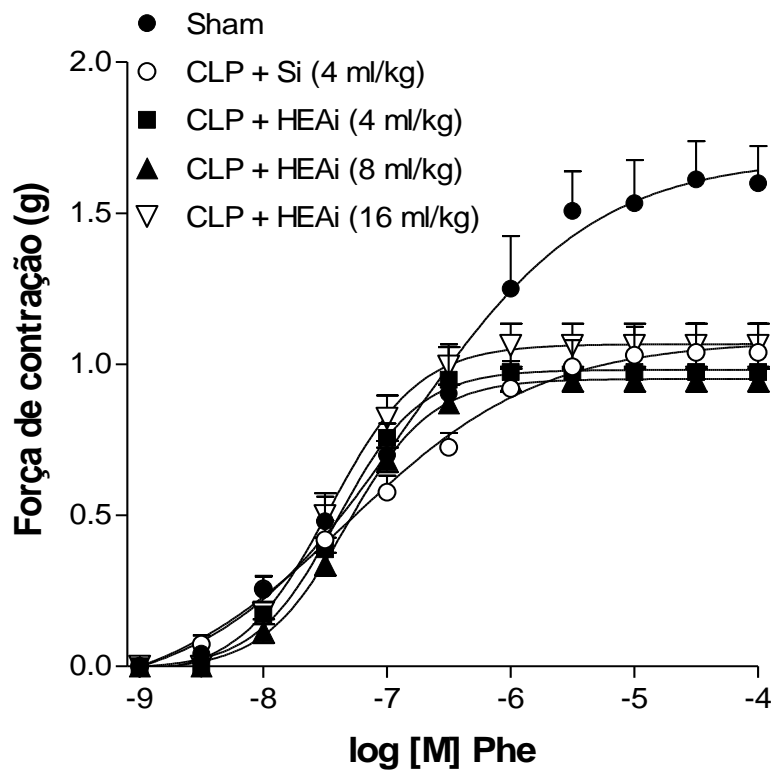


Fig. 10-Curva concentração - resposta à fenilefrina ($3 \times 10^{-9} \text{M} - 1 \times 10^{-4} \text{M}$) em anéis de aorta de ratos com endotélio após a realização do CLP ou operação fictícia (Sham). Grupos foram tratados com hidroxietilamido isotônico (NaCl 0,9%) nas doses 4ml/kg (HEA4), 8ml/kg (HEA8) e 16ml/kg (HEA16).

Tabela 2- Efeito da expansão de volume com soluções isotônicas sobre reatividade vascular durante choque séptico experimental.

	$-\log \text{EC}_{50}$	$\text{E}_{\text{max}}(\text{g})$
Sham	$6,85 \pm 0,20$	$1,68 \pm 0,11$
CLP	$7,32 \pm 0,25$	$1,08 \pm 0,06^*$
CLP + HEAi (4ml/kg)	$7,40 \pm 0,02$	$0,98 \pm 0,01^*$
CLP + HEAi (8 ml/kg)	$7,33 \pm 0,04$	$0,95 \pm 0,01^*$
CLP + HEAi (16 ml/kg)	$7,47 \pm 0,08$	$1,06 \pm 0,02^*$

*p,0,05 comparado com o grupo SHAM.

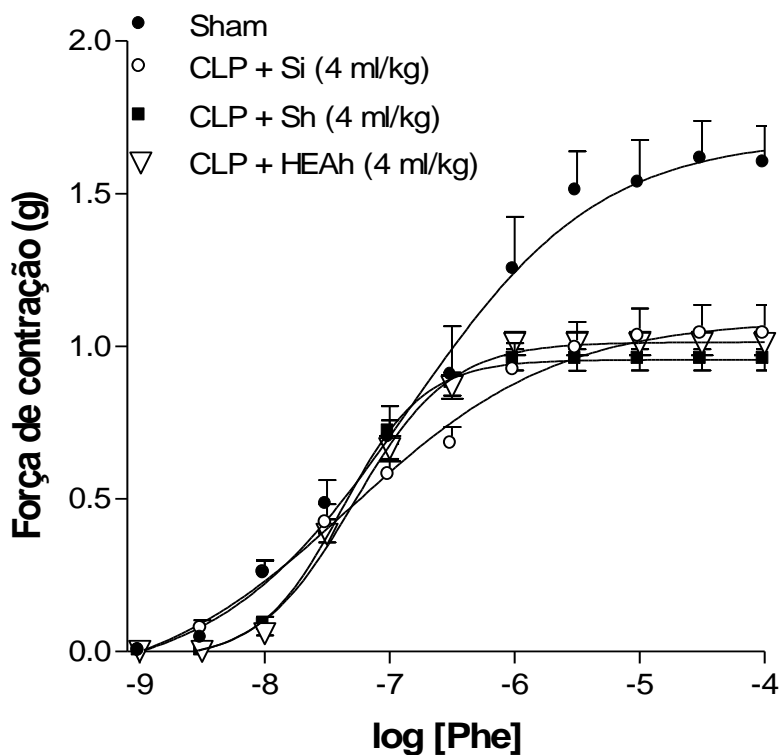


Fig 11 Curva concentração - resposta à fenilefrina ($3 \times 10^{-9} \text{M} - 1 \times 10^{-4} \text{M}$) em anéis de aorta de ratos com endotélio após a realização do CLP ou operação fictícia (SHAM). Grupos foram tratados com hidroxietilamido 6% hipertônico (NaCl 7,5%; 4ml/kg) ou salina hipertônica (NaCl 7,5%; 4ml/kg).

Tabela 3- Efeito da expansão de volume com soluções hipertônicas sobre reatividade vascular durante choque séptico.

	$-\log \text{EC}_{50}$	$E_{\text{max}}(\text{g})$
Sham	$6,85 \pm 0,20$	$1,68 \pm 0,11$
CLP+Si (4ml/kg)	$7,32 \pm 0,25$	$1,08 \pm 0,06^*$
CLP+Sh (4ml/kg)	$7,38 \pm 0,04$	$0,95 \pm 0,02^*$
CLP + HEAh (4 ml/kg)	$7,28 \pm 0,02$	$1,01 \pm 0,03^*$

*p,0,05 comparados com grupo SHAM.

7 DISCUSSÃO

Como demonstrado neste estudo, os animais com choque séptico induzido por CLP apresentaram queda da pressão arterial média (PAM) e hiporeatividade para vasoconstrictores, sinais característicos dessa enfermidade, indicando um bom modelo experimental para o choque séptico.

Observa-se que administração de soluções isotônica foi ineficaz no aumento da pressão sanguínea durante o choque séptico induzido por CLP. Além disso, o aumento de volume de hidroxietilamido infundido não promoveu alteração no nível plasmático de vasopressina. No entanto, a infusão de pequeno volume de solução hipertônica, tanto hidroxietilamido ou salina, aumentou o nível de vasopressina e restaurou a pressão sanguínea. Provável mecanismo de restauração da pressão sanguínea na expansão hipertônica pode ser devido ao aumento dos níveis de vasopressina, uma vez que, a utilização prévia de um antagonista do receptor V_1 não se observou o aumento da pressão. Esses dados estão de acordo com estudos anteriores que demonstram que endotoxemia causa alterações no sistema hipotálamo-hipófise, resultando na facilitação da liberação de vasopressina em resposta ao um estímulo osmótico (GRINEVICH et al, 2003).

No entanto, esses dados sugerem que a capacidade do sistema neuro-hipofisário para secretar vasopressina não é alterada no modelo de choque séptico, diferentemente foi demonstrado por Sonnevile et al, 2010, que observou tanto em ratos como em humanos, uma redução na expressão e do conteúdo de vasopressina na neurohipófise, indicando que há depleção de vasopressina durante o choque séptico induzido por CLP. Essa depleção promove não somente redução de secreção plasmática de vasopressina, mas também redução da expressão da proteína no núcleo supraóptico e aumento no núcleo paraventricular, sugerindo alterações na síntese e transporte de vasopressina. Outros trabalhos relatam que concentração plasmática de vasopressina está baixa no choque séptico, pois a sua liberação está sendo inibida pelo NO, uma vez que, um bloqueador da iNOS administrado i.c.v., mas não i.v., aumentou a liberação de vasopressina no choque (GIUSTI-PAIVA et al, 2002). De acordo com este estudo, após um estímulo (aumento da osmolaridade) das soluções hipertônicas (HEAH e Sh) houve aumento na concentração plasmática de vasopressina, possivelmente indicando que vasopressina está sendo inibida, ao invés, de ter sua síntese reduzida durante o choque séptico induzido por CLP.

No choque séptico não foi observado alteração da pressão arterial média durante a infusão de hidroxietilamido isotônico, como descrito anteriormente (HOFFMAN et al, 2002; SCHAPER et al, 2008), mesmo após, como demonstrado neste estudo uma infusão de hidroxietilamido 6% 16ml/kg. No choque séptico, a vasodilatação provocada pela excessiva produção de óxido nítrico aumenta a complacência do vaso, permitindo que maior volume ocupe o leito vascular sem provocar aumento da pressão arterial (NDUKA; PARRILLO, 2009).

Durante a infusão intra-vascular de soluções isotônicas há uma grande expansão de volume sanguíneo, com isso observa-se uma queda da pressão arterial e frequência cardíaca (ANDERSON et al, 1986; GODINO et al, 2005). Essa resposta pode ser mediada pela rápida liberação do peptídeo natriurético atrial (ANP) e ocitocina, pois ambos apresentam efeito natriurético afim de reduzir o aumento de volume plasmático (HAANWINCKEL et al, 1995) e efeitos vasodilatadores (GODINO et al, 2005;). Além disso, ambos os peptídeos tem sido associados no controle reflexo da frequência cardíaca, aumentando estimulação vagal, contribuindo para bradicardia (THOMAS et al, 2001; MICHELLINI et al, 2003).

Apesar da ocitocina apresentar a função de vasodilatação através de sua própria ação ou aumentando a liberação de ANP, quando neste estudo houve administração previa de um antagonista de ocitocina (Atosiban) antes da expansão de volume sanguíneo, não foi observado diferença na pressão arterial quando comparado com grupo que somente administrou-se salina hipertônica, sugerindo que participação da ocitocina na modulação da pressão arterial durante o choque séptico induzido por CLP é pequeno.

Infusão intravenosa de solução hipertônica restaurou os parâmetros hemodinâmicos e perfusão tecidual durante o choque séptico (OLIVEIRA et al, 2002; POLI-DE-FIGUEIREDO et al, 2006). A vantagem da solução hipertônica é que a administração de pequeno volume pode promover expansão plasmática significativa. O aumento da osmolaridade dessa solução aumenta o descolamento de volume do compartimento extra-vascular para intra-vascular, minimizando o edema tecidual devido ao aumento do volume plasmático (DROBIN; HAHN, 2002; POLI-DE-FIGUEIREDO et al, 2006; VELASCO et al, 1980). A curta duração do efeito circulatório pode ser atribuída ao rápido equilíbrio do soluto hipertônico entre o compartimento extra e intravascular. O efeito da solução hipertônica foi transitório e o seu uso repetido pode levar ao um aumento excessivo de sódio e osmolaridade plasmática, resultando em sobrecarga de volume sanguíneo, levando a falência cardíaca e edema

pulmonar, ou pode induzir acidose metabólica hiperclorêmica e distúrbios de coagulação (OLIVEIRA et al, 2002; KRAMER, 2003).

No entanto, o hidroxietilamido pode prolongar esse efeito por ter capacidade de manter volume no espaço vascular (GROCOTT; HAMILTON, 2002). O hidroxietilamido hipertônico apresentou, após sua infusão, um efeito mais pronunciado, uma vez que, a PAM permaneceu elevada por um tempo maior quando comparada com salina hipertônica, como demonstrada neste estudo. Isso porque a pressão oncótica promovida no espaço intravascular é maior devido às moléculas de maior peso molecular envolvidas (VELASCO et al. 1989; LANG *et al.* 2001).

Vários estudos têm atribuído um melhor efeito hemodinâmico ao uso de colóides associados à solução salina hipertônica (CHIARA et al, 2003; ROCHA et al, 2005; NASCIMENTO et al. 2006). Contudo, o efeito mais importante é a manutenção do efeito da expansão intravascular por períodos maiores, prolongando assim, os efeitos hemodinâmicos e metabólicos benéficos das soluções hipertônicas.

A administração de hidroxietilamido isotônico não teve qualquer efeito sobre o sódio plasmático, no entanto, quando administrado hidroxietilamido ou salina hipertônica observamos um aumento considerável de sódio plasmático, demonstrando que a administração de soluções hipertônicas realmente aumenta os níveis de sódio sérico. Áreas específicas do cérebro são ativadas por hiperosmolaridade, e isso induz efeitos cardiovasculares através de mecanismos neurais e hormonais. Hormônios circulantes, como angiotensina, bem como a hipertonicidade plasmática influenciam na secreção da vasopressina pela neurohipófise (ANTUNES-RODRIGUES *et al.* 2004; CUNNINGHAM *et al.* 2002).

Durante a hipotensão, vasopressina ajuda a manter a pressão arterial agindo como um potente vasoconstritor (BARRETT et al, 2007), mas no choque séptico citocinas pro-inflamatórias promovem down-regulation dos receptores V1, causando atenuação do efeito vasoconstritor, que contribui para o desenvolvimento da falência cardíaca durante o choque (BUCHER et al, 2002). De acordo com estudos anteriores, a salina hipertônica reduz a produção de IL-1beta, NO e expressão de iNOS 18hrs após o CLP, melhorando parâmetros metabólicos e cardiovasculares, como aumento da pressão arterial (SHIH et al, 2008). Redução da expressão de iNOS é crucial para tratamento de pacientes com choque séptico, pois essa enzima aumenta a produção de NO, uma das principais substâncias que promovem redução resistência periférica e inadequada perfusão tecidual, seguido de falência múltipla dos órgãos (BONE et al, 1997). Em nosso estudo, não houve melhora na reatividade vascular em aortas 24hrs

após o CLP, tanto para soluções hipertônicas como isotônicas. Também não foi observado alterações nos parâmetros gasosos (pO_2 , pCO_2 , PH, saturação O_2 , bicarbonato e excesso de bases) realizados no trabalho após a infusão das soluções hipertônicas e isotônicas, apesar de alguns estudos demonstrarem que expansão de volume com hidroxietilamido melhora oxigenação sistêmica (MARX et al, 2004).

No choque hipovolêmico e cardiogênico, os níveis de vasopressina estão elevados, mas este aumento não é observado no choque séptico em humanos (SHARSHAR et al, 2003; LANDRY et al, 1997) e em animais (GIUSTI-PAIVA, 2002 e 2005; BATALHÃO et al, 2008). O choque séptico causa aumento transitório inicial de vasopressina, mas seus níveis diminuem na fase tardia do choque séptico para níveis muito baixo, como descrito anteriormente (SHARSHAR et al , 2003; LANDRY et al, 1997). Infusão de baixas doses de vasopressina é utilizado como um tratamento racional para o suporte hemodinâmico.

A razão para uso de vasopressina inclui a deficiência desse hormônio em pacientes com choque séptico e hipótese que administração exógena de vasopressina restaura o tônus vascular e pressão arterial, assim reduzindo o uso de catecolaminas (RUSSELL et al, 2008; HOLMES et al, 2001). Os dados obtidos demonstraram a importância da administração de solução hipertônica, acompanhada ou não de hidroxietilamido, para o restabelecimento dos níveis de vasopressina e conseqüente restabelecimento da pressão arterial, mostrando que é a hipertonicidade do meio a responsável por esse aumento que é mantido pelas soluções colóides.

7 CONCLUSÃO

Analisando os resultados, conclui-se que fluidoterapia com solução hipertônica apresentou vantagem quando comparada à administração de soluções isotônicas no quadro de choque séptico induzido por CLP. Infusões de soluções isotônicas de hidroxietilamido, mesmo na dose de 16ml/kg não promoveram alteração na PAM, enquanto que a administração de um pequeno volume de solução hipertônica (4ml/kg) promoveu aumento da PAM. Além disso, o hidroxietilamido hipertônico promove o aumento da PAM por um período maior quando comparado com salina hipertônica.

As soluções hipertônicas promovem o aumento da pressão arterial, e esse efeito é mediado pelo aumento da liberação de vasopressina, uma vez que, utilizando antagonista de vasopressina (V_1) não se observa aumento da PAM, demonstrando que somente a expansão de volume sanguíneo sem acompanhamento de uma substância vasoconstrictora não promove alteração da pressão arterial no modelo de choque séptico induzido por CLP.

REFERÊNCIAS

AGUILERA G, RABADAN-DIEHL C. Vasopressinergic regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: implications for stress adaptation. **Regul pept**, Amsterdam, v. 96, n. 1-2, p. 23-29, 2000.

AMBROSIO AE, FRACASSO JF. Effect of NωNLA or dexamethasone on vascular hyporeactivity induced by *e. coli* endotoxin in sham and adrenalectomized rats. **Rev Ciênc Farm**, Araraquara, v.21, n. 2, p. 265-275, 2000.

ANDERSON JV, CRISTOFIDES ND, BLOOM SR. Plasma release of atrial natriuretic peptide in response to blood volume expansion. **J Endocrinol**, Oslo, n.109, p.9-13, 1986.

ANTUNES-RODRIGUES J, DE CASTRO M, ELIAS LL, VALENCA MM, MCCANN SM. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. **Physiol Rev**, Bethesda, n. 84, p.169-208, 2004.

ARMISTEAD CW JR, VINCENT JL, PREISER JC, DE BACKER D, MINH TL. Hypertonic saline solution-hetastarch for fluid resuscitation in experimental septic shock. **Anesth Analg**, Paris, v. 69, p. 714–720, 1989.

BARBOSA SP, et al. Lesion of the anteroventral third ventricle region abolishes the beneficial effects of hypertonic saline on hemorrhagic shock in rats. **Brain Res**, Amsterdam v.530, p. 342-344, 1990.

BARRETT LK, SINGER M, CLAPP LH. Vasopressin: mechanisms of action on the vasculature in health and in septic shock. **Crit Care Med**, New York, v. 35, p. 33-40, 2007.

BATALHÃO ME, MORETO V, STABILE AM et al. Role dexamethasone on vasopressin release during endotoxemic shock. **Regul Pept**, Amsterdam, n. 147, p. 67-71, 2008

BATISTA MB, et al. Pressor response to fluid resuscitation in endotoxic shock: involvement of vasopressin. **Crit Care Med**, New York, v.37, n. 11, p. 2968-2972, 2009

BATTAGLIA DF, et al. Endotoxin inhibits the reproductive neuroendocrine axis while stimulating adrenal steroids: a simultaneous view from hypophyseal portal and peripheral blood. **Endocrinology**, Baltimore, v.138, n.10, p. 4278-4281, 1997.

_____ Systemic challenge with endotoxin stimulates corticotropin-releasing hormone and arginine vasopressin secretion into hypophyseal portal blood: coincidence with gonadotropin-releasing hormone suppression. **Endocrinology**, Baltimore v.139, n.10, p.4175-81, 1998.

_____ Endocrine alterations that underlie endotoxin-induced disruption of the follicular phase in ewes. **Biol Reprod**, New York, v. 62, n.1, p. 45-53, 2000.

BENJAMIN CF, HOGABOAM CM, KUNKEL SL. The chronic consequences of severe sepsis. **J Leukoc Biol**, Wiston-Salem, v. 75, p. 408-412, 2004.

BERTOK L. Endotoxin as stressor and endotoxemia as stress. **Ann Ny Acad Sci**, New York v. 851, p. 404-405, 1998.

BIRNBAUMER M. Vasopressin receptors Trends. **Endocrinal Metab**, Bethesda v.11, n.10, p. 406-410, 2000.

BOCHUD PY, GLAUSER MP, CALANDRA T. Antibiotics in sepsis. **Intensive Care Med**, New York, v.27, p. 33-48, 2001.

BOLDT J, SUTTNER S, BROSCHE C, LEHMANN A, MENGISTU A. Influence on coagulation of a potato-derived hydroxyethylstarch (HES 130/0.42) and a maize-derived hydroxyethylstarch (HES 103/0.4) in patients undergoing cardiac surgery. **Br J Anaesth**, Altricham, v. 102, p. 191-197.

BONE RC, GRODZIN CJ, BALK RA. Sepsis, anew hypothesis for pathogeneses disease process. **Chest**, Park Ridge, v.112, p. 235-243, 1997. 54

BUCHER M, HOBBAHN J, TAEGER K, KURTZ A. Cytokine-mediated down-regulation of vasopressin V (1A) receptors during acute endotoxemia in rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, Bethesda n.282, p.R979-R984, 2002.

CHIARA O, et al. Resuscitation from hemorrhagic shock: experimental model comparing normal saline, dextran and hypertonic saline solutions. **Crit Care Med**, New York, v.31, n.7, p. 1915-1922, 2003.

CUNNINGHAM JT, GRINDSTAFF RJ, GRINDSTAFF RR, SULLIVAN MJ. Fos immunoreactivity in the diagonal band the perinuclear zone of the supraoptic nucleus after hypertension and hypervolaemia in unanesthetized. **J Neuroendocrinol**, Oxford v.14, n.3, p. 219-227, 2002.

CUSCHIERI J, GOURLAY D, GARCIA I, JELACIC S, MAIER RV. Hypertonic preconditioning inhibits macrophage responsiveness to endotoxin. **J Immunol**, Baltimore v. 168, p.1389-1396, 2002.

DAVIES MG; HAGEN P. Systemic inflammatory response syndrome. **Br J surg**, Bristol, n.84, p. 920-935, 1997.

DE BOLD C. R. et al Arginine vasopressin potentiates adrenocorticotropin release induced by ovine corticotropin-releasing adrenocorticotropin release induced by ovine corticotropin-releasing factor. **J Clin Invest**, New York, v.73, n.2, p. 533-538, 1984.

DELLINGER RP, et al Surviving Sepsis Campaign Management Guidelines Committee. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. **Crit Care Med**, New York, v.32, p. 2169-2170, 2004.

DROBIN D, HAHN RG. Kinetic of isotonic and hypertonic plasma volume expanders. **Anesthesiology**, Philadelphia, v. 96, p. 1371-1380, 2002.

DUNN CW, HORTON JW. Role of angiotensin II in neonatal sepsis. **Circ Shock**, Baltimore, v. 40, p.144-150, 1993.

FENG X, HU Y, DING J, GE Y, SONG J, AI Q, ZHANG Z, XU J. Early treatment with hydroxyethyl starch 130/0.4 causes greater inhibition of pulmonary capillary leakage and inflammatory response than treatment instituted later in sepsis induced by cecal ligation and puncture in rats. **Ann Clin Lab Sci**, Philadelphia, v. 37, p. 49-56.

FINFER S, BELLOMO R, BOYCE N, et al. A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit. **N Engl J Med**, Boston, v. 350, p. 2247– 2256, 2004.

FRACASSO JF, SILVA RFP, LEPERA EJP. Effect of N ω NLA, an inhibitor of NO-synthase, on the release of tissueplasminogen activator from rat aorta. **Rev Ciênc Farm**, Araraquara, v.24, n.1, p. 23-25, 2003.

FRACASSO JF, SILVA RFP, LEPERA EJP. Importância dos corticóides na inibição da sintase de óxido nítrico pelo N ω NLA, em ratos tratados com endotoxina. **Rev Ciênc Farm**, Araraquara, v. 20, n.2, p. 494-495, 1999.

GARRARD CS, KONTOYANNIS DA, PIEPOLI M. Spectral analysis of heart rate variability in the sepsis syndrome. **Clin Auton Res**, Oxford, v. 3, p. 5-13, 1993.

GIBBS DM, VALE W, RIVIER J, YEN S S. Oxytocin potentiates the ACTH releasing activity of CRF (41) but vasopressin. **Life Sci**, Oxford, v. 34, n.23, p. 2245-2249, 1984.

GIUSTI-PAIVA A, et al. Anteroventral third ventricle (AV3V) lesion reduced hypothalamic activation and hormone secretion induced by lipopolissacaride in rats. **Neuroimmunomodulation**, Basel, 2004.

_____ Vasopressin mediates the pressor effect of hypertonic saline solution in endotoxic shock. **Shock**, Augusta, v.27, n. 4, p. 416-421, 2007.

_____ Role of nitric oxide in thermoregulation during septic shock: involvement of vasopressin. **Pflugers Arch**, Berlin, v. 447, p. 175-180, 2003a.

_____ Inducible nitric oxide synthase pathway in the central nervous system and vasopressin release during experimental septic shock. **Crit Care Med**, New York, v. 30, p.1306-1310, 2002.

_____ Inhibitory effect of gaseous neuromodulators in vasopressin and oxytocin release induced by endotoxin in rats. **Neurosci Lett**, Amsterdam, v. 381, p. 320-324, 2005.

_____ Simvastatin decreases nitric oxide overproduction and reverts the impaired vascular responsiveness induced by experimental septic shock in rats. **Shock**, Augusta, v. 21, p. 271-275, 2004^a

_____ Role of nitric oxide in lipopolysaccharide-induced release of vasopressin in rats. **Neurosci Lett**, Amsterdam, v. 346, p. 21-24, 2003b.

_____ Neurohypophyseal dysfunction during septic shock. **Endocrine, metabolic & immune disorders-drug targets**, n. 10, p. 000-000, 2010.

GLAUSER MP, HEUMANN D, BAUMGARTHER JD, COHEN J. Pathogenesis and potential strategies for prevention and treatment of septic shock: na update. **Clin infect**, Chicago, v.2, p. S205-S216, 1994.

GODINO A, GIUSTI-PAIVA A, ANTUNES-RODRIGUES J, et al. Neurochemical brain groups activated after an isotonic blood volume expansion in rats. **Neuroscience**, Oxford, v. 133, p. 493-505, 2005.

GRINEVICH V, MA XM, JIRIKOWSKI G, VERBALIS J, AGUILERA G. Lipopolysaccharide endotoxin potentiates the effect of osmotic stimulation on vasopressin synthesis and secretion in the rat hypothalamus. **J Neuroendocrinol**, Oxford, v. 15, p.141-149, 2003.

GROCOTT MP, HAMILTON MA. Resuscitation fluids. **Vox Sang**, Basel, v. 82, p.1-8, 2002.

HAANWINCKEL MA, ELIAS LK, FAVARETTO AL et al. Oxytocin mediates atrial natriuretic peptide release and natriuresis after volume expansion in the rat. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 95, p. 7902-7906, 1995.

HARMS PG, OJEDA SR. A rapid and simple procedure for chronic cannulation of the rat jugular vein. **J Appl Physiol**, Washington, v. 36, p.391-392, 1974.

HOFFMANN JN, VOLLMAR B, LASCHKE MW et al. Hydroxyethyl starch (130 kD), but not crystalloid volume support, improves microcirculation during normotensive endotoxemia. **Anesthesiology**, Philadelphia, v. 97, p. 460-470, 2002.

HOLMES CL, PATEL BM, RUSSEL JA, et al. Physiology of vasopressin relevant to management of septic shock. **Chest**, Park Ridge, v. 120, p.989-1002, 2001.

HORTON JW, WALKER PB. Small-volume hypertonic saline dextran resuscitation from canine endotoxin shock. **Ann Surg**, Philadelphia, v.214, p.64-73, 1991.

HUBBARD WJ et al. Cecal ligation and puncture. **Shock**, Augusta, v.24, n.1, p 52-57, 2005.

JUNGER WG et al. Hypertonic saline resuscitation: a tool to modulate immune function in trauma patients. **Shock**, Augusta, v. 8, p.235-241, 1997.

ING RD, NAZEERI MN, ZELDES S, DULCHAVSKY, DIEBEL LN. Hypertonic saline/dextran improves septic myocardial performance. **Am Surg**, Philadelphia, v.60, p. 505-508, 1994.

KASTING NW. Characteristics of body temperature, vasopressin, and oxytocin responses to endotoxin in the rat. **Can J Physiol Pharmacol**, Ottawa, v. 64, p.1575-1578, 1986.

KARASU C. Time course of changes in endothelium-dependent and -independent relaxation of chronically diabetic aorta: role of reactive oxygen species. **Eur J Pharmacol**, Amsterdam, v. 392, n.3, p.163-73, 2000.

KARSCH FJ; BATTAGLIA DF; BREEN KM; DEBUS N; HARRIS TG. Mechanisms for ovarian cycle disruption by immune/inflammatory stress. **Stress**, Chichester, v. 5, n.2, p.101-112, 2002.

KEANEY JF et al. Methylene blue reverses endotoxin-induced hypotension. **Circ Res**, Dallas, v.74, p.1121-1125, 1994.

KLOSTERHALFEN B; BHARDWAJ RS. Septic shock. **Gen pharmacol**, Oxford, v. 31, p.25-32, 1998.

KIEMER AK, LEHNER MD, HARTUNG T, VOLLMAR AM. Inhibition of cyclooxygenase-2 by natriuretic peptides. **Endocrinology**, Baltimore, v. 143, n.3, p. 846-852, 2002.

KRAMER GC. Hypertonic resuscitation: physiologic mechanisms and recommendations for trauma care. **J Trauma**, Baltimore, v. 54, p.S89-S99, 2003.

LANDRY DW et al. Vasopressin deficiency contributes to the vasodilation of septic shock. **Circulation**, Dallas, v. 95, p.1122-1125, 1997.

_____ Vasopressin pressor hypersensitivity in vasodilatory septic shock. **Crit Care Med**, New York, v. 25, p. 1279-1282, 1997.

_____ Decifrando os mecanismos do choque. **Sci Am Brasil**, n. 22, p.80-5, 2004.

LETSON HL; DOBSON GP. Small volume 7,5% NaCl with 6% dextran-70 or 6% and 10% hetstarch are associated with arrhythmias and death after 60 minutes of severa hemorrhagic shock in the rat in vivo. **J trauma**, Baltimore, 2010,

LICINIO J; FROST P. The neuroimmune-endocrine axis: pathophysiological implications for the central nervous system cytokines and hypothalamus-pituitary-adrenal hormone dynamics. **Braz J Med Biol Res**, Ribeirao Preto, v. 33, n.10, p.1141-1148, 2000.

LV R, ZHOU W, YANG JJ, JIN Y, XU JG. Hydroxyethyl starch inhibits intestinal production of cytokines and activation of transcription factors in endotoxaemic rats. **J Int Med Res**, Northampton, v. 33, p. 379-388, 2005.

MAINES MD. The heme oxigenase system: A regulator of second messenger gases. **Ann Rev Pharmacol Toxicol**, Palo Alto, v. 37, p.517-554, 1997.

MANDRUP-POULSEN T et al. Cytokines and the endocrine system. II Roles in substrate metabolism, modulation of thyroidal and pancreatic endocrine cell functions and autoimmune endocrine diseases. **Eur J Endocrinol**, Oslo, v.134, n.1, p.21-30, 1996.

MARKS G, BRIEN J, NAKATSU K, MCLAUGHLIN B. Does carbon monoxide have a physiological function? **Trends in Pharmacological Sciences**, Amsterdam, v.12, p.185-188, 1991.

MARSH CB, WEWERS MD. The pathogenesis of sepsis. Factors that modulate the response to gram-negative bacterial infection. **Clin Chest Med**, Philadelphia, v. 17, p.183-197, 1996.

MARTEL, MJ, ARSENAULT MY, BARTELLAS E. Hemorrhagic shock. **J Obster Gynaecol Can**. v.24, p.504-511, 2002.

MARX G, PEDDER S, SMITH L, SWARAJ S, GRIME S, STOCKDALE H, LEUWER M. Resuscitation from septic shock with capillary leakage: Hidroxyethyl starch (130Kd),

but not ringer's solution maintains plasma volume and systemic oxygenation. **SHOCK**, Augusta, v. 21, n. 4, p. 336-341, 2004.

MCEWEN BS, SEEMAN T. Elaborating and testing the concepts of allostasis and allostatic load. **Ann N Y Acad Sci**, New York, v. 896, p. 30-47, 1999.

_____. Allostasis and allostatic load: implications for neuropsychopharmacology. **Neuropsychopharmacology**, New York, v. 22, p. 108-124, 2000.

_____. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. **Physiol Rev**, Bethesda, v. 87, n.3, p. 873-904, 2007.

MICHELLINI LC, MARCELO MC, AMICO J et al. Oxytocinergic regulation of cardiovascular function: studies in oxytocin-deficient mice. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, Bethesda, v. 284, p. H2269-H2276, 2003.

MONCADA S, PALMER RMJ, HIGGS EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology e pharmacology. **Pharmacol Rev**, Baltimore, v. 43, p.109-142, 1991.

MOREL A, LOLAIT SJ, BROWNSTEIN MJ. Molecular cloning and expression of rat V1a and V2 arginine vasopressin receptor. **Regul pept**, Amsterdam, v. 45, n.1-2, p. 53-59, 1993.

NASCIMENTO PJ, DE PAIVA FILHO O, DE CARVALHO LR, BRAZ JR. Early hemodynamic and renal effects of hemorrhagic shock resuscitation with lactated ringer's solution, hydroxyethyl starch and hypertonic saline with or without 6% dextran-70. **J Sur Res**, v. 136, n.1, p. 98-105, 2006.

NDUKA, OO; PARRILLO JE. The pathophysiology of septic shock. **Crit Care Clin**, New York, v. 25, n.4, p. 677-702, 2009.

OLIVEIRA RP, VELASCO IT, SORIANO FG, FRIEDMAN G. Hypertonic saline resuscitation in sepsis. **Crit Care**, New York, v. 6, p.418-423, 2002.

PACAK K, PALKOVITS M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. **Endocr Rev**, Baltimore, v. 22, p.502-548, 2001.

PARRILLO JE. Pathogenetic mechanisms of septic shock. **N Engl J Med**, Boston, v. 328 p. 1471-1477, 1993.

PAYA D, GRAY GA, FLEMING I, STOCLET JC. Effect of dexamethasone on the onset and persistence of vascular hyporeactivity induced by *E. coli* lipopolysaccharide in rats. **Circ Shock**, Baltimore, v. 41, p.103-112, 1993.

PEETERS RP et al. Reduced activation and increased inactivation of thyroid hormone in tissues of critically ill patients. **J Clin Endocrinol Metab**, Philadelphia, v. 88, n.7, p.3202-3211, 2003.

PETTERSSON A, RICKSTEN SE, TOWLE AC et al. Hemodynamics and plasma ANP after acute blood volume expansion in normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Acta Physiol Scand**, Stockholm, v. 133, p.513-518, 1988.

PHELPS CP, DONG JM, CHEN LT, MENZIES RA. Plasma interleukin-1 beta, prolactin, ACTH and corticosterone responses to endotoxin after damage of the anterior hypothalamic area. **Neuroimmunomodulation**, Basel, v.9, n.6, p. 340-51, 2001.

PIEPER GM, SIEBENEICH W. Oral administration of the antioxidant, N-acetylcysteine, abrogates diabetes-induced endothelial dysfunction. **J Cardiovasc Pharmacol**, New York, v. 32, n.1, p.101-105, 1998.

POLI-DE-FIGUEIREDO LF, CRUZ RJ JR, SANNOMIYA P, ROCHA-E-SILVA M. Mechanisms of action of hypertonic saline resuscitation in severe sepsis and septic shock. **Endocr Metab Immune Disord Drug Targets**, Hilversum, v.6, p. 201–206, 2006.

PORTER JC, SESSAM JF, ARITA J, REYMOND MJ. Hypothalamic-hypophysial vasculature and its relationship to secretory cells of the hypothalamus and pituitary gland. **Vitam Horm**, New York, v. 40, p. 145-174, 1983.

RAMACHANDRA RN, SEHON AH; BERCZI I. Neuro-hormonal host defence in endotoxin shock. **Brain Behav Immun**, San Diego, v.6, n.2, p. 157-16, 1992.

REES DD, CELLEK S, PALMER RMJ, MONCADA S. Dexamethasone prevents the induction by endotoxin of a nitric oxide synthase and the associated effect on vascular tone: An insight into endotoxin shock. **Biochem Biophys Res Commun**, New York, v.173, p.541-547, 1990.

REES DD, PALMER RMJ, MONCADA S. Role of endothelium derived nitric-oxide in the regulation of blood-pressure. **Proc Natl Acad Sci USA**, Washington, v. 86, p.3375-3378, 1989.

REHBERG S; ENKHBAATAR P; TRABER DL. Arginine vasopressin in septic shock: supplement or substitute for norepinephrine?. **Crit Care**, New York, v.13, n.4, p.178, 2009.

RETTORI V; GIMENO MF; KARARA A; GONZALEZ MC; MCCANN SM. Interleukin 1 alpha inhibits prostaglandin E2 release to suppress pulsatile release of luteinizing hormone but not follicle-stimulating hormone. **Proc Natl Acad Sci USA**, Washington, v. 88, n.7, p. 2763-2767, 1991.

RETTORI V, JURCOVICOVA J, MCCANN SM. Central action of interleukin-1 in altering the release of TSH, growth hormone, and prolactin in the male rat. **J Neurosci Res**, New York, v. 18, n.1, p. 179-183, 1987.

RIVEST S, RIVIER C. Central mechanisms and sites of action involved in the inhibitory effects of CRF and cytokines on LHRH neuronal activity. **Ann N Y Acad Sci**, New York, v. 697, p.117-141, 1993.

_____ Centrllly injected interleukin-1 beta inhibits the hypothalamic LHRH secretion and circulating LH levels via prostaglandins in rats. **J Neuroendocrinol**, Oxford, v. 5, n.4, p.445-50, 1993.

_____ Interleukin-1 beta inhibits the endogenous expression of the early gene c-fos located within the nucleus of LH-RH neurons and interferes with hypothalamic LH-RH

release during proestrus in the rat. **Brain Res**, Amsterdam, v. 613, n.1, p. 132-142, 1993.

_____ Molecular insights on the cerebral innate immune system. **Brain Behav Immun**, San Diego, v. 17, p.13-19, 2003.

RIVIER C, SHEN GH. In the rat, endogenous nitric oxide modulates the response of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to interleukin-1 beta, vasopressin, and oxytocin. **J Neurosci**, Baltimore, v. 14, p.1985-1993, 1994.

_____ Interaction of corticotropin-releasing factor and arginine vasopressin on adrenocorticotropin secretion in vivo. **Endocrinology**, Baltimore, v. 113, n.3, p. 939-942, 1983.

RIVERS EP, NGUYEN B, HAVSTAD S, *et al.* Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. **N Engl J Med**, Boston, v.345, p. 1345-1368, 2001.

RIVERS E, PARADIS NA, MARTIN GB, GOETTING ME, ROSENBERG JÁ, SMITHLINE HÁ, Appleton TJ, Nowark RM. Cerebral lactate uptake during cardiopulmonary resuscitation in humans. **J Cereb Blood Flow Metab**, New York, v. 11, n.3, p. 479-484, 1991.

RIVIWE C, VALE W. Interaction of corticotropin-releasing factor and arginine vasopressin on adrenocorticotropin secretion in vivo. **Endocrinology**, Baltimore, v.113, n.3, p. 939-942, 1983.

RODRIGUES LA, FRACASSO JF. VASCULAR hyporeactivity to angiotensin II induced by *Escherichia Coli* endotoxin is reversed by N ω -Nitro-L-Arginine, an inhibitor of nitric oxide synthase. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, Araraquara, v.28, n.3, p.341-345, 2007.

RUGINSK SG *et al.* Glucocorticoid modulation of neural activity and hormone secretion induced by blood volume expansion. **Exp Neural**, v. 206, n.2, p. 192-200, 1997.

RUSSELL JÁ, WALLEY KR, SINGER J *et al.* Vasopressin versus norepinephrine infusion in patients with septic shock. **N Engl J Med**, Boston, v. 358, p.877-887, 2008.

SATO K *et al.* Inhibition of ¹²⁵I organification and thyroid hormone release by interleukin-1, tumor necrosis factor alpha, and interferon-gamma in human thyrocytes in suspension culture. **J Clin Endocrinol Metab**, Philadelphia, v.70, n.6, p.1735-1743, 1990.

SCHALLER MD, WAEBER J, NUSSBERGER J, BRUNNER HR. Angiotensin II, vasopressin, and sympathetic activity in conscious rats with endotoxemia. **Am J Physiol**, Bethesda, v. 249, p.H1086-H1092, 1985.

SCHAPER J, AHMED R, SCHAFER T *et al.* Volume therapy with colloid solutions preserves intestinal microvascular perfusion in endotoxemia, **Resuscitation**, London, v.76, p.120-128, 2008.

SCHORTGEN F, LACHERADE J, BRUNEEL F, *et al.* Effects of hydroxyethyl starch and gelatin on renal function in severe sepsis: a multicenter randomized study. **Lancet**, London, v. 357, p.911–916, 2001.

SHARSHAR T et al. Circulating vasopressin levels in septic shock. **Crit Care Med**, New York, v.31, p.1752-1758, 2003.

SHATNEY CH, DEEPIKA K, MILITELLO PR, MAJERUS TC, DAWSON RB. Efficacy of hetastarch in the resuscitation of patients with multisystem trauma and shock. **Arch Surg**, Chicago, v. 118, p.804–809, 1983.

SHIELDS C et al. Hypertonic saline enhances host response to bacterial challenge by augmenting receptor-independent neutrophil intracellular superoxide formation. **Ann Surg**, Philadelphia, v. 238, p.:249– 257, 2003.

SHIH C C, CHEN SJ, CHEN A, WU JY, LIAW WJ, WU CC. Therapeutic effects of hypertonic saline on peritonitis-induced septic shock with multiple organ dysfunction syndrome in rats. **Crit Care Med**, New York, v. 36, n.6, p. 1864-1872, 2008.

SINGH A, CARLIN BW, SHADE D, KAPLAN PD. The use of hypertonic saline for fluid resuscitation in sepsis: A Review. **Crit Care Nurs Q**, Frederick, v. 32, n 1, p. 10-13.

SINGLETON KD, WISCHMEYER PE. Distance of cecum ligated influences mortality, tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 expression following cecal ligation and puncture in the rat. **Eur Surg Res**, Basel, v.35, p. 486-491, 2003.

SKLAR AH, SCHRIER RW. Central nervous system mediators of vasopressin release. **Physiology Rev**, Palo Alto, v. 63, p.1243-1280, 1983.

SONNEVILLE R, GUIDOUX C, BARRETT L et al. Vasopressin synthesis by the magnocellular neurons is different in supraoptic nucleus and in the paraventricular nucleus in human and experimental septic shock. **Brain Pathol**, v.20, p. 613-622, 2010..

SZABO C, THIEMERMANN C, WU CC, PERRETTI M, VANE JR. Attenuation of the induction of nitric oxide synthase by endogenous glucocorticoids accounts for endotoxin tolerance *in vivo*. **Proc Natl Acad Sci USA**, Washington, v. 91, p. 271-275, 1994.

THIEMERMANN C. Nitric oxide and septic shock. **Gen pharmacol**, Oxford, v.29, p.159-166, 1997.

_____ Inhibition of nitric oxide synthesis reduces the hypotension induced by bacterial lipopolysaccharides in the rat *in vivo*. **Eur J Pharmacol**, Amsterdam, v.182, p. 591-595, 1990.

THOMAS CJ, MAY CN, SHARMA AD et al. ANP, BNP and CNP enhance bradycardic responses to cardiopulmonary chemoreceptor activation in conscious sheep. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, Bethesda, v. 280, p. R282-R288, 2001.

TIAN J, LIN X, ZHOU W, XU J. Hydroxyethyl starch inhibits NF-kappaB activation and prevents the expression of inflammatory mediators in endotoxic rats. **Ann Clin Lab Sci**, Philadelphia, v.33, p. 451-458, 2003.

TITHERADGE MA. Nitric oxide in septic shock. **Biochim Biophys Acta**, Amsterdam, v. 1411, p.437-55, 1999.

TRIBOLLET E, BARBERES C, JARD S, DUBOIS-DAUPHIN M, DREIFUSS JJ. Localization and pharmacological characterization of high affinity binding sites for vasopressin and oxytocin in the rat brain by light microscopic autoradiography. **Brain Rev**, *Amsterdam*, v. 442, n.1, p. 105-118, 1988.

TURNBULL AV, RIVIER C. Corticotropin-releasing factor, vasopressin and prostaglandins mediate and nitric oxide restrains the hypothalamic-pituitary- adrenal response to acute local inflammation in the rat. **Endocrinology**, *Baltimore*, v. 137, n.2, p. 455-463, 1996.

_____ Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. **Physiol Rev**, *Bethesda*, v.79, n.1, p. 1-71, 1999.

VELASCO IT, PONTIERI V, ROCHA E SILVA M JR et al. Hypertonic NaCl and severe hemorrhagic shock. **AM J Physiol**, *Bethesda*, v. 239, p. H664-H673, 1980.

_____ Hypertonic and hyperoncotic resuscitation from severe hemorrhagic shock in dogs: A comparative study. **Crit Care Med**, *New York*, v.17, p. 261-4, 1989.

VENTURA RR, GOMES DA, REIS WL, ELIAS LL, VALENÇA MM, CARNIA EC, RETORRI V, MCCANN SM, ANTUNES-RODRIGUES J. Nitregic modulation of vasopressin, oxytocin and atrial natriuretic peptide secretion in response to sodium intake and hypertonic blood volume expansion. **Braz J Med Biol Res**, *Ribeirao Preto*, v. 35, n.9, p. 1101-1109, 2002.

WADE CE, KRAMER GC, GRADY JJ, FABIAN TC, YOUNES RN. Efficacy of hypertonic 7.5% saline and 6% dextran-70 in treating trauma: a meta-analysis of controlled clinical studies. **Surgery**, v. 122, p.609– 616, 1997.

WANG K, WASELENCHUK L, EVERED MD. Stimulation of drinking by bacterial endotoxins in the rat. **Physiol Behav**, *Elmsford*, v.54, p. 1005-1009, 1993.

_____ Protective roles of hydroxyethyl starch 130/0,4 in intestinal inflammatory response and oxidative stress after hemorrhagic shock and resuscitation in rats. **Inflammation**, *New York*, v. 32, n.2, p. 71-82, 2009.

WATANOBE H, HAYAKAWA Y. Hypothalamic interleukin-1 beta and tumor necrosis factor –alpha, but not interleukin-6, mediate the endotoxin-induced suppression of the reproductive axis in rats. **Endocrinology**, *Baltimore*, v.144, n.11, p. 4868-75, 2003.

WICHTERMAN KA, BAUE AE, CHAUDRY IH. Sepsis and septic shock-a review of laboratory models and a proposal. **J Surg Res**, *New York*, v.29, p.189-201, 1980.

WILLIAMS CY, HARRIS TG, BATTAGLIA DF, VIGUIE C, KARSCH FJ. Endotoxin inhibits pituitary responsiveness to gonadotropin-releasing hormone. **Endocrinology**, *Baltimore*, v.142, n.5, p. 1915-22, 2001.

YAMASHITA S, KIMURA H, ASHIZAWA K, NAGAYAMA Y, HIRAYU H, IZUMI M, NAGATAKI S. Interleukin-1 inhibits thyrotrophin-induced human thyroglobulin gene expression. **J Endocrinol**, *London*, v.122, n.1, p. 177-183, 1989.