

PAULO CÉSAR DE OLIVEIRA

*PRESSÃO ARTERIAL E MANIPULAÇÃO TUBULAR
RENAL DE SÓDIO EM UM MODELO DE
SEPTICEMIA EM RATOS.*

CAMPINAS

2001

PAULO CÉSAR DE OLIVEIRA

***PRESSÃO ARTERIAL E MANIPULAÇÃO TUBULAR
RENAL DE SÓDIO EM UM MODELO DE
SEPTICEMIA EM RATOS.***

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre
em Clínica Médica, área de concentração Clínica
Médica.*

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ ANTONIO ROCHA GONTIJO-FCM/UNICAMP

CAMPINAS

2001

UNIDADE	OL4p
Nº CHAMADA	T/UNICAMP
	OL4p
V	
TOMBO	48170
PROC	16-837108
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	
Nº CPD	

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

CM00165806-7

BID 235872

OL4p Oliveira, Paulo César de
 Pressão arterial e manipulação tubular renal de sódio em um modelo de septicemia em ratos / Paulo César de Oliveira . Campinas, SP : [s.n.], 2001.

Orientador : José Antonio Rocha Gontijo
 Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
 Faculdade de Ciências Médicas.

1. Septicemia. 2. Choque séptico. 3. Óxido nítrico. 4. Insuficiência renal aguda. I. José Antonio Rocha Gontijo. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Banca Examinadora da Dissertação de mestrado

Orientador(a): *Prof(a).Dr(a). José Antônio Rocha Gontijo*

Membros:

1. **Prof. Dr. José Antônio Rocha Gontijo**
 2. **Prof. Dr. José Francisco Figueiredo**
 3. **Profa. Dra. Maria José Queiroz Freitas Alves**
-

Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Clínica Médica, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

APROVADO

Data: 21/11/2001

DEDICATÓRIA

Aos meus pais João e Juliêta

À minha esposa Dalva e aos meus filhos

Rodrigo, Ana Paula e a Beatriz

AGRADECIMENTOS

“A Deus: Todo poder, toda honra, toda glória”

amém!

Ao Prof. Dr. José Antonio Rocha Gontijo, meu orientador; em sintonia com a ciência e as coisas humanas; dignidade, compreensão, firmeza e tolerância: referência ética para todos os seus admiradores.

Ao Prof. Dr. José Francisco Figueiredo, Diretor do NMCE - Unicamp, por ter me aberto as portas da pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Sebastião Rodrigues Ferreira Filho, colega e amigo. O “grande mentor” e entusiasta da pesquisa científica e da ciência na Universidade Federal de Uberlândia

Ao Prof. Dr. João Batista Michelotto, colega, amigo, e companheiro. O "mestre" na rota da ciência, e o responsável pelo estado de coisas.

A Dra Melani Ribeiro Custódio, colega acadêmica e profissional, que sem a sua ajuda profissional nada disto teria acontecido.

Aos amigos do NMCE, da Unicamp: Adilton Gomes Kós, Neide Gaspar, Roberto César Stahl, Jamilson Conceição Alves e Adriana Rachel de Moraes Crété.

Aos colegas da pós-graduação do NMCE a minha gratidão.

Ao Departamento de Clínica Médica da FAMED/UFU e aos colegas do Curso de Clínica Médica Médica II pela valiosa ajuda.

A todos minha gratidão.

	PÁG
RESUMO	<i>xxxi</i>
1. INTRODUÇÃO	37
Resposta celular inflamatória sistêmica na septicemia.....	42
Insuficiência renal aguda	43
Propostas terapêuticas para insuficiência renal aguda pós-sepse.....	44
Inibição da formação de óxido nítrico.....	45
Reposição de volume.....	47
2. OBJETIVOS	49
3. MATERIAIS E MÉTODOS	53
Animais	56
Grupos e protocolos experimentais.....	56
Métodos utilizados – Procedimentos cirúrgicos.....	59
Desenho experimental.....	63
Parâmetros funcionais analisados.....	66
Metodologia analítica.....	69
Análise estatística dos resultados.....	69
4. RESULTADOS	71
Grupo séptico de animais sepse-induzidos vs animais <i>sham</i> -operados.....	73
Grupo séptico-induzido vs <i>sham</i> -operados tratados com L-NAME	81
Grupos sépticos-induzidos não tratados vs tratados com NaCl 0,15M.....	89

5. DISCUSSÃO.....	99
6. CONCLUSÕES.....	113
7. SUMMARY.....	117
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	123
11. ANEXOS.....	135

Lista 1. Termos representativos dos parâmetros da função renal

V'	= Fluxo urinário minuto
C_{Cr}	= <i>Clearance</i> de Creatinina
C_{Li}	= <i>Clearance</i> de Lítio
C_{Na}	= <i>Clearance</i> de Sódio
C_K	= <i>Clearance</i> de Potássio
RFG	= Taxa de Filtração Glomerular
FE_{Li}	= Fração de Excreção de Lítio
FE_{Na}	= Fração de Excreção de Sódio
FEP_{Na}	= Fração de Excreção Proximal de Sódio
$FEPP_{Na}$	= Fração de Excreção Pós Proximal de Sódio
FE_K	= Fração de Excreção de Potássio

Lista 2. Termos representativos da bioquímica do sangue

P_{Na}	= Concentração Plasmática de Sódio
U_{Na}	= Concentração Urinária de Sódio
P_K	= Concentração Plasmática de Potássio
U_K	= Concentração Urinária de Potássio
P_{Li}	= Concentração Plasmática de Lítio
U_{Li}	= Concentração Urinária de Lítio
P_{Cr}	= Concentração Plasmática de Creatinina
U_{Cr}	= Concentração Urinária de Creatinina

Lista 3. Termos genéricos

CLP	= Ligadura e perfuração do ceco
ANOVA	= Análise de variância
DC	= Débito cardíaco
FC	= Frequência cardíaca
FF	= Fração de filtração
FMO	= Falência de muitos órgãos
FSR	= Fluxo sanguíneo renal
GMPc	= Guanidine monophosphato cíclico
HCO_3^-	= Bicarbonato
IL	= Interleucina
IP	= Intraperitoneal
IRA	= Insuficiência renal aguda
L-NAME	= N ^o -Nitro-L-Arginine Methyl ester
L-NMMA	= N ^o -Monometil-L-Arginine
LPS	= Lipopolissacaríde
NaCl 0,15M	= Solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%
NO	= Óxido nítrico
NOS	= Óxido nítrico sintase
cNOS	= Óxido nítrico sintase constitutiva
iNOS	= Óxido nítrico sintase indutiva
PA	= Pressão arterial
PAC	= Pressão arterial caudal

Lista 3. Termos genéricos

PAM	= Pressão arterial média
PaO ₂	= Pressão arterial de oxigênio
PaCO ₂	= Pressão arterial de gás carbônico
PGI	= Prostaciclina
p.c.	= Peso corporal
pH	= Padrão hidrogênio
RFG	= Taxa de filtração glomerular
Sag	= Superantígeno
TNF	= Fator de necrose tumoral
UTI	= Unidade de terapia intensiva
vs	= Versus ou comparados

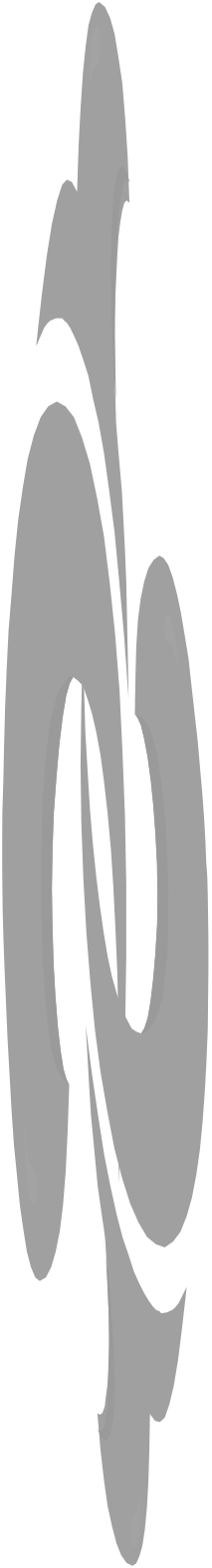
	PÁG.
Tabela 1: Contituição dos grupos experimentais.....	58
Tabela 2: Alterações temporais da massa corporal, da pressão arterial caudal, do fluxo urinário minuto e do <i>clearance</i> de creatinina em ratos sépticos após ligadura e punção cecal (CLP) comparados aos animais controles.....	137
Tabela 3: Alterações temporais do <i>clearance</i> de lítio e fração de excreção tubular renal de sódio, da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após CLP comparados aos animais controles.....	138
Tabela 4: Alterações temporais da massa corporal, da pressão arterial caudal, do fluxo urinário minuto e do <i>clearance</i> de creatinina em ratos sépticos após CLP comparados a um grupo de animais controle, após administração oral de N ^o -Nitro-L-Arginine Methil Ester (L-NAME).....	139
Tabela 5: Alterações temporais do <i>clearance</i> de lítio e fração de excreção tubular renal de sódio, da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após CLP comparados a um grupo de animais controle, após administração oral de L-NAME.....	140
Tabela 6: Alterações temporais da massa corporal, da pressão arterial caudal, do fluxo urinário minuto e do <i>clearance</i> de creatinina em ratos sépticos após CLP tratados com salina subcutânea, comparados a um grupo controle de animais com septicemia sem tratamento.....	141

Tabela 7: Alterações temporais do <i>clearance</i> de lítio e fração de excreção tubular renal de sódio, da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após CLP tratados com salina subcutânea, comparados a um grupo animais com septicemia sem tratamento.....	142
Tabela 8: Valores gasométricas	143
Tabela 9: Valores gasométricos para diferentes grupos experimentais.....	143

	PÁG.
Diagrama 1: Método indireto de medida da pressão arterial.....	62
Diagrama 2: Protocolo de estudos em gaiolas metabólicas.....	64
Figura 1: Valores gasométricos e alterações temporais da massa corporal e da pressão arterial caudal em ratos sépticos após ligadura e punção cecal (CLP) comparados aos animais controles.....	74
Figura 2: Alterações temporais do fluxo urinário minuto e do <i>clearance</i> de creatinina em ratos sépticos após CLP comparados aos animais controles.....	76
Figura 3: Alterações temporais do <i>clearance</i> de lítio e fração de excreção tubular renal de sódio em ratos sépticos após CLP comparados aos animais controles.....	78
Figura 4: Alterações temporais da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após CLP comparados aos animais controles.....	80
Figura 5: Alterações temporais da massa corporal e da pressão arterial caudal em ratos sépticos após CLP comparados a um grupo controle, tratados com N ^o -Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME).....	82
Figura 6: Alterações temporais do fluxo urinário minuto e do <i>clearance</i> de creatinina em ratos sépticos após CLP comparados a um grupo controle, tratados com L-NAME.....	84
Figura 7: Alterações temporais do <i>clearance</i> de lítio e fração de excreção tubular renal de sódio em ratos sépticos após CLP comparados a um grupo controle, tratados com L-NAME.....	86

Figura 8:	Alterações temporais da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após CLP comparados a um grupo controle tratados com L-NAME.....	88
Figura 9:	Alterações temporais da massa corporal e da pressão arterial caudal em ratos sépticos após CLP tratados com salina isotônica subcutâneo, comparados a um grupo controle de animais com septicemia sem tratamento.....	90
Figura 10:	Alterações temporais do fluxo urinário minuto e do <i>clearance</i> de creatinina em ratos sépticos após CLP tratados com salina isotônica subcutâneo, comparados a um grupo controle de animais com septicemia sem tratamento.....	92
Figura 11:	Alterações temporais do <i>clearance</i> de lítio e da fração de excreção tubular renal de sódio em ratos sépticos após CLP tratados com salina isotônica subcutâneo, comparados a um grupo controle de animais com septicemia sem tratamento.....	94
Figura 12:	Alterações temporais da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após CLP tratados com salina isotônica subcutâneo, comparados a um grupo controle de animais com septicemia sem tratamento.....	97
Figura 13:	Alterações temporais da massa corporal, da pressão arterial caudal, do fluxo urinário minuto, do <i>clearance</i> de creatinina, do <i>clearance</i> de lítio, da fração de excreção tubular renal de sódio, da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após ligadura e punção cecal comparados aos animais controles.....	145

- Figura 14:** Alterações temporais da massa corporal, da pressão arterial caudal, do fluxo urinário minuto, do *clearance* de creatinina, do *clearance* de lítio, da fração de excreção tubular renal de sódio da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após ligadura e punção cecal comparados aos animais controles, tratados com N^o-Nitro-L-Arginine Methil Ester..... 147
- Figura 15:** Alterações temporais da massa corporal, da pressão arterial caudal, do fluxo urinário minuto, do *clearance* de creatinina, do *clearance* de lítio, da fração de excreção tubular renal de sódio, da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após ligadura e punção cecal tratados com salina isotônica subcutâneo comparados a um grupo controle animais com septicemia sem tratamento..... 149



RESUMO

A insuficiência renal aguda é uma complicação freqüente em pacientes sépticos associada com uma alta taxa de mortalidade. Uma característica importante é um decréscimo na taxa de filtração glomerular, presentes em situações onde o fluxo sanguíneo precisa ser mantido. Prevalendo a hipótese na qual a patogênese da insuficiência renal sugere uma liberação não controlada e inapropriada de vários mediadores inflamatórios. Na septicemia dominante, com ou sem choque séptico o tratamento proposto pode ser extremamente dificultado pelo déficit clínico. Está bem claro que os antibióticos são freqüentemente inadequados em hospedeiros imunocomprometidos embora sejam mantidos como terapia inicial.

Adicionalmente, o controle nutricional, da pressão arterial, e uma adequada administração de fluídos e de eletrólitos são críticos na manutenção de pacientes com septicemia. Um dos modelos de septicemia freqüentemente utilizado é o da ligadura e perfuração cecal em ratos. Este modelo é semelhante a sepse humana em vários aspectos importantes, tal como uma fase precoce da septicemia hiperdinâmica e hipermetabólica, seguido de uma fase tardia da septicemia hipodinâmica. O abscesso intra-abdominal causador desta condição e a desvitalização de tecidos, sendo também fontes comuns de septicemia em pacientes.

Estudos recentes também sugerem o envolvimento do óxido nítrico (NO), gerado pela óxido nítrico sintase induzível (iNOS), na patogênese da insuficiência renal endotoxina-induzida. Vários estudos demonstram que administração a curto prazo de N^ω-Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME), um inibidor da óxido nítrico sintase (NOS), resulta em um aumento imediato da pressão arterial em ratos, coelhos e cães. O aumento imediato da pressão arterial reflete principalmente em um aumento do tônus do músculo liso vascular, com uma conseqüente queda da NO sintase. Uma atividade aumentada do nervo simpático renal tem sido descrita após a inibição aguda da NO sintase, sugerindo que os mecanismos neurogênicos podem contribuir na elevação da pressão arterial.

A administração de um adequado volume de fluído é importante para a resposta hiperdinâmica e também para a manutenção do controle do estado hemodinâmico após a ligadura e perfuração cecal (CLP) nos ratos. No presente estudo, 3 mililitros por 100 gramas de peso corporal de uma solução de NaCl 0,15M foram administrados via subcutânea imediatamente após CLP, como recomendado previamente.

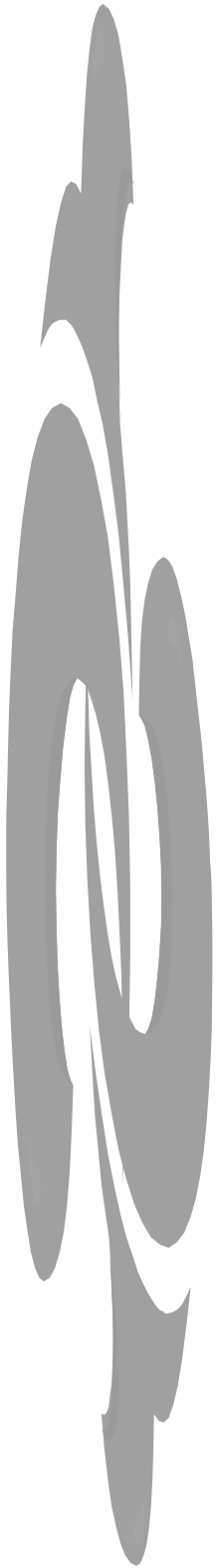
O presente estudo foi desenvolvido para comparar o comportamento da pressão arterial e da manipulação tubular renal de sódio em três grupos (grupo experimental *versus* controle, n=10 cada) de ratos Wistar-Hannover, masculinos, adultos (pesando entre 250-300g) as 3, 6, 12 e 18 horas após ligadura e perfuração cecal (CLP): Ratos: 1) CLP e *sham*-operados veículo-tratado, 2) CLP e *sham*-operados L-NAME-tratados, e 3) CLP e *sham*-operados 0,15M NaCl-tratados. Três séries de experimentos foram desempenhados entre 3 e 18 horas, uma vez que a maioria dos animais morreram depois de 24 horas após a CLP.

A pressão arterial e a avaliação da função renal foram realizados às 3, 6, 12 e 18h após CLP em ratos conscientes através do método cauda-manguito e os testes da função renal realizados em gaiolas metabólica individuais através dos *clearances* renal de creatinina e lítio no 7º dia seguinte ao início da administração de L-NAME (60mg/kg/dia) e as 3, 6, 12 e 18h, e após administração de 3ml/100g de peso corporal de NaCl 0,15M sendo que a pressão arterial foi progressivamente aumentada de $127\pm 3,5$ mmHg para $149\pm 13,0$ mmHg ($P<0.05\%$) no grupo *sham*-operado e a pressão arterial significativamente decresce para $96\pm 8,0$ mmHg, 18h depois da CLP. Assim, o desenvolvimento da hipotensão arterial foi significativamente lento e atenuado nos ratos sépticos L-NAME-tratados. Por volta do 7º dia de tratamento o aumento da pressão arterial foi acompanhado por uma queda não significativa do *clearance* de creatinina de 310 ± 32 µl/min/100g para 305 ± 23 µl/min/100g e sem alterações da fração de excreção urinária de sódio. No grupo CLP, o tratamento com L-NAME não preveniu a queda da filtração glomerular (de 294 ± 25 µl/min/100g para 185 ± 16 µl/min/100g), bem como uma rejeição proximal de sódio (de $43,7\pm 4,4\%$ para $53,0\pm 3,3\%$) 18h após indução da septicemia. Sendo acompanhado de um aumento adicional na fração de excreção renal de potássio (de $0,15\pm 0,04\%$ para $0,31\pm 0,03\%$) em ratos *sham*-operados e em ratos com septicemia, respectivamente, e uma elevação no proximal seguido por uma consecutiva queda da excreção pós-proximal do sódio comparado com a excreção urinária de sódio sem alterações no grupo *sham*-operado.

A reposição com fluido foi realizada com o objetivo de melhorar a circulação sangüínea e a função renal em ratos sépticos. A administração de um volume adequado de fluido é importante para manutenção da estabilidade hemodinâmica após a CLP em ratos. Entretanto, no presente estudo, 3ml por 100g de peso corporal de solução de NaCl 0,15M

administrada subcutâneamente não melhoraram significativamente a taxa de sobrevivência e da função tubular renal. Nossos resultados sugerem que o fluido de ressuscitação promovem um decréscimo lento e atenuado da pressão arterial e da taxa de filtração glomerular, com base na compreensão corrente da fisiopatologia do balanço de fluídos, deveria ser assegurado liberação adequada da oxigenação do sangue, otimizando a pressão de perfusão e do volume circulante independentemente de um aumento adicional na reabsorção tubular de sódio nos segmentos dos néfrons. Pode-se recomendar a manutenção em níveis elevados a pressão venosa durante a administração do fluido de ressuscitação, visto que um fluido de ressuscitação adequado poderia sustentar a função renal, e revelar ser um bom resultado.

Palavras Chaves: Sepsis experimental, função renal, óxido nítrico, pressão arterial, natriurese e *clearance* de lítio.



1. INTRODUÇÃO

Septicemia caracteriza-se pela multiplicação hematogênica bacteriana de etiologia multicausal. Acomete principalmente pacientes em estado crítico, após traumatismos graves, procedimentos cirúrgicos ou como complicação de procedimentos em terapia intensiva como a cateterização intravascular, a administração intravenosa de soluções com drogas, soluções eletrolíticas e de nutrição parenteral, ou a cateterização vesical.

Segundo VINCENT (1996), as complicações decorrentes de uma septicemia são conseqüências direta de efeitos destrutivos e tóxicos causados pela disseminação intravascular das bactérias e endotoxinas.

Endotoxina, segundo WOLF (1904), caracteriza-se como glicolipoproteína constituinte da parede celular das bactérias.

A análise química da endotoxina purificada indica que esta é constituída quimicamente de uma porção de polissacarídeo ligada covalentemente com uma molécula de gordura denominada lípide A, recebendo a partir de então a denominação de lipopolissaríde (LPS) (SHEAR & TURNER, 1943).

Atualmente, os termos endotoxina (WOLFF, 1904) e LPS (SHEAR & TURNER, 1943) são usados como sinônimos para a mesma molécula (RIETSCHEL et al., 1996), caracterizando-a como molécula resistente ao calor, associada à célula inicialmente identificadas no *Vibrio cholerae* e posteriormente na *Salmonella* e na *Serratia*.

As endotoxinas foram isoladas na década de 50, em bactérias do tipo gram-negativas, BORDEN & HALL (1951); BRAUDE et al. (1953), sugeriram que o choque séptico em humanos provocados por bactérias gram-negativas fosse causado por endotoxinas. Elas apresentam um importante espectro de virulência, provocando no hospedeiro, manifestações tais como: pirogenicidade, leucopenia ou leucocitose e choque hemodinâmico irreversível (RIETSCHEL et al., 1996).

Obviamente, não somente a endotoxina, mas também a exotoxina (superantígeno [SAg]), um grupo de proteínas bacterianas e virais com a capacidade de interagir com células imunologicamente competentes e linfócitos T (HERMAN et al., 1991), induzem no rato, choque séptico letal.

MARCHANT (1995), observou também que, na septicemia ocorre uma seqüência de respostas imunológicas implicando uma rede complexa de mediadores sintetizado no hospedeiro relacionados aos mecanismos de defesa natural do organismo. Portanto, a presença de hemoculturas positivas não parece ser o requerimento essencial para o estabelecimento do curso e prognóstico do choque séptico (VINCENT, 1996).

Um conjunto de sinais e sintomas que caracterizam a septicemia serão descritos abaixo:

Sinais e sintomas da septicemia

A hipotensão arterial [pressão arterial média (PAM) inferior a 90mmHg] evolui para disfunção circulatória aguda, atenuada efetivamente pelo uso de infusão de salina endovenosa, suporte inotrópico e de vasoconstrictores, que quando utilizados promovem respostas consistentes e imediatas. Sinais de hipoperfusão tecidual como oligúria (redução do fluxo urinário <20 mL/hora), alterações neurosensoriais, elevação de lactato sérico, febre ou hipotermia, leucocitúria, taquipnéia, taquicardia e alterações do tônus vascular, são mediados por inúmeras substâncias, liderados principalmente pela liberação de óxido nítrico (NO) (VINCENT, 1996).

Adicionalmente, a elevação dos níveis séricos de IL-6 e TNF α estão correlacionados com a severidade do choque séptico (MARECAUX et al., 1995; BOYLE et al., 2000).

Alterações hemodinâmicas: Foram observados no choque séptico, dois regimes hemodinâmicos distintos:

O “choque morno” com padrão hiperdinâmico e hipercinético típico da fase inicial do choque séptico onde usualmente deveria estar presente, a taquicardia, o débito cardíaco (DC) elevado ou normal, uma redução significativa da resistência vascular sistêmica (PARKER & PARRILO, 1983; PARKER et al., 1984; SHOEMAKER, 1971; ABRAHAM et al., 1983; GROENEVELD et al., 1986; VINCENT et al., 1992)

O “choque frio” com padrão hipodinâmico e hipocinético caracterizado pela redução do DC, vasoconstricção periférica e hipoperfusão das extremidades e observado na fase tardia do choque séptico habitualmente refratário à terapêutica com reposição volêmica e drogas vasomotoras (RUOKENEN, 1991), sendo demonstrado em um estudo retrospectivo realizado em 2469 pacientes em terapia intensiva, no qual registrou-se uma taxa de mortalidade intra-hospitalar superior a 73% por choque séptico, sendo a hipotensão arterial refratária à terapêutica a principal causa de falência de múltiplos órgãos e de morte.

Uma redução importante, mas transitória no padrão hipocinético hemodinâmico foi obtido com uma reposição volêmica mais agressiva e associada com agentes inotrópicos e vasomotores (VINCENT et al., 1990; VINCENT, 1996).

O débito cardíaco alterado no choque séptico é causado pelo desequilíbrio entre a oferta e a demanda do miocárdio de oxigênio, revelando um elevado índice cardíaco.

Um fator preponderante no prognóstico de pacientes em choque séptico é a manutenção da homeostase hemodinâmica (VINCENT et al., 1990; METRANGOLO et al., 1995).

Depressão da função miocárdica: Citocinas e o NO têm sido implicados nas alterações contráteis (BRADY et al., 1992).

A elevação transitória do débito cardíaco é causada pelo aumento do cronotropismo cardíaco e pela diminuição da resistência vascular com conseqüente elevação do volume sistólico e da fração de ejeção ventricular (PARKER, 1984).

Alteração vascular: A secreção inicial local de NO (um dos mediadores de vasodilatação), têm suplantado a contraregulação vasomotora da atividade alfa-receptora catecolaminérgica. O insucesso desta auto-regulação promove uma errática distribuição tecidual do fluxo sanguíneo, tendo como conseqüência uma redução na regulação vasomotora, obstrução microvascular, formação de *shunt* arterio-venoso, edema e menor extração tissular de oxigênio (VINCENT, 1996).

Alteração da perfusão orgânica: Manchas na pele e redução do débito urinário são sinais precoces da hipoperfusão tecidual. A redução da perfusão renal é estimada pela queda na concentração urinária do sódio e pela elevação da osmolaridade urinária. No choque séptico que apresenta uma evolução para isostenúria, sugere uma disfunção tubular evidente. Alterações do fluxo sanguíneo cerebral apresentando sinais importantes como obnubilação, desorientação e confusão mental persistente (PARKER & EMERSON, 1977; EKTROM-JODAL et al, 1982; MILLER et al, 1987; BONE et al., 1991).

Lactato sanguíneo: Na septicemia, a queda do pH sanguíneo às custas de uma elevação na lactemia além de ser indicativo de um desequilíbrio entre suprimento e captação tecidual de oxigênio, prevalecendo mecanismos metabólicos anaeróbicos, também sugere alterações do metabolismo do piruvato e aumento da atividade glicolítica (VANY, 1996).

Resposta celular inflamatória sistêmica na septicemia.

Na septicemia o recrutamento de células inflamatórias em órgãos ou sistemas comprometidos, caracteriza-se como um mecanismo necessário e essencial para defesa do hospedeiro a agentes agressores e resulta da interação entre moléculas cuja superfície podem estar expressas na membrana celular de leucócitos e do endotélio vascular (PAJKRT, 1996).

Choque séptico

Quando no processo evolutivo da septicemia estabelece o colapso circulatório irreversível, fica estabelecido o choque séptico, disfunção hemodinâmica frequente, acompanhado de elevada taxa de morbidade e mortalidade. O choque séptico caracteriza-se por um estado de inadequada perfusão tecidual induzidos pela bacteremia e pela conseqüente hipotensão, hipoxemia e déficit nutricional tecidual (PARRILO et al., 1993).

Alguns pacientes com bacteremia por *neisseria meningitidis*, *streptococcus pneumoniae*, *streptococcus pyogenes*, *haemophilus influenza* e outras espécies podem apresentar inicialmente uma circulação hiperdinâmica seguida gradualmente por uma resposta hipodinâmica devido à redução da performance cardíaca e a vasodilatação irreversível (MERCIER et al., 1988).

Insuficiência Renal Aguda

O processo evolutivo da septicemia endotóxica estabelece o colapso circulatório, evoluindo para falência de múltiplos órgãos (FMO), liderado precocemente pela disfunção renal, culminando no estabelecimento de insuficiência renal aguda (MANZO et al., 1993). Esta seqüência de eventos é pouco conhecida.

Embora os mecanismos da insuficiência renal aguda não estejam ainda bem definidos na endotoxemia, alguns mediadores cujo envolvimento é bem estabelecido particularmente o fator de necrose tumoral (TNF α), podem desencadear uma cascata de alterações metabólicas e hemodinâmicas que estão implicadas na redução da taxa de filtração glomerular e do fluxo sanguíneo renal (LUGON et al., 1989; HIRSCHBERG & KOPPEL, 1989; THIJS & THIJS, 1998).

PÁLSON et al., 1997, relataram recentemente, uma evolução rápida e precoce para falência renal em modelos animais utilizados para o estudo da septicemia. Neste estudo, as seguintes alterações foram observadas: hipotensão arterial, redução do fluxo plasmático renal, lesão nefrotóxica epitelial da endotoxina ou de seus mediadores e, a elevação da atividade simpática eferente. Estas modificações metabólicas ou hemodinâmicas são alguns dos fatores que podem comprometer a função renal.

Dados obtidos em estudos de modelos experimentais de PÁLSON et al. (1987) que revelaram durante a infusão intravenosa de *E. coli* vivas em ratos conscientes, uma queda de aproximadamente 40% do débito cardíaco e de até 60% do volume plasmático. Neste estudo a pressão arterial média decresceu aproximadamente 20% aos 180 minutos após o início desta infusão bacteriana.

Foi demonstrado também, que a infusão bacteriana induz a uma elevação de duas a três vezes a atividade simpática renal (PÁLSON et al., 1998).

Observações feitas por KREFT et al. (2000), após perfusão em preparação de rins isolados de ratos com perfusato contendo *E. coli* uropatogênica selvagem tipo 536/21 WT, mostraram uma deterioração aguda da função renal com redução significativa da taxa de filtração glomerular e do fluxo sanguíneo renal. Após perfusão renal com uma linhagem de bactéria com escassa virulência patogênica (tipo 536/21), não foram observadas modificações funcionais relevantes dos rins, quando comparados a ratos controles.

WU et al. (1999), compararam a função renal de ratos com insuficiência renal aguda pós-septicemia induzida pela administração intraperitoneal de *E. coli*, a ratos submetidos à isquemia por clamp da artéria renal durante 60 minutos, seguido de nefrectomia contralateral e a animais após administração intraperitoneal de *E. coli* associada à isquemia. A disfunção renal foi significativamente mais acentuada nos dois grupos submetidos à administração de *E. coli*.

KUHLMANN et al. (1994), demonstraram que a septicemia por perfuração cecal, evolui para necrose do ceco e formação de abscesso pericecal, modelo análogo àquele em pacientes com insuficiência renal aguda secundária ao choque séptico humano. Este modelo de septicemia apresenta uma evolução clínica caracterizada por uma fase inicial hiperdinâmica e hipercatabólica, seguida por um período hipodinâmico no qual ocorrem elevações dos níveis séricos de lactato e uma significativa queda do fluxo sanguíneo em órgãos e tecidos.

Propostas terapêuticas para insuficiência renal aguda pós-sepse

A septicemia caracteriza-se propriamente por um conjunto de achados clínicos e laboratoriais marcados por uma reação inflamatória em vários sistemas e aparelhos.

Durante o processo infeccioso observado em doentes críticos a evolução para o choque séptico na maioria dos casos é inexorável, sendo que procedimentos terapêuticos permanecem pouco efetivos e conseqüentemente pouco conhecidos.

A reposição volêmica é utilizada como tratamento inicial mais importante, seguida de uso de suporte inotrópico com drogas vasoativas, na tentativa de restauração hemodinâmica, acompanhada pelo uso de antibióticos específicos (HEEMSKERK et al., 1997^A).

Recentemente, abordagens empíricas têm utilizado anticorpos monoclonais ou proteínas recombinantes na tentativa de bloquear a resposta inflamatória durante a septicemia. Estas intervenções, entretanto, não modificam a sobrevida dos pacientes ou animais acometidos (HEEMSKERK et al., 1997^A).

A imunoterapia tem sido empregadas nos modelos animais, utilizando-se antagonistas do receptor de interleucina-1 (IL-1Ra), anticorpos antifator de necrose tumoral (anti-TNF) e antagonistas do fator ativador de plaquetas (PAFa), os resultados observados, entretanto, têm sido imprevisíveis (PAJKRT, 1996).

Assim, a proposta de estudos de modelos animais tem sido implementada na tentativa de definir os possíveis mecanismos fisiopatológicos para as disfunções metabólicas e de órgãos ou tecidos durante a septicemia, bem como definir e propor com bases nestas evidências fisiopatológicas, procedimentos terapêuticos eficazes (BRANDTZAEG et al., 1996).

Inibição da formação de óxido nítrico

Os mecanismos fisiopatológicos dos modelos experimentais de septicemia comandados por inúmeros mediadores, e liderados pela secreção parácrina de óxido nítrico (NO), são pouco definidos.

Tem sido evidenciado que o sistema nitrérgico está envolvido na gênese da sepse irreversível como mediador secundário da endotoxemia (EVANS, 1993), e também, que o NO derivado da oxido nítrico sintase induzível (iNOS) é mediadora na septicemia de hipotensão arterial e de distúrbios metabólicos (STRUNK et al., 2001).

O efeito do N^o-Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME), um inibidor da atividade da enzima óxido nítrico sintase (NOS) que é uma enzima produtora de NO (SESSA, 1994), sobre a pressão arterial e função renal em animais septicêmicos não é conhecida.

Entretanto, STRUNK et al. (2001), mostraram que a inibição não seletiva da iNOS pelo L-NAME, pode contribuir para a prevenção da hipotensão arterial e das alterações metabólicas em ratos portadores de septicemia, preservando assim, uma vasodilatação endotélio-dependente.

Os estabelecimentos destes aspectos podem permitir uma abordagem terapêutica mais racional e efetiva desta grave situação clínico-experimental.

PAJKRT (1996), demonstrou que o NO é um importante regulador do tônus vascular mesmo durante a septicemia. As células endoteliais mantêm o tônus vascular através da produção de NO pela estimulação da óxido nítrico sintase constitutiva (cNOS) I e II a partir da L-arginina. As citocinas induzem a produção NO através da óxido nítrico sintase induzível (iNOS) tipo III. O aumento da produção de NO pode estar envolvido patogenicamente no desenvolvimento de hipotensão irreversível. Contudo uma inibição completa da NOS poderia não ter benefício pleno no tratamento da hipotensão arterial e da septicemia, uma vez que o NO inibe tanto a adesão dos neutrófilos CD 18-dependente quanto à agregação de plaquetas nas células endoteliais.

O bloqueio específico da produção de NO resulta na redução da severidade do processo inflamatório (DINARELO, 1996).

NO é considerado mediador secundário de endotoxemia atuando localmente como vasodilatador, cujo efeito celular parece ser sinalizado pela elevação intracelular de via estimulação 3',5'-Guanosina Monophosphato cíclico (GMPc), inibindo a agregação plaquetária bem como a secreção local de prostaciclina e outras substâncias vasomotoras de origem endotelial (EVANS & COHEN, 1996).

Tem sido demonstrado que o NO é mediador secundário e o alvo final da vasodilatação e do choque LPS-induzido (BOYLE et al., 2000).

Por outro lado, a inibição da síntese de NO pelo análogo de L-arginina, N^oNitro L-Arginine Methyl Ester (L-NAME) provocam uma atenuação da queda pressórica TNF_α-induzida em cães (SHULTZ et al., 1992).

O desenvolvimento de hipotensão arterial é certamente um dos principais fatores deletérios do choque séptico, conduzindo uma isquemia que danifica órgãos e tecidos.

A GMPc tem muitos efeitos dentro células, mas sua ação principal é no relaxamento vascular que produz vasodilatação sistêmica conduzindo a queda da resistência vascular periférica (RVP) e com conseqüência queda na pressão arterial sistêmica (GLAUSER et al., 1991).

Análogos da L-arginina, a N⁰-Monometil-L-Arginine (L-NMMA), e a N⁰-Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME) podem atenuar a queda pressórica LPS-induzida ou após injeção de bactérias vivas em modelos experimentais (THIEMERMANN & VANE, 1990).

O nível basal de NO e a produção de isoformas constitutivas (cNOS) endotelial é essencial para manutenção da perfusão tecidual e, em alguns modelos de septicemia em animais tratados com inibidores da NOS, tem sido verificado colapso vascular, rápida falência de órgãos e morte (NAVA et al., 1992; WRIGTH et al., 1992; BROUCKAERT et al., 1996; EVANS et al., 1996).

Reposição de volume

A reposição volêmica minimiza o choque hemodinâmico induzido pela septicemia auxiliando na perfusão microcirculatória, restaurando o fluxo sangüíneo e a oferta de oxigênio para órgãos vitais, como foram demonstrados por HEEMSKERK et al. (1997^A), porque, no tratamento inicial do choque séptico, a reposição volêmica com soluções cristalóides ou colóides promove uma melhora hemodinâmica significativa, associada a uma melhor perfusão tissular.

Uma etapa critica da septicemia é a queda da taxa de filtração glomerular. A fluidoterapia nem sempre tem sido capaz de prevenir a falência renal aguda.

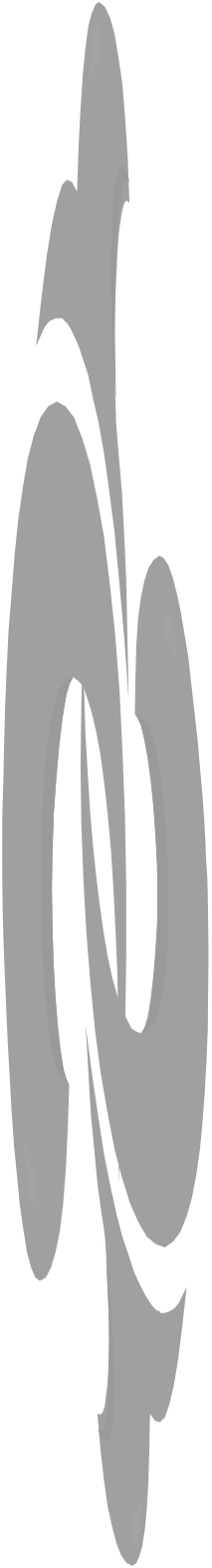
A administração de fluido de ressuscitação pode beneficiar a função renal em experimentais, utilizando a administração de bactérias vivas, enquanto a falência renal induzida pela endotoxemia não pode ser prevenida pela volumeterapia com colóides ou cristalóides (HEEMSKERK et al., 1997^A).

VAN LAMBALGEN et al. (1993), revelaram que durante choque endotóxico, o fluxo plasmático renal decresce e a fração da filtração (FF) não modifica compensando esta queda. Esta mudança pode resultar em insuficiência renal, mas seu mecanismo não é compreendido. Endotoxinas induzem a liberação de mediadores, tais como citocinas, proteínas de fase aguda, fator de ativação plaquetária, derivados do ácido aracdônico (ex. prostaglandinas, tromboxanes, leucotriens), ou induzem a migração ou taquifilaxia leucocitária.

SMITH et al. (1993) revelaram também que, com a reposição volêmica em modelos animais durante a endotoxemia produzida pela injeção intravenosa de LPS e a septicemia produzida pela CLP foram observados uma melhora na sobrevivência nestes grupos experimentais, e estavam também associados a uma elevação atenuada dos níveis séricos do fator de necrose tumoral (TNF α), quando comparados aos seus controles.

Os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na septicemia e no choque séptico em pacientes, bem como em modelos experimentais são pouco conhecidos.

A definição destes aspectos permitirá uma abordagem terapêutica mais racional e efetiva. Além do uso de antibióticos, medidas de suporte hemodinâmico parecem ser fundamentais tais como: adequado suporte nutricional, reposição e manuseio adequado de fluídos e eletrólitos, supressão ou drenagem de focos de infecção que são críticos para recuperação efetiva de pacientes com septicemia.



2. OBJETIVOS

Assim, com base nos conhecimentos previamente descritos o presente estudo visa avaliar as possíveis alterações renais envolvidas na septicemia induzida pela CLP.

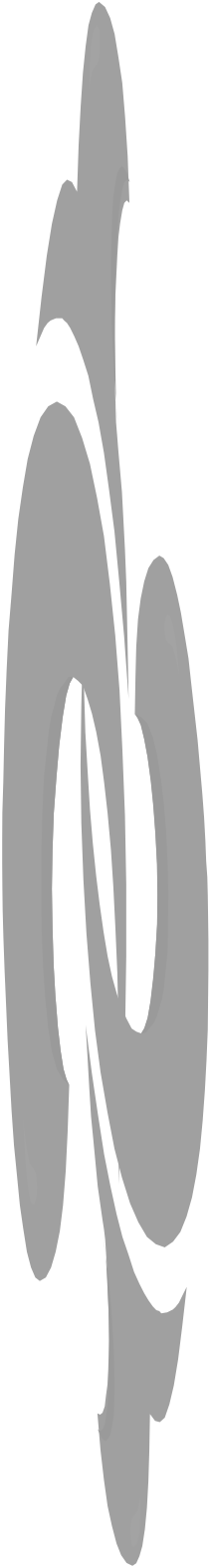
São objetivos do trabalho:

1. Definir as alterações pressóricas ocorridas após 3, 6, 12 e 18 horas da septicemia induzida pela CLP.

2. Estabelecer as modificações funcionais renais que acompanham a CLP às 3, 6, 12 e 18 horas, através da avaliação de *clearance* de creatinina e do *clearance de lítio* como marcadores da manipulação tubular renal de sódio.

3. Avaliar o comportamento pressórico e funcional renal após tratamento prévio dos animais sépticos com um inibidor da síntese de óxido nítrico.

4. Avaliar a repercussão da administração subcutânea de cristalóides, em animais sépticos, sobre a pressão arterial e função renal, avaliada pelos C_{Cr} e C_{Li}



3. MATERIAIS E MÉTODOS

I-Animais

Os experimentos foram realizados utilizando ratos da linhagem Wistar-Hannover, pesando de 250-300g, fornecidos pelo Centro de Bioterismo da Unicamp, SP (CEMIB). Após o desmame, os ratos recebiam como alimento, ração para ratos tipo Labina, marca Purina, Campinas SP. Cujas concentrações de sódio era de $61,3 \pm 9 \text{ mEq/Kg}$ ($0,37 \pm 0,02 \text{ g/100g}$ de ração) e de potássio $113 \pm 4 \text{ mEq/Kg}$ ($0,84 \pm 0,03 \text{ g}$ de ração). O sódio na composição das rações animais é expresso em duas formas na literatura científica: $\% \text{Na}^+$ ou $\% \text{NaCl}$. Esta última pressupõe que todo o sódio esteja sob a forma de NaCl (NaCl em gramas por 100g de alimento) como determinamos pela fotometria de chama a porcentagem de Na^+ nas rações de nossos animais, quando nos referirmos ao metabolismo salino estaremos denotando o valor obtido como $\% \text{Na}^+$. Para determinar a quantidade de $\% \text{NaCl}$ consumida basta multiplicar a quantidade de $\% \text{Na}^+$ por 2,54.

A porcentagem de sódio na ração usada encontra-se dentro de um intervalo arbitrariamente considerado como normossódica (0,25 e 0,5g de sódio/100g de ração). É bom lembrar que a necessidade mínima de sódio para um crescimento adequado dos animais é de aproximadamente 0,05g de sódio/100g de ração, sendo este o mínimo adequado para a reprodução (GANGULI, et al, 1969^{A;B}).

II-Grupos e protocolos experimentais

Para examinar a variação temporal da função renal e da pressão arterial caudal após 3, 6, 12 e 18 horas da ligadura e perfuração do ceco e as possíveis implicações da administração subcutânea de cristalóide (NaCl 0,15M) e do N^0 -Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME), foram definidos os seguintes grupos experimentais (vide tabela 1):

GRUPO 1: Ratos submetidos à indução de septicemia pela perfuração cecal (CLP) às 3, 6, 12 e 18 horas acompanhados por seus respectivos grupos controles *sham*-operados.

GRUPO 2: Grupos experimentais sepse-induzidos pela CLP, e seus controles tratados previamente por via oral com inibidor da óxido nítrico sintase, o L-NAME.

GRUPO 3: Animais sepse-induzidos pela CLP aos quais foi efetuada imediatamente após o procedimento cirúrgico uma administração subcutânea de solução salina 0,15M, comparando suas respostas a grupos de animais sépticos não tratados.

II.1-Tratamento prévio dos animais

Para todos animais dos grupos estudados foram permitidos livres acessos à água e ração sólida.

II.1.1-Aos animais do grupo 2 foi administrado N^o-Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME) (Sigma Chemical Co) pela gavagem oral na dose 60 mg/kg/dia (6 mg/100g de massa corporal) (XAVIER et al., 2000) diariamente, durante 7 dias previamente a indução de septicemia.

II.1.2-O grupo tratado pela administração subcutânea de NaCl 0,15M, recebeu a administração subcutânea de 3ml/100g de massa corporal de solução cristalóide (WICHTERMAN et al., 1980), em quatro pontos equidistantes da região dorsal do animal ato imediatamente após a ligadura e perfuração cecal

Tabela 1: Constituição dos grupos experimentais

	Tempo Sepse	3 horas	6 horas	12 horas	18 horas
Séries					
Série 1		Co1			
		Exp1			
Série 2		Co2			
		Exp2			
Série 3		Co3			
		Exp3			

Legendas:

Série 1: Comparação entre os grupos de ratos submetidos à ligadura e perfuração cecal (CLP), e o seu respectivo controle submetido à cirurgia fictícia (ratos *sham*-operados), ambos sem tratamento.

Grupo Experimental 1 (Exp1) - Ratos submetidos à ligadura e perfuração cecal sem tratamento.

Grupo Controle 1 (Co1)- Ratos *sham*-operados sem tratamento

Série 2: Comparação entre os grupos de ratos submetidos à ligadura e perfuração cecal, e o seu respectivo grupo controle composto por ratos *sham*-operados, ambos previamente tratados com L-NAME.

Grupo Experimental 2 (Exp2) - Ratos submetidos à ligadura e perfuração cecal para indução de septicemia L-NAME tratados.

Grupo Controle 2 (Co2)- Ratos *sham*-operados L-NAME tratados.

Série 3: Comparação entre os grupos de ratos submetidos à ligadura e perfuração cecal tratados pela administração subcutânea de solução salina a 0,9% (0,15M), e um grupo de ratos submetido a CLP sem tratamento.

Grupo Experimental 3 (Exp3) - Ratos submetidos à ligadura e perfuração cecal com administração subcutânea de NaCl 0,15M.

Grupo Controle 3 (Co3) - Ratos submetidos à ligadura e perfuração cecal sem tratamento.

III-Métodos Utilizados - Procedimentos Cirúrgicos

III.1-Métodos Utilizados

Os protocolos experimentais seguiram os cuidados e as diretrizes gerais estabelecidas pela Declaração de Helsinki (1964) para manipulação de animais de laboratório.

III.2-Procedimentos cirúrgicos

Os procedimentos cirúrgicos (CLP e cirurgia simulada) foram realizados 3, 6, 12 e 18 horas antes da aferição da pressão arterial caudal e o estudo funcional renal estimado pelo *clearance* de lítio e de creatinina em gaiolas metabólicas individuais durante 120 minutos.

III.2.1- Cirurgia para ligadura e perfuração do ceco

III.2.1.1-Modelo de sepse pela ligadura e perfuração do ceco:

WICHTERMAN et al. (1980), propôs usar modelos experimentais no intuito de estudar a fisiopatologia de processos infecciosos, como forma de estabelecer um adequado controle sobre as variáveis estudadas. O estudo controlado de pacientes é dificultado em face de diversidade das manifestações das diferentes cepas bacterianas frente à variedade de alterações metabólicas e clínicas e da manifestação errática em relação ao tempo experimental.

O modelo da endotoxemia não reproduz adequadamente as alterações metabólicas produzidas pela septicemia humana.

No modelo animal, a indução de septicemia induzida por uma peritonite causada pela ligadura e perfuração do ceco em ratos, evolui inexoravelmente para o choque séptico.

Neste modelo experimental de septicemia pressupõe a descontinuidade da barreira normal do trato intestinal (NEVIÉRE, 1999), e que permite a reprodução das modificações funcionais de órgãos e tecidos bem como de alterações laboratoriais, freqüentemente observados durante o choque séptico.

Em cada protocolo desenvolvido foram formados 2 grupos, o grupo experimental submetido à cirurgia de ligadura e perfuração cecal (CLP) tratados ou não com administração de salina ou L-NAME comparado ao seu respectivo grupo controle submetido à cirurgia simulada (*sham*-operado).

Cada grupo era constituído por 10 animais.

Os experimentos foram realizados em tempos diferentes, estudados às 3, 6, 12 e 18 horas após a ligadura e perfuração cecal.

As avaliações dos parâmetros funcionais renais, foram realizados a cada tempo experimental conforme definido nos protocolos 1, 2 e 3.

Em todos os grupos experimentais foram coletadas amostras de sangue por punção arterial (aorta abdominal) para as determinações gasométricas ao final dos experimentos funcionais descritos a seguir.

III.2.1.2-Cirurgia para ligadura e perfuração cecal (CLP) (septicemia-induzidos)

Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico a 3%, via intraperitoneal (IP), na dose de 30-50 mg/kg de peso e colocados sobre uma mesa cirúrgica aquecida, em decúbito ventral. Após tricotomia ampla da região abdominal, uma incisão cirúrgica mediana foi realizada a partir do apêndice xifóide, com 3-4 cm de extensão, comprometendo pele, subcutâneo e aponeurose da musculatura do reto abdominal, atingindo em seguida a cavidade peritoneal. Localizado o ceco procedeu-se em seguida a ordenha do conteúdo fecal do colo ascendente em direção a cavidade cecal. Após este ordenamento do colo ascendente procedeu-se a ligadura do pedículo do ceco, com fio de algodão 3.0. Em seguida, foram realizadas três perfurações do ceco com agulha hipodérmica, 22 gauge, (duas laterais e uma central), deixando evidente o extravasamento do conteúdo fecal para cavidade peritoneal. A parede abdominal foi fechada por dois planos, o muscular, foi suturado com fios de categute 3.0 com pontos contínuos e a pele com pontos alternados. O procedimento era encerrado com anti-sepsia da cicatriz cirúrgica com iodopovidine.

III.2.1.3-Cirurgia simulada (*sham-operado*):

Um grupo de ratos foi submetido aos procedimentos anestésicos e a incisão cirúrgica abdominal para acesso aos órgãos peritoneais, semelhantes àqueles procedimentos descritos anteriormente para CLP. Após a localização cecal, realizamos a sua manipulação gentilmente sem realizar ligadura e perfuração. A parede abdominal foi também fechada em 2 planos, sendo que também o plano muscular foi suturado por pontos contínuos e a pele através de pontos alternados, seguidos de anti-sepsia da cicatriz cirúrgica com iodopovidine.

III.3-Aferição da pressão arterial caudal

A pressão arterial caudal (PAC) foi estimada em ratos acordados pelo método da pletismografia de cauda utilizando um electrofigmomanometro (programmed eletrosphygmomanometer, Pe-300, Narco bio-systems, Austin, USA) acoplado a um transdutor sonoro o qual provê uma saída de sinais proporcional da pressão arterial caudal com sons de Korotkoff, ampliados pelo microfone (LOVENBERG, 1987). (vide diagrama 1).

As pressões arteriais caudal em todos os grupos experimentais foram estimadas as 3, 6, 12 e 18 horas após indução de septicemia pela CLP e seus respectivos grupos controles.

Pressão Arterial: Método Indireto

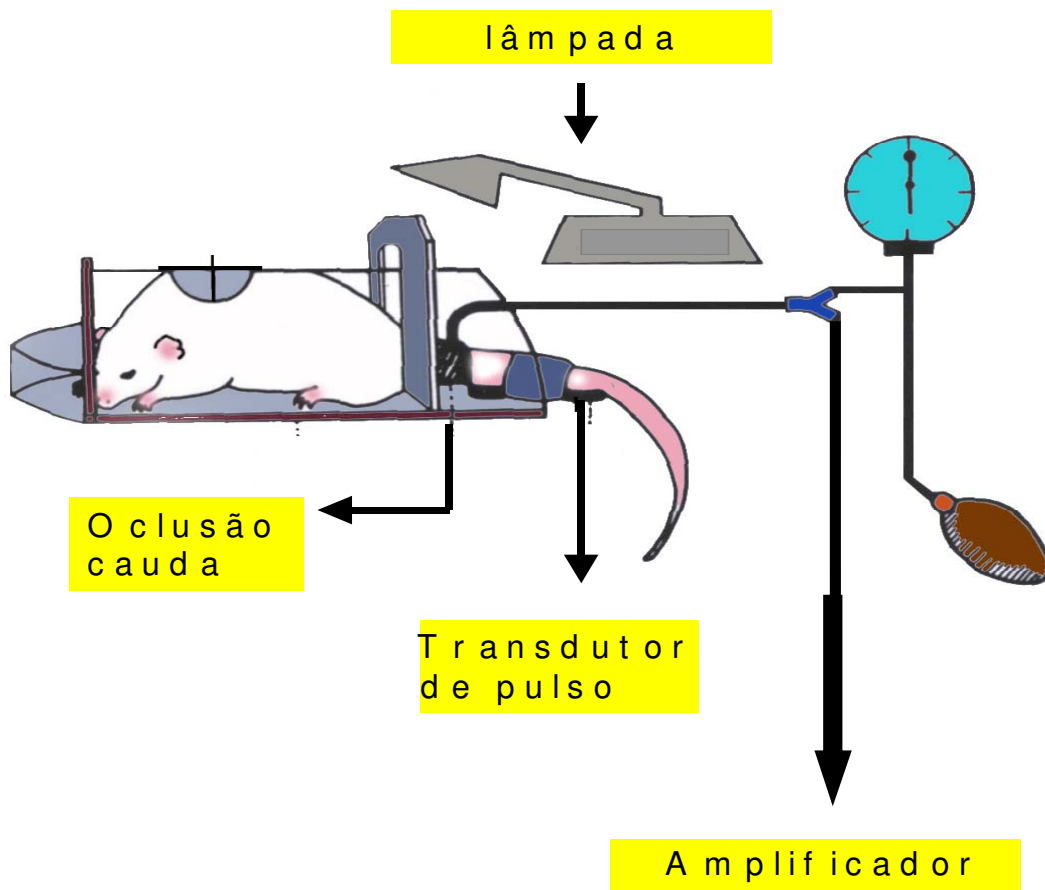


Diagrama 1

IV-Desenho experimental

IV.1-Estudo funcional em gaiolas metabólicas

Os estudos foram realizados em gaiolas metabólicas individuais de aço inoxidável (Movart, Ribeirão Preto SP, ref 306), com início dos ensaios realizados entre 8 e 10 horas da manhã. Os animais receberam 12 a 14 horas antes, por gavagem, uma dose 0,06M/100g de peso corporal, de cloreto de lítio (THOMSEN et al., 1995; QUADROS et al., 1996; MENEGON et al., 1998). Os ratos foram mantidos em gaiolas coletivas, sem restrições de movimentos, em jejum para ração sólida e ingerindo água *ad libitum* até o início do ensaio.

Foram realizados os procedimentos cirúrgicos para formação dos grupos septicemia-induzidos e *sham*-operados, no grupo das 18 horas antes da gavagem do lítio, e nos demais grupos, durante ou após a administração de LiCl. Após um intervalo de tempo de 12-14 horas, os animais receberam a administração por gavagem de um volume hídrico correspondendo a 5% do peso corporal, sendo administrada da seguinte maneira: volume de água correspondendo a 2,5% do peso corporal, primeira sobrecarga hídrica (1ªSH). Seguidos após 60 minutos, por uma segunda administração hídrica de igual volume (2ªSH). Após um tempo de estabilização de 20 minutos, teve início a coleta de aliquotas de urina durante 120 minutos (vide diagrama 2).

A urina eliminada durante 120 minutos drenou através de um funil colocado no fundo das gaiolas metabólicas para tubos de centrifugação graduado e os volumes eram determinados gravimetricamente.

Ao final dos experimentos amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca após a anestesia dos animais com éter etílico. Aliquotas de plasma e de urina foram conservadas em freezer a -20°C para posterior dosagem de Na⁺, K⁺, Li⁺ e creatinina.

PROTOCOLO DE ESTUDOS EM GAIOLA METABÓLICA

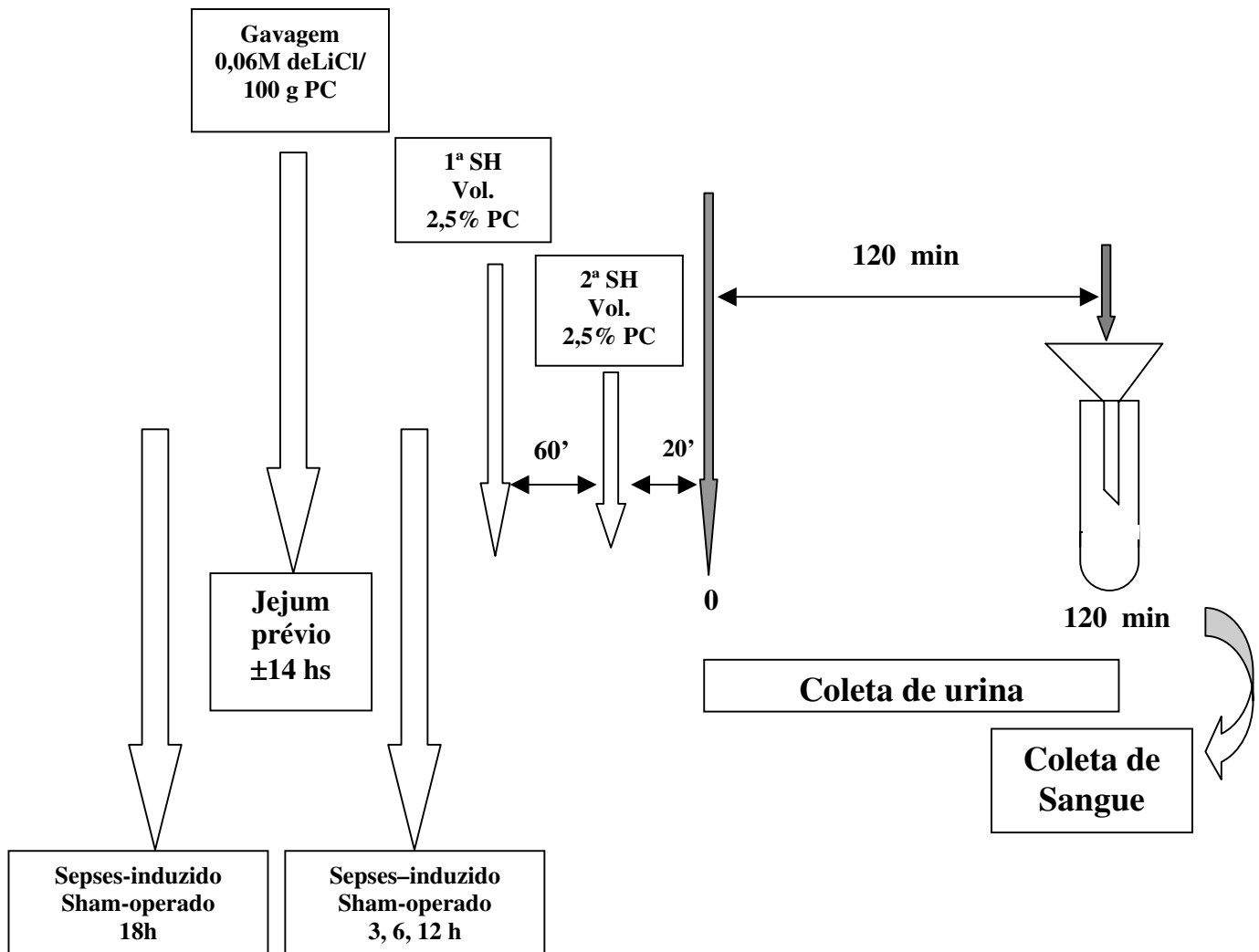


Diagrama 2

IV.2-Avaliação funcional no nefron

IV.2.1-Clearance de Lítio(C_{Li}):

Após a administração por gavagem em dose única de LiCl 0,06M (GARCIA et al., 1991) observaram que o lítio apresenta uma estabilidade plasmática mantendo o seu nível estável entre 12 e 24 horas apresentando um decaimento de 3-6% por hora a partir de 14 horas (GONTIJO et al., 1991).

O lítio apresenta uma fase rápida de excreção urinária, que ocorre nas primeiras horas e uma fase lenta que se mantém por vários dias. Isto se deve a distribuição de lítio pelos compartimentos intracelulares pela afinidade diferente deste ion a vários tecidos orgânicos. Adicionalmente, após 3 horas de uma sobrecarga hídrica de 5% do peso corporal, observa-se que a excreção urinária de lítio foi semelhante àquela observada para excreção urinária não estimulada, e a concentração de lítio na urina diluída pela sobrecarga de água, medida pela fotometria de chama encontra-se na faixa de leitura confiável para a dosagem do lítio na urina (GARCIA et al., 1991).

A passagem pelos túbulos renais do ultrafiltrado glomerular determina grandes modificações em função de processos de reabsorção e de secreção. As concentrações de íons (sódio, lítio) são determinadas pela dosagem laboratorial destas substâncias na urina. A avaliação da manipulação no túbulo contornado proximal e pós-proximal de sódio foram estimadas pelo *clearance* do lítio (C_{Li}), sendo este um método indireto, pelo qual se calcula o aporte de sódio ao túbulo distal proveniente do túbulo contornado proximal (TCP). O C_{Li} é baseado na evidência de que a absorção do lítio no TCP ocorre na mesma proporção daquela evidenciada para o sódio e a água, ou seja, aporte distal de lítio a partir do TCP é similar a excreção fracional de sódio e água, sendo a fração de excreção de lítio (FE_{Li}) indicativa de manuseio de sódio nos segmentos proximais do nefron (THOMSEN & SHIRLEY, 1995; QUADROS et al., 1996; MENEGON et al., 1998).

V-Parâmetros funcionais analisados

V.1-Descrição dos parâmetros funcionais analisados

Fluxo urinário minuto (V'):

O fluxo urinário coletado no período de 120 minutos foi dividido pelo tempo de coleta. Os resultados foram expressos em ml/min. Em nosso protocolo, o volume urinário foi corrigido pelo peso do rato sendo expresso por 100 g de peso corporal. Os resultados foram expressos em $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$

Clearance de creatinina (C_{Cr}):

Representa a depuração plasmática da creatinina por unidade de tempo pela totalidade dos glomérulos renais funcionantes, calculada pela fórmula $(U \times V'/P)$, sendo U a concentração urinária de creatinina, V' o fluxo urinário minuto e P a concentração plasmática de creatinina. Os resultados foram expressos em $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$

O Clearance de sódio (C_{Na}):

Representa a depuração plasmática do sódio por unidade de tempo nos glomérulos renais, calculada pela fórmula $(U \times V'/P)$, sendo U a concentração urinária de sódio, V' o fluxo urinário minuto e P a concentração plasmática de sódio. Os resultados foram expressos em $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$

Clearance de lítio(C_{Li})

Representa a depuração plasmática do lítio na unidade de tempo nos glomérulos renais, calculada pela fórmula $(U \times V'/P)$, sendo U a concentração urinária de lítio, V' o fluxo urinário minuto e P a concentração plasmática de lítio. Os resultados foram expressos em $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$

Clearance de potássio(C_K)

Representa a depuração plasmática do potássio na unidade de tempo nos glomérulos renais, calculada pela fórmula $(U \times V'/P)$, sendo U a concentração urinária de potássio, V' o fluxo urinário minuto e P a concentração plasmática de potássio. Os resultados foram expressos em $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$

Fração de excreção de sódio (FE_{Na}):

Representa a fração da carga filtrada de sódio excretada pela urina num determinado período de tempo, calculada pela fórmula $(C_{Na}/ C_{Cr} \times 100)$, sendo C_{Na} O *Clearance* de sódio e o C_{Cr} O *Clearance* creatinina. Os resultados foram expressos em percentagem (%).

Fração de Excreção de Lítio (FE_{Li})

Representa a fração da carga filtrada de lítio excretada pela urina num determinado período de tempo, calculada pela fórmula $(C_{Li}/ C_{Cr} \times 100)$, sendo C_{Li} O *Clearance* de lítio e o C_{Cr} O *Clearance* creatinina. Os resultados foram expressos em percentagem (%).

Fração de excreção de potássio (FE_K)

Representa a fração da carga filtrada de potássio excretada pela urina num determinado período de tempo, calculada pela fórmula $(C_{K}/ C_{Cr} \times 100)$, sendo C_{K} O *Clearance* de potássio e o C_{Cr} O *Clearance* creatinina. Os resultados foram expressos em percentagem (%).

Carga filtrada de sódio (CF_{Na})

Representa a quantidade de sódio filtrada na unidade de tempo, calculada pela fórmula $(P_{Na} \times C_{Cr})$, sendo P_{Na} a concentração plasmática de sódio e o C_{Cr} O *Clearance* de creatinina. Os resultados foram expressos em $\mu\text{Eq}/\text{min}/100\text{g p.c.}$.

Fração de excreção proximal de sódio (FEP_{Na})

Representa a fração da carga filtrada de sódio excreta ao longo do túbulo proximal do nefron, calculada pela fórmula $(C_{Li}/ C_{Cr} \times 100)$, sendo C_{Na} O *Clearance* de Lítio e o C_{Cr} O *Clearance* creatinina. Os resultados foram expressos em percentagem (%).

Fração de excreção pós-proximal de sódio (FEPP_{Na})

Representa a fração da carga filtrada de sódio excretada ao longo dos seguimentos distais ao tubulo proximal do nefron. Calculada pela fórmula $(C_{Na}/ C_{Li} \times 100)$, sendo C_{Na} O *Clearance* de sódio e o C_{Li} O *Clearance* de lítio. Os resultados foram expressos em percentagem (%).

Aporte distal de sódio (AD_{Na})

Representa a carga de sódio que deixa os segmentos proximais dos nefros em direção aos túbulos distais, calculada pela fórmula ($P_{Na} \times C_{Li}$), sendo P_{Na} a concentração plasmática de sódio e o C_{Li} O *Clearance* de lítio. Os resultados foram expressos $\mu Eq/min/100g$ p.c.

V.2-Fórmulas convencionais para cálculos de *clearances* e de fração de excreção

Abrev	Parâmetro	Fórmula	Unidade
V'	Fluxo minuto urinário	VU/Tempo	ml/min
C_{Cr}	Clearance de creatinina	$(U_{Cr} \cdot V')/P_{Cr}$	ml/min
RFG	Ritmo de filtração glomerular	C_{cr}	ml/min
FF	Fração de filtração	RFG/FPR	%
C_{Li}	Clearance de lítio	$(U_{Li} \cdot V')/P_{Li}$	ml/min
C_{Na}	Clearance de sódio	$(U_{Na} \cdot V')/P_{Na}$	ml/min
C_K	Clearance de potássio	$(U_K \cdot V')/P_K$	ml/min
CF_{Na}	Carga filtrada de sódio	$(P_{Na} \cdot C_{cr})$	$\mu Eq/min$
CE_{Na}	Carga excretada de sódio	$(U_{Na} \cdot V')$	$\mu Eq/min$
T_{Na}	Reabsorção tubular de sódio	$CF_{Na} - CE_{Na}$	$\mu Eq/min$
FE_{Na}	Fração de excreção de sódio	$(U_{Na} \cdot V') / (P_{Na} \cdot C_{cr}) \cdot 100$	%
FE_{Na}	Fração de excreção de sódio	$(C_{Na} / C_{cr}) \cdot 100$	%
FE_{Na}	Fração de excreção de sódio	$(CE_{Na} / CF_{Na}) \cdot 100$	%
FE_{Na}	Fração de excreção de sódio	$(U_{Na} / P_{Na}) + (P_{Cr} / U_{Cr}) \cdot 100$	%
CF_K	Carga filtrada de potássio	$(P_K \cdot C_{cr})$	$\mu Eq/min$
CE_K	Carga excretada de potássio	$(U_K \cdot V')$	$\mu Eq/min$
FE_K	Fração de excreção de potássio	$(U_K \cdot V') / (P_K \cdot C_{cr}) \cdot 100$	%
FE_K	Fração de excreção de potássio	$(C_K / C_{cr}) \cdot 100$	%
FE_K	Fração de excreção de potássio	$(CE_K / CF_K) \cdot 100$	%
CF_{Li}	Carga filtrada de lítio	$(P_{Li} \cdot C_{cr})$	$\mu Eq/min$
CE_{Li}	Carga excretada de lítio	$(U_{Li} \cdot V')$	$\mu Eq/min$
FE_{Li}	Fração de excreção de lítio	$(U_{Li} \cdot V') / (P_{Li} \cdot C_{cr}) \cdot 100$	%
FE_{Li}	Fração de excreção de lítio	$(C_{Li} / C_{cr}) \cdot 100$	%
FE_{Li}	Fração de excreção de lítio	$(CE_{Li} / CF_{Li}) \cdot 100$	%
RP_{Na}	Reabsorção proximal de sódio	$CF_{Na} - DD_{Na}$	$\mu Eq/min$
RPF_{Na}	Reabsorção proximal fracional de sódio	$(CF_{Na} - DD_{Na}) / CF_{Na} \cdot 100$	%
RD_{Na}	Reabsorção distal de sódio	$DD_{Na} - CE_{Na}$	$\mu Eq/min$
RDF_{Na}	Reabsorção distal fracional de sódio	$(DD_{Na} - CE_{Na}) / DD_{Na} \cdot 100$	
$RDIF_{Na}$	Reabsorção distal inicial fracional de sódio	$(DD_{Na} - CE_{Na}) / CF_{Na} \cdot 100$	%

V.3-Cálculos utilizadas para avaliar o manuseio tubular de sódio, elaboradas a partir do clearance de lítio que é o marcador da reabsorção de sódio pelo túbulo proximal renal

Abrev	Parâmetro	Fórmula	Unidade
FEP _{Na}	Fração de excreção proximal de sódio	$(C_{Li}/C_{cr}) * 100$	%
FEPP _{Na}	Fração de excreção pós-proximal de sódio	$(C_{Na}/C_{Li}) * 100$	%
DD _{Na}	Distal delivery (aporte distal) de sódio	$C_{Li} * P_{Na}$	μEq/min

VI-Metodologia analítica

VI.1-Parâmetros bioquímicos do sangue e urina

As dosagens laboratoriais das concentrações plasmáticas e urinárias de lítio, sódio e potássio foram realizados por fotometria de chama, através de um fotômetro micronal NV 262. São Paulo SP, enquanto que a concentrações séricas e urinárias de creatinina espectrofotometricamente (espectrofotômetro Micronal, NV 383. São Paulo SP) pelo método do picrato alcalino, segundo a técnica de Jaffé (MACFATE, 1954; BROD & STERZEL, 1978).

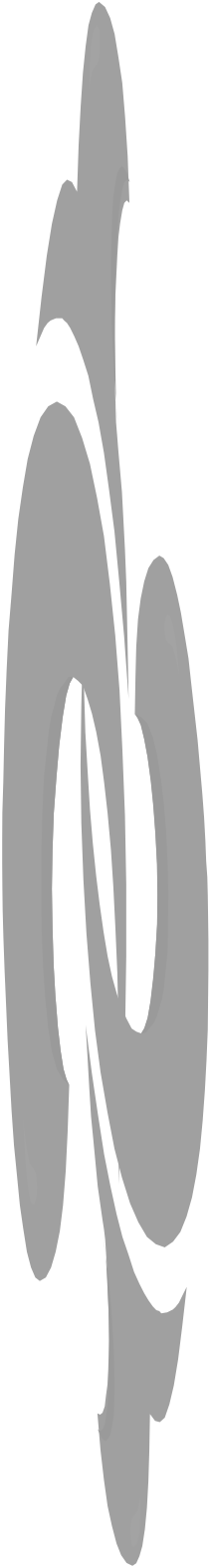
As dosagens gasométricas foram realizadas pela punção da aorta abdominal em um grupo definido de animais utilizados durante a padronização do modelo experimental no aparelho (pH Blood Gas System modelo 238 da Ciba-Corning).

VII-Análise estatística dos resultados

Para análise dos dados, foi calculados a média aritmética dos valores obtidos em cada um dos intervalos de tempo experimental (3, 6, 12 e 18 horas) e o desvio padrão desta média. Esta média±DP foi então analisada em relação aos valores intra e intergrupos nos diferentes tempos experimentais (3, 6, 12 e 18 horas pós-CLP).

A análise estatística dos resultados relativos aos vários parâmetros estudados, em cada uma das 3 séries experimentais, foi realizada aplicando-se a análise de variância (ANOVA) fator único, entre os constituintes das médias de todos os grupos. As comparações múltiplas para análise dos contrastes foram calculadas pelo método de Bonferroni quando os resultados foram significantes. Os resultados foram considerados como estatisticamente significantes quando a probabilidade de sua casualidade foi inferior a 5% ($p < 0,05$)

Na análise comparativa dos resultados obtidos para as três séries ou protocolos experimentais, em cada tempo o objetivo foi determinar as modificações promovidas nos parâmetros funcionais pelas manobras terapêuticas instituídas (tratamento com L-NAME e salina SC). Para tanto, foram utilizados a ANOVA fator único das médias dos incrementos (variações e variáveis) observados para os animais dos grupos experimentais em relação ao seu respectivo controle. O teste de contraste de Bonferroni foi utilizado para determinar a extensão da diferença quando a ANOVA era considerada significativa. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado indicador de significância quando probabilidade de sua casualidade era inferior a 5%.



4. RESULTADOS

Os resultados do presente estudo evidenciaram uma progressiva queda do estado geral dos animais estudados não sendo possível avaliar grupos além das 18 horas pós-CLP pela alta mortalidade dos animais após este período de sepse.

Os achados gasométricos sanguíneos após 3 horas de ligadura e perfuração cecal:

Mostram os seguintes valores: pH = 7,01; PaCO₂ = 24 mmHg; PaO₂ = 96 mmHg; HCO₃⁻ = 7 mEq/l; Lactemia = 9 mg/dl. Contra os seguintes valores dos animais *sham*-operados: pH = 7,36; PaCO₂ = 42 mmHg; PaO₂ = 92 mmHg; HCO₃⁻ = 20 mEq/l; Lactemia = 2 mg/dl. (figura 1)

A-Parâmetros funcionais do grupo séptico de animais induzido pela ligadura e perfuração cecal (CLP) comparados a animais *sham*-operados.

1- Aspectos gerais:

Não foram observadas alterações significativas para a massa corporal nos diferentes tempos experimentais quando comparados aos grupos sépticos, os animais *sham*-operados (figura 1).

2- Pressão arterial (mmHg):

Avaliação da pressão arterial caudal (PAC) nos grupos sépticos e *sham*-operados nos diferentes intervalos pós-CLP.

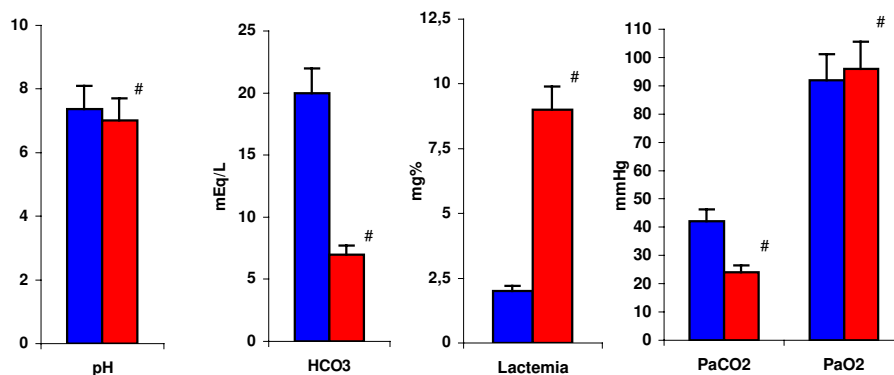
Não foram observadas alterações significativas entre as pressões arteriais caudais nos diferentes tempos pós-cirurgia simulada (figura 1).

Porém, após indução de septicemia pela CLP observa-se uma queda significativa da pressão arterial caudal ($p < 0,05$) após 12 e 18 horas ao valor controle de 126,0±3,2 mmHg em relação aos valores de: (3 horas = 121,0±11,0; 6 horas = 119,0±8,0; 12 horas = 84,0±9,0 e 18 horas = 61,0±9,0 mmHg) (figura 1).

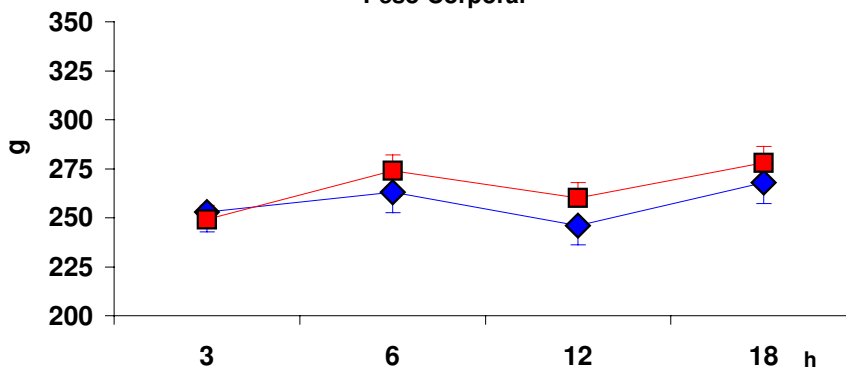
Na comparação entre os grupos de ratos sépticos e *sham*-operados observa-se uma queda significativa da PAC ($p < 0,05$) as 12 e 18 horas (figura 1).

◆ Controle (*sham*-operados) n=10 ■ Septicemia n=10
 #p<0,05 Controle vs Septicemia *p<0,05 vs 3h

Gasometria



Peso Corporal



Pressão Arterial Caudal

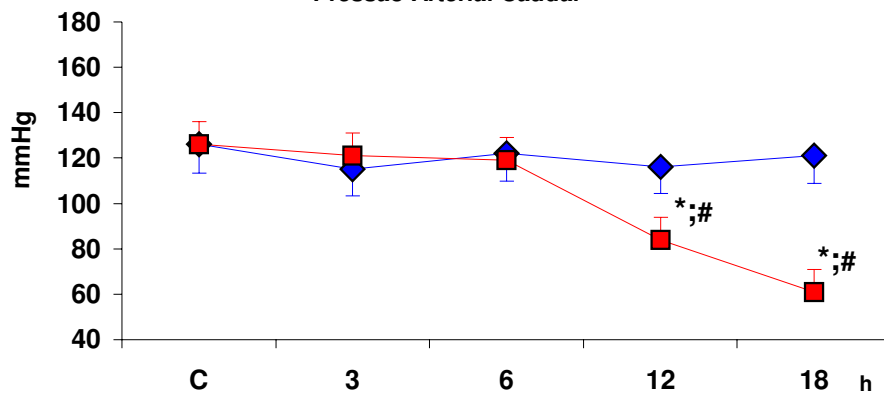


Figura 1: Valores gasométricos e alterações temporais da massa corporal e da pressão arterial caudal em ratos sépticos após ligadura e punção cecal (CLP) comparados aos animais controles.

3- Avaliação da função renal em ratos sépticos pela CLP e animais controles *sham*-operados.

Fluxo urinário minuto (V')

Não foram observadas modificações significativas do fluxo urinário nos animais *sham*-operados (figura 2).

Entretanto, após a CLP os animais apresentaram uma queda significativa do fluxo urinário ($p < 0,05$) a partir das 12 horas experimentais quando comparados aos intervalos das 3 horas iniciais após indução de septicemia (3 horas = $38,0 \pm 4,5$; 6 horas = $28,0 \pm 4,5$; 12 horas = $16,0 \pm 4,5$ e 18 horas = $11,0 \pm 3,5$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$) (figura 2).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos e *sham*-operados observa-se uma queda significativa ($p < 0,05$) do V_u às 12 e 18 horas após CLP (figura 2).

Clearance de creatinina (C_{Cr}):

Não foram observadas modificações significativas do C_{Cr} no grupo *sham*-operados (figura 2).

No grupo de ratos sépticos não tratados foi observada uma queda significativa do C_{Cr} ($p < 0,05$) em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $312,0 \pm 38,0$; 6 horas = $217,0 \pm 20,0$; 12 horas = $186,0 \pm 28,0$ e 18 horas = $174,0 \pm 19,0$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$) (figura 2).

Na comparação entre os grupos não observamos alterações significativas do C_{Cr}

◆ Controle (*sham*-operados) n=10
#p<0,05 Controle vs Septicemia

■ Septicemia n=10
*p<0,05 vs 3h

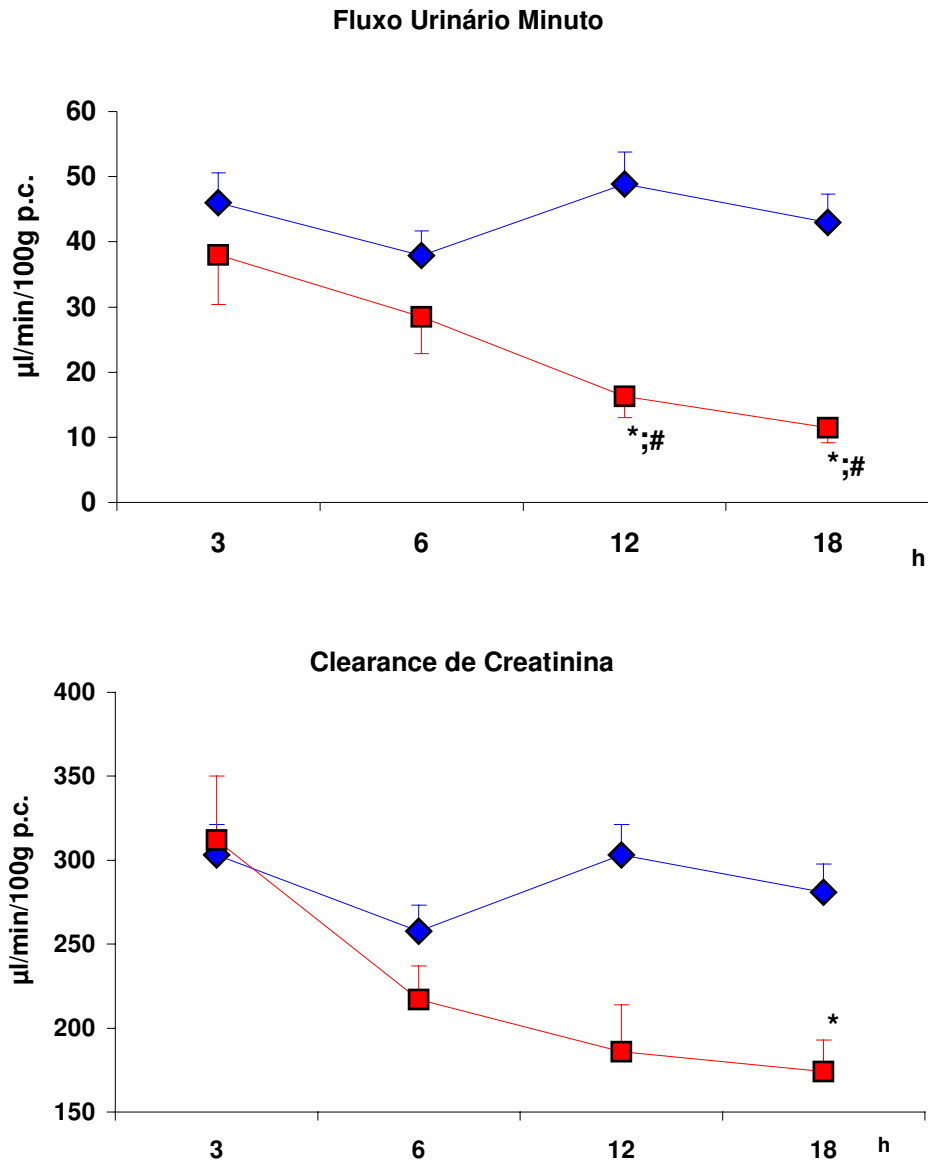


Figura 2: Alterações temporais do fluxo urinário minuto e do *clearance* de creatinina em ratos sépticos após CLP comparados aos animais controles.

Clearance de Lítio (C_{Li}):

Não foram observadas modificações significativas do C_{Li} no grupo *sham*-operados. (figura 3).

No grupo de ratos sépticos não tratados foi observada uma elevação significativa do C_{Li} ($p < 0,05$) às 18 horas em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $68,0 \pm 6,0$; 6 horas = $65,0 \pm 6,0$; 12 horas = $95,4 \pm 7,8$ e 18 horas = $121,3 \pm 9,1$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$) (figura 3).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos e *sham*-operados observa-se uma elevação significativa do C_{Li} ($p < 0,05$) às 18 horas após CLP (figura 3).

Fração de excreção tubular de sódio (FE_{Na}) em %:

Não foram observadas modificações significativas do FE_{Na} no grupo *sham*-operados (figura 3).

No grupo de ratos sépticos não tratados foi observada uma elevação significativa da FE_{Na} ($p < 0,05$) as 12 e 18 horas em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $0,26 \pm 0,03$; 6 horas = $0,29 \pm 0,05$; 12 horas = $0,37 \pm 0,04$ e 18 horas = $0,42 \pm 0,03$ %) (figura 3).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos e *sham*-operados observa-se uma elevação significativa da FE_{Na} ($p < 0,05$) às 18 horas após CLP (figura 3).

◆ Controle (*sham*-operados) n=10
#p<0,05 Controle vs Septicemia

■ Septicemia n=10
*p<0,05 vs 3h

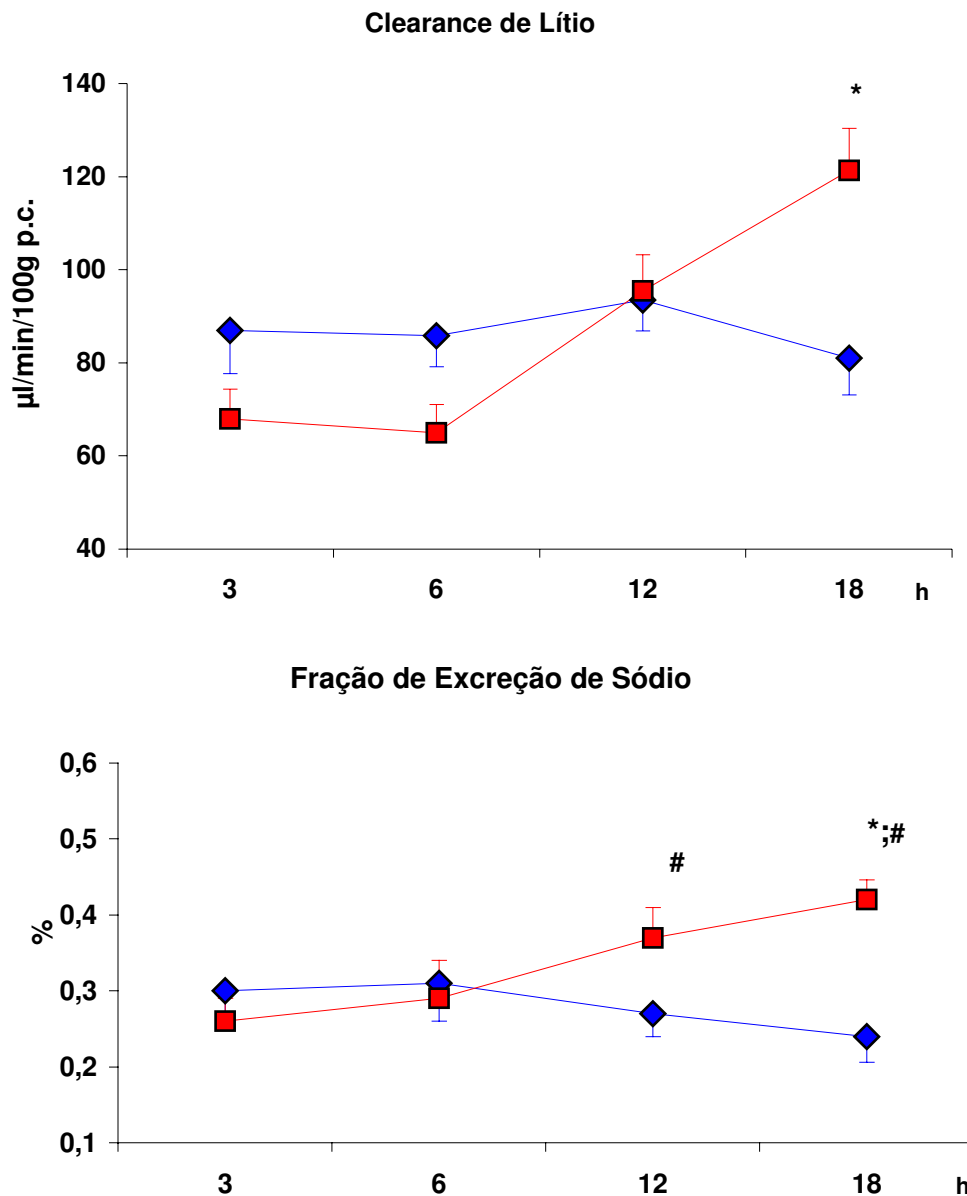


Figura 3: Alterações temporais do *clearance* de lítio e fração de excreção tubular renal de sódio em ratos sépticos após CLP comparados aos animais controles.

Fração de excreção tubular proximal de sódio (FEP_{Na}):

Não foram observadas modificações significativas do FEP_{Na} no grupo *sham*-operados (figura 4).

No grupo de ratos sépticos não tratados foi observada uma elevação significativa da FEP_{Na} ($p < 0,05$) as 12 e 18 horas em relação aos valores iniciais das 3 horas após CLP (3 horas = $27,0 \pm 4,4$; 6 horas = $23,2 \pm 2,1$; 12 horas = $42,8 \pm 3,4$ e 18 horas = $56,0 \pm 4,3$ %) (figura 4).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos e *sham*-operados observa-se uma elevação significativa da FEP_{Na} ($p < 0,05$) às 18 horas após CLP (figura 4).

Fração de excreção tubular pós-proximal de sódio (FEPP_{Na}):

Não foram observadas modificações significativas do FEPP_{Na} no grupo *sham*-operados (figura 4).

No grupo de ratos sépticos não tratados foi observada uma queda significativa da FEPP_{Na} ($p < 0,05$) às 12 horas em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $0,51 \pm 0,08$; 6 horas = $0,6 \pm 0,09$; 12 horas = $0,28 \pm 0,08$ e 18 horas = $0,37 \pm 0,07$ %) (figura 4).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos e *sham*-operados observa-se uma queda significativa da FEPP_{Na} ($p < 0,05$) às 12 horas após CLP (figura 4).

Fração de excreção tubular de potássio (FE_K) em %:

Não foram observadas modificações significativas do FE_K no grupo *sham*-operados (figura 4).

No grupo de ratos sépticos não tratados foi observada uma elevação significativa da FE_K ($p < 0,05$) as 12 e 18 horas em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $0,17 \pm 0,02$; 6 horas = $0,15 \pm 0,03$; 12 horas = $0,26 \pm 0,04$ e 18 horas = $0,24 \pm 0,02$ %) (figura 4).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos e *sham*-operados observa-se uma elevação significativa da FE_K ($p < 0,05$) às 18 horas após CLP (figura 4).

◆ Controle (*sham-operados*) n=10 ■ Septicemia n=10
 #p<0,05 Controle vs Septicemia *p<0,05 vs 3h

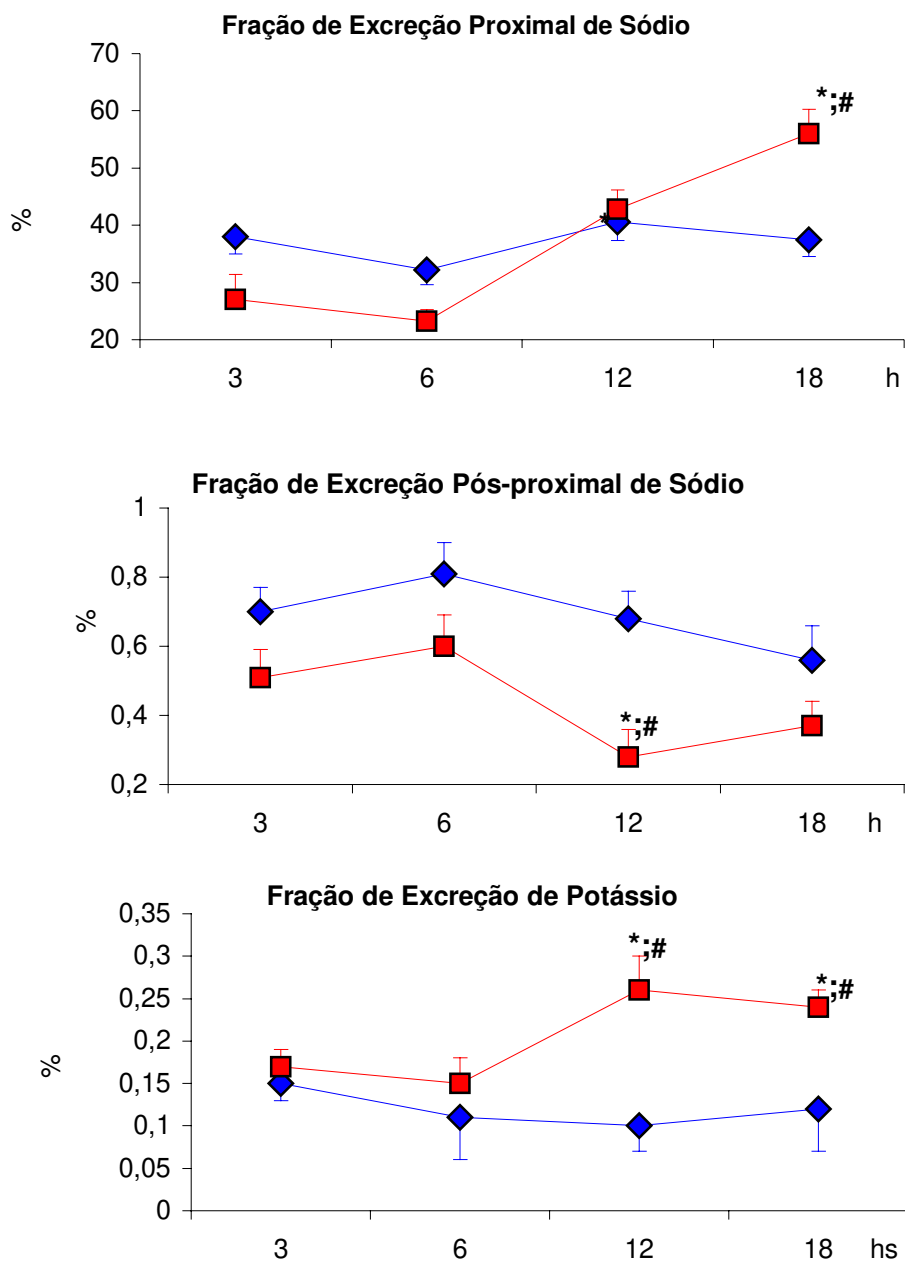


Figura 4: Alterações temporais da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após CLP comparados aos animais controles.

B-Parâmetros funcionais do grupo séptico-induzido pela CLP tratados com L-NAME, comparados com animais sham-operados tratados com L-NAME.

1-Aspectos gerais:

Não foram observados alterações significativas para a massa corporal nos diferentes tempos experimentais quando comparados aos grupos sépticos tratados com L-NAME com animais *sham*-operados tratados com L-NAME (figura 5).

2-Pressão arterial (mmHg):

Avaliação da pressão arterial caudal (PAC) nos grupos sépticos e simulados tratados com L-NAME nos diferentes intervalos pós-CLP.

Não foram observados alterações significativas entre as pressões arteriais caudais nos diferentes tempos pós-cirurgia simulada (figura 5)

Porém, após indução de septicemia pela CLP, observa-se uma queda significativa da pressão arterial caudal ($p < 0,05$) após 18 horas em relação ao valor controle de $145 \pm 7,8$ mmHg, comparados aos valores de: (3 horas = $152,0 \pm 12,8$; 6 horas = $148,0 \pm 14,0$; 12 horas = $136,0 \pm 10,5$ e 18 horas = $96,0 \pm 8,0$ mmHg) (figura 5).

Na comparação entre os grupos de ratos sépticos e *sham*-operados observa-se uma queda significativa da PAC ($p < 0,05$) as 6 e 18 horas pós-CLP (figura 5).

◆ Controle(*sham*-operados) n=10 ■ Septicemia n=10
 *p<0,05 vs 3 hs #p<0,05 Controle vs Septicemia

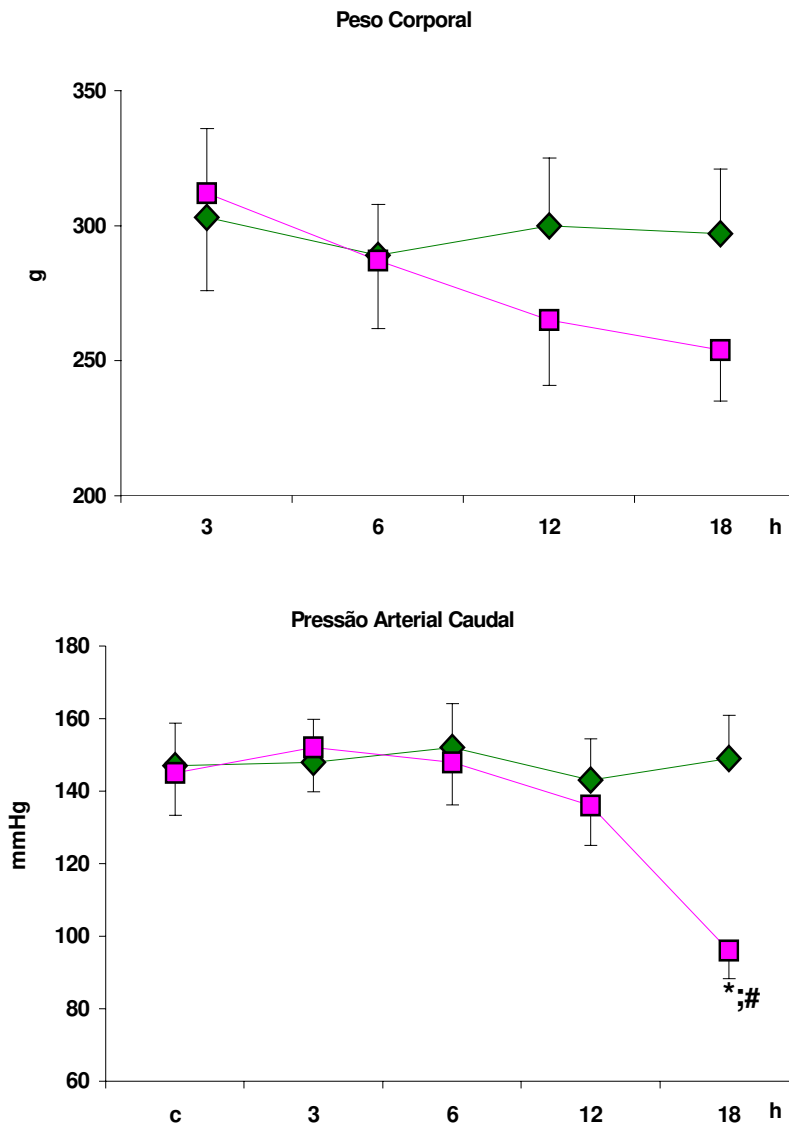


Figura 5: Alterações temporais da massa corporal e da pressão arterial caudal em ratos sépticos após CLP comparados a um grupo controle, tratados com N⁰-Nitro-L-Arginine Methil Ester (L-NAME)

3-Avaliação da função renal em ratos sépticos pela CLP e animais controles *sham*-operados tratados com L-NAME.

Fluxo urinário minuto (V')

Não foram observadas modificações significativas do fluxo urinário nos animais *sham*-operados (figura 6).

Entretanto, após a CLP os animais apresentaram uma queda significativa do fluxo urinário ($p < 0,05$) a partir das 12 horas experimentais quando comparados aos intervalos iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $38,0 \pm 4,5$; 6 horas = $28,5 \pm 4,5$; 12 horas = $16,3 \pm 3,5$ e 18 horas = $11,5 \pm 1,9$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$) (figura 6).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos e *sham*-operados observa-se uma queda significativa ($p < 0,05$) do V' às 12 e 18 horas após CLP (figura 6).

Clearance de creatinina (C_{Cr}):

Não foram observadas modificações significativas do C_{Cr} no grupo *sham*-operados (figura 6).

No grupo de ratos sépticos tratados com L-NAME, foi observado uma queda significativa do C_{Cr} ($p < 0,05$) em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $294,0 \pm 25,0$; 6 horas = $287,0 \pm 22,0$; 12 horas = $287,0 \pm 28,0$ e 18 horas = $185,0 \pm 16,0$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$) (figura 6).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos e *sham*-operados observa-se uma queda significativa ($p < 0,05$) do C_{Cr} às 18 horas após CLP (figura 6).

◆ Controle (*sham*-operados) n=10 ■ Septicemia n=10
 *p<0,05 vs 3 hs #p<0,05 Controle vs Septicemia

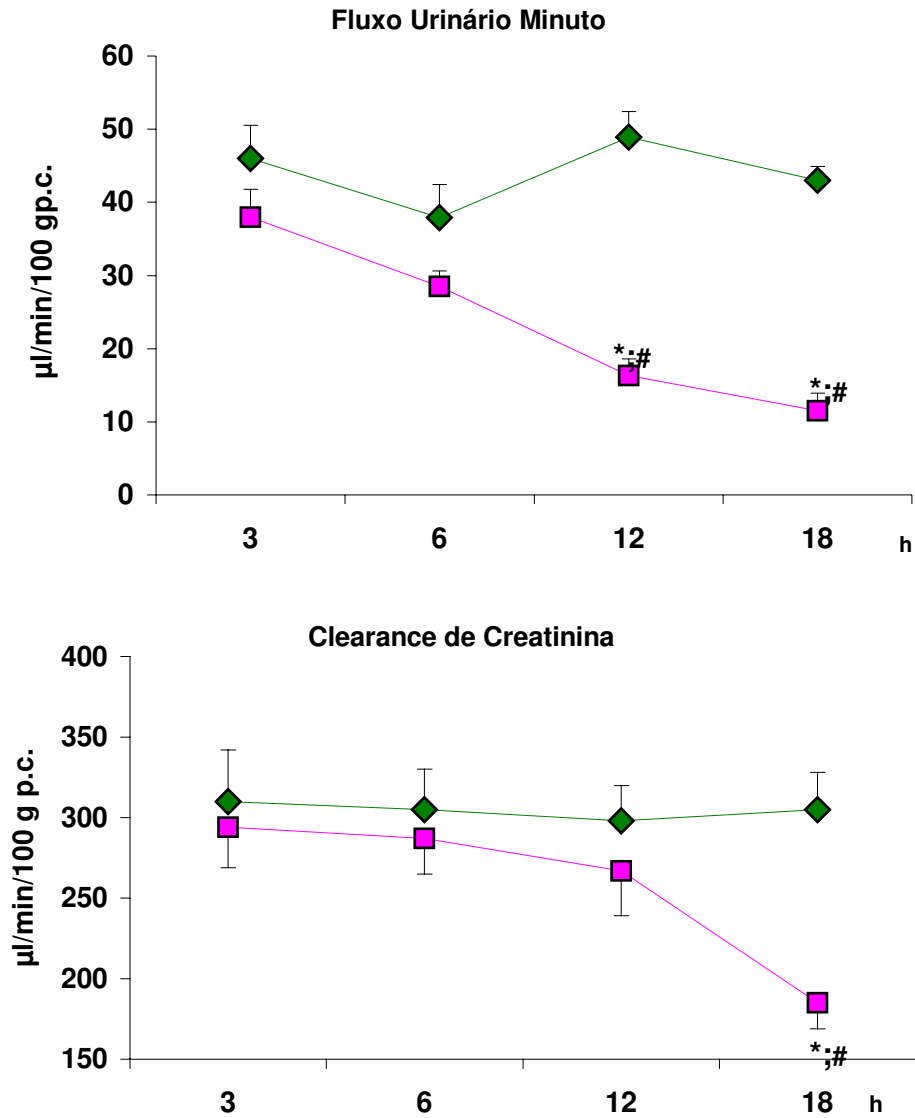


Figura 6: Alterações temporais do fluxo urinário minuto e do *clearance* de creatinina em ratos sépticos após CLP comparados a um grupo controle, tratados com L-NAME.

Clearance de Lítio (C_{Li}):

Não foram observadas modificações significativas do C_{Li} no grupo *sham*-operados. (figura 7).

No grupo de ratos sépticos tratados com L-NAME foi observada uma elevação significativa do C_{Li} ($p < 0,05$) em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $87,0 \pm 10,0$; 6 horas = $96,0 \pm 8,0$; 12 horas = $115,0 \pm 10,2$ e 18 horas = $132,0 \pm 6,4$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$) (figura 7).

Na comparação entre os grupos não observamos alterações significativas do C_{Li}

Fração de excreção tubular de sódio (FE_{Na}) em %:

Não foram observadas modificações significativas da FE_{Na} no grupo *sham*-operados (figura 7).

No grupo de ratos sépticos não tratados foi observada uma elevação significativa da FE_{Na} ($p < 0,05$) em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $0,34 \pm 0,02$; 6 horas = $0,43 \pm 0,03$; 12 horas = $0,45 \pm 0,04$ e 18 horas = $0,54 \pm 0,02$ %) (figura 7).

Na comparação entre os grupos não observamos alterações significativas da FE_{Na} (figura 7)

◆ Controle(*sham*-operados) n=10

■ Septicemia n=10

*p<0,05 vs 3 hs

#p<0,05 Controle vs Septicemia

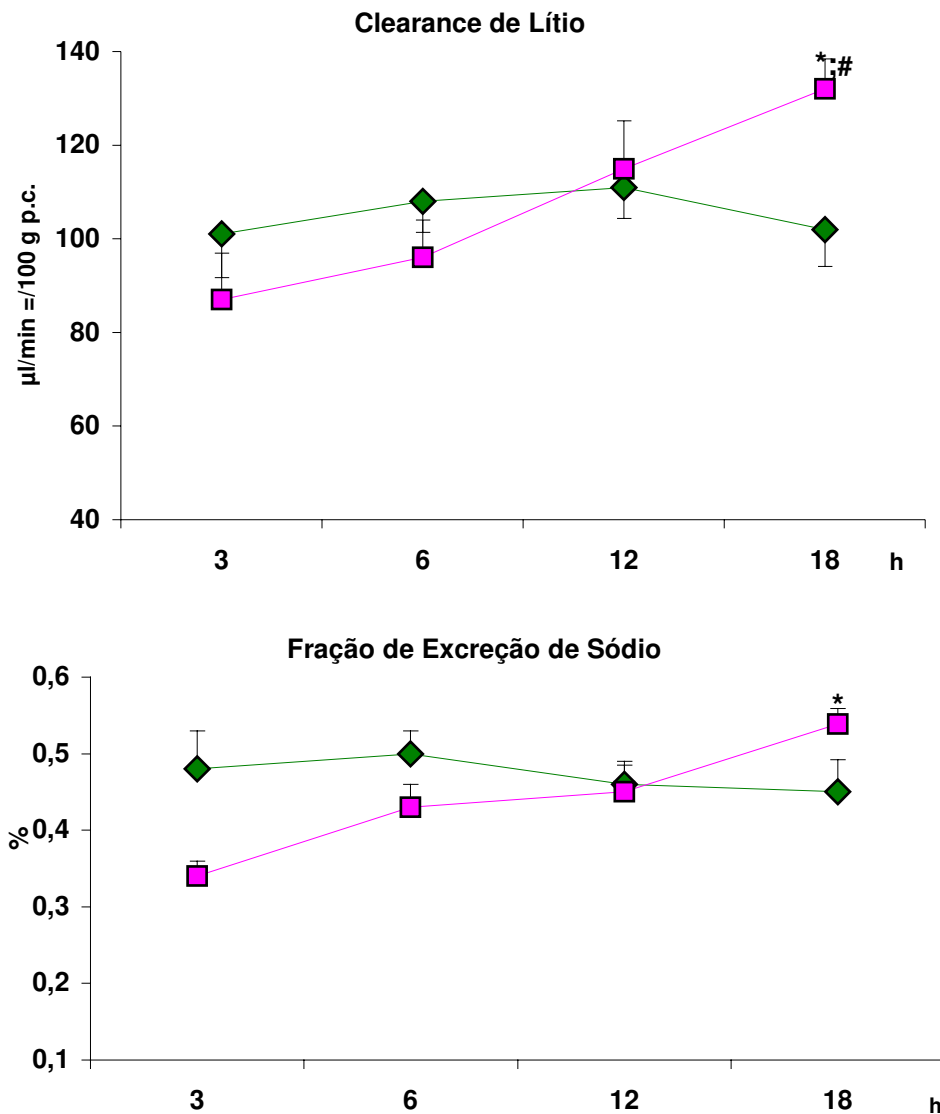


Figura 7: Alterações temporais do *clearance* de lítio e fração de excreção tubular renal de sódio em ratos sépticos após CLP comparados a um grupo controle tratados com L-NAME.

Fração de excreção tubular proximal de sódio (FEP_{Na}):

Não foram observadas modificações significativas do FEP_{Na} no grupo *sham*-operados (figura 8).

Não foram observadas modificações significativas do FEP_{Na} no grupo de ratos sépticos (figura 8).

Na comparação entre os grupos, não observamos alterações significativas da FEP_{Na} (figura 8).

Fração de excreção tubular pós-proximal de sódio (FEPP_{Na}):

Não foram observadas modificações significativas do FEPP_{Na} no grupo *sham*-operados (figura 8).

Não foram observadas modificações significativas do FEPP_{Na} no grupo séptico (figura 8).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos e *sham*-operados observa-se uma queda significativa da FEPP_{Na} ($p < 0,05$) às 18 horas após CLP (figura 8).

Fração de excreção tubular de potássio (FE_K) em %:

Não foram observadas modificações significativas do FE_K no grupo *sham*-operados (figura 8).

Não foram observadas modificações significativas do FE_K no grupo séptico (figura 8). Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos e *sham*-operados observa-se uma elevação significativa da FE_K ($p < 0,05$) as 12 e 18 horas após CLP (figura 8).

◆ Controle(*sham*-operados) n=10 ■ Septicemia n=10
 *p<0,05 vs 3 h; #p<0,05 Controle vs Septicemia

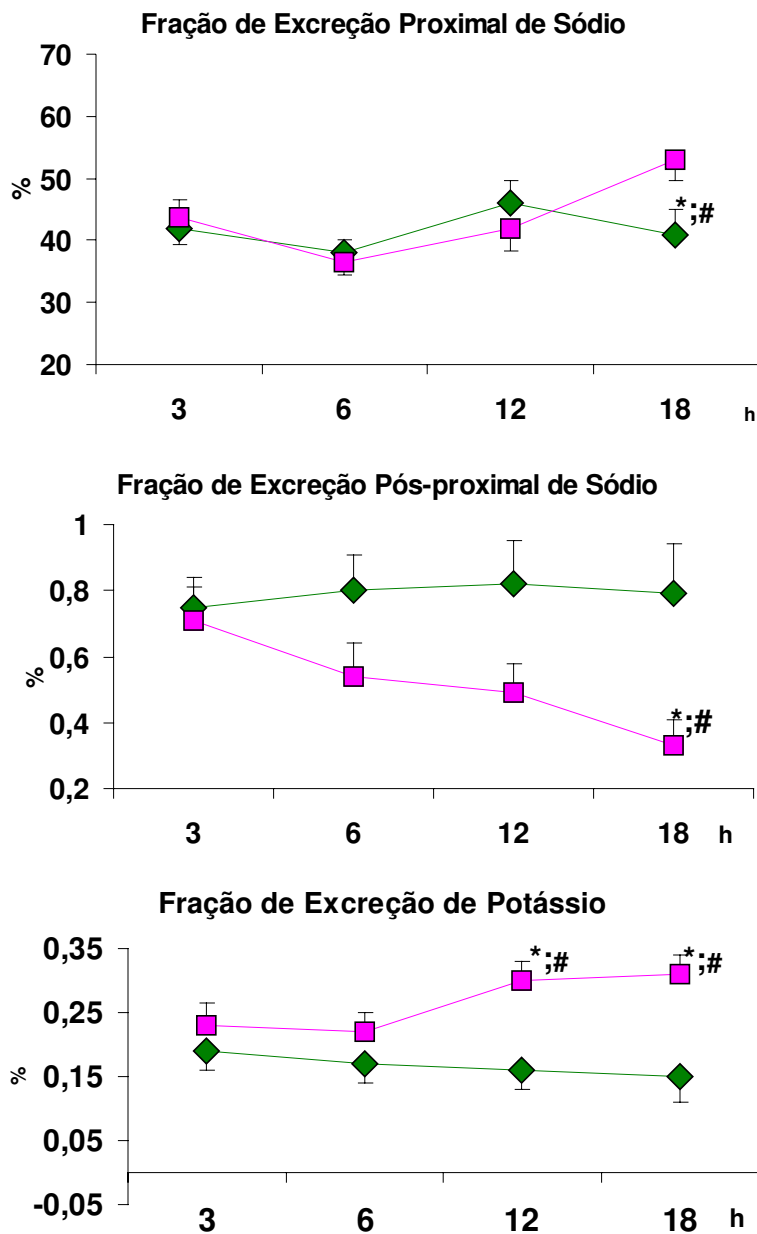


Figura 8: Alterações temporais da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após CLP comparados a um grupo controle tratados com L-NAME.

C-Parâmetros funcionais do grupo séptico-induzido pela CLP tratados com administração subcutânea de NaCl 0,15M comparados com animais sépticos não tratados.

1-Aspectos gerais:

Não foram observadas alterações significativas para a massa corporal nos diferentes tempos experimentais quando comparados aos grupos sépticos tratados com administração de NaCl 0,15M com animais sépticos não tratados (figura 9).

2-Pressão arterial (mmHg):

Avaliação da pressão arterial caudal (PAC) nos grupos sépticos tratados com administração de NaCl 0,15M e o controle sem tratamento nos diferentes intervalos pós-CLP.

Foi observado queda significativa da pressão arterial caudal ($p < 0,05$) as 12 e 18 horas pós CLP no grupo controle de animais sépticos não tratados ao valor controle de $113 \pm 2,8$ mmHg, em relação aos valores de: (3 horas = $121,0 \pm 11,0$; 6 horas = $119,0 \pm 8,0$; 12 horas = $84,0 \pm 8,9$ e 18 horas = $61,0 \pm 9,0$ mmHg) (figura 9).

Após indução de septicemia pela CLP, observa-se uma queda significativa da pressão arterial caudal ($p < 0,05$) às 18 horas ao valor controle de $113 \pm 2,8$ mmHg em relação aos valores de: (3 horas = $132,0 \pm 8,9$; 6 horas = $126,0 \pm 9,0$; 12 horas = $102,0 \pm 9,2$ e 18 horas = $84,0 \pm 8,0$ mmHg) (figura 9).

Na comparação entre os grupos experimental de ratos sépticos tratados com NaCl 0,15M e o controle não tratado, observa-se elevação significativa da PAC ($p < 0,05$) as 12 e 18 horas pós-CLP (figura 9).

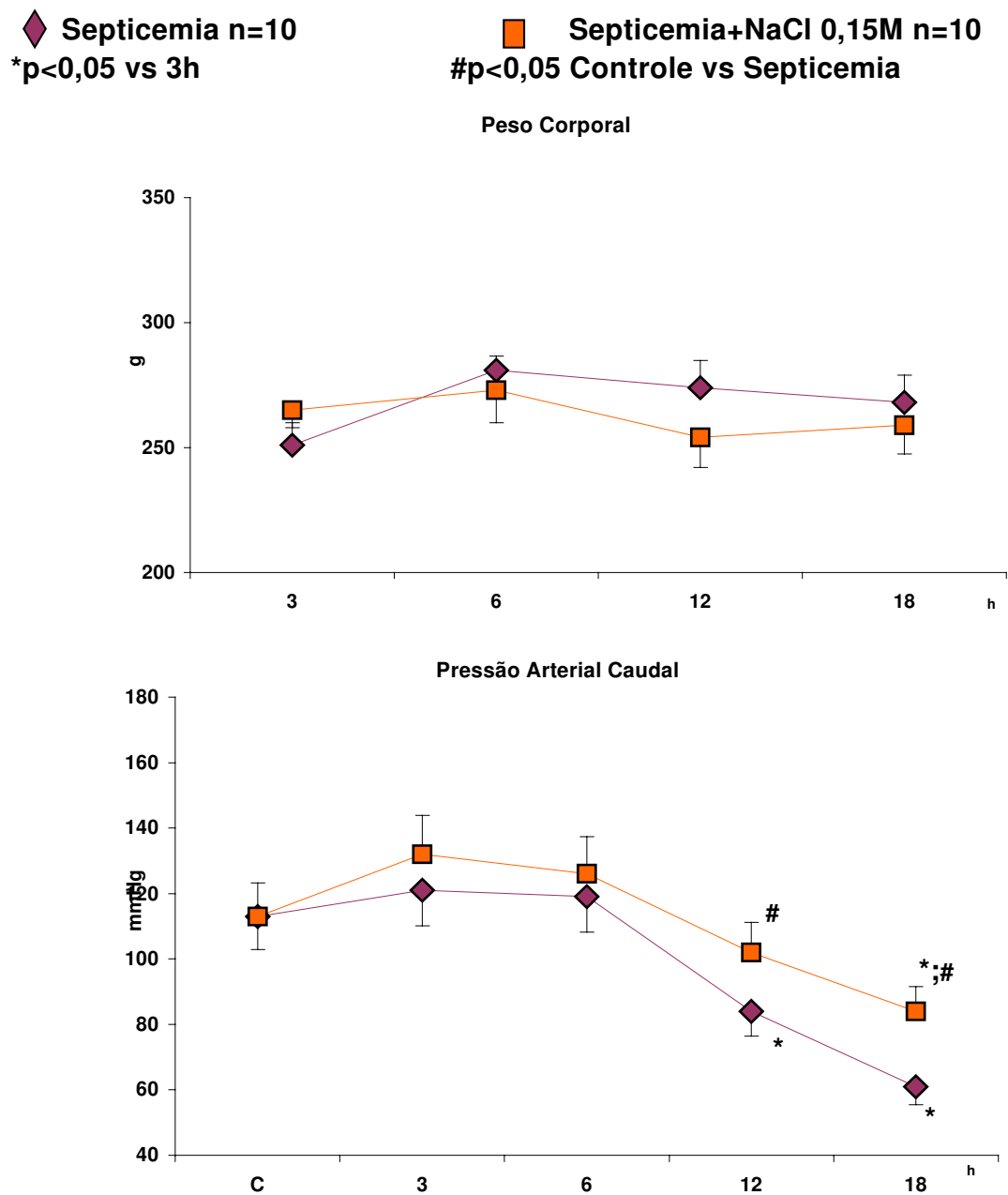


Figura 9: Alterações temporais da massa corporal e da pressão arterial caudal em ratos sépticos após CLP tratados com salina isotônica subcutâneo, comparados a um grupo controle de animais com septicemia sem tratamento.

3-Avaliação da função renal em ratos sépticos pela CLP tratados com NaCl 0,15M e animais controles septicemia-induzida não tratados.

Fluxo urinário minuto (V')

Após a CLP, os animais controles apresentaram uma queda temporal significativa do fluxo urinário ($p < 0,05$) as 12 e 18 horas quando comparados aos intervalos de 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $44,0 \pm 6,2$; 6 horas = $32,1 \pm 4,3$; 12 horas = $20,0 \pm 4,6$ e 18 horas = $13,6 \pm 3,7$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$) (figura 10). Não foram observadas modificações significativas do V' no grupo experimental (figura 10).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos experimental tratados com NaCl 0,15M e o controle não tratados, observa-se uma elevação significativa ($p < 0,05$) do V' às 18 horas após CLP (figura 10).

Clearance de creatinina (C_{Cr}):

Após a CLP os animais controles apresentaram uma queda temporal significativa do C_{Cr} ($p < 0,05$) em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $312,0 \pm 23,0$; 6 horas = $211,0 \pm 22,0$; 12 horas = $172,0 \pm 19,0$ e 18 horas = $163,0 \pm 15,0$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$) (figura 10).

Após a CLP os animais experimentais apresentaram uma queda significativa do C_{Cr} ($p < 0,05$) às 18 horas em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $312,0 \pm 23,0$; 6 horas = $296,0 \pm 22,0$; 12 horas = $292,0 \pm 19,0$ e 18 horas = $216,0 \pm 15,0$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$) (figura 10).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos experimental tratados com NaCl 0,15M e o controle não tratados, observa-se uma elevação temporal significativa ($p < 0,05$) do C_{Cr} (figura 10).

◆ Septicemia n=10
*p<0,05 vs 3h

■ Septicemia + NaCl 0,15M n=10
#p<0,05 Controle vs Septicemia

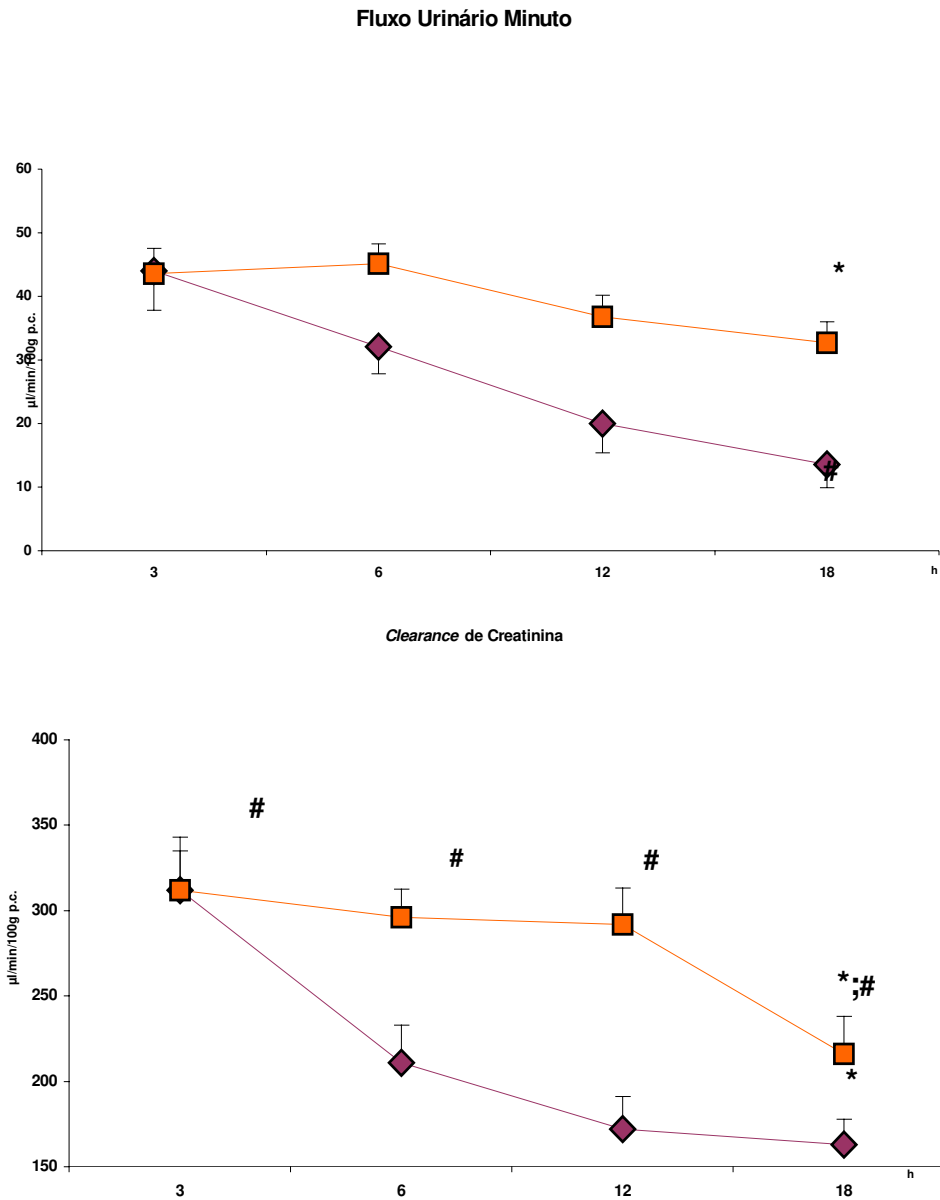


Figura 10: Alterações temporais do fluxo urinário minuto e do *clearance* de creatinina em ratos sépticos após CLP tratados com salina isotônica subcutâneo, comparados a um grupo controle de animais com septicemia sem tratamento.

Clearance de Lítio (C_{Li}):

Após a CLP os animais controles apresentaram uma elevação significativa do C_{Li} ($p < 0,05$) às 18 horas em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $65,4 \pm 8,7$; 6 horas = $63,7 \pm 10,9$; 12 horas = $105,9 \pm 15,2$ e 18 horas = $119,3 \pm 12,3$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g p.c.}$) (figura 11).

Não foram observadas modificações significativas do C_{Li} no grupo séptico experimental (figura 11).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos experimental tratados com NaCl 0,15M e o controle não tratados, observa-se uma elevação significativa ($p < 0,05$) do C_{Li} às 18 horas após CLP (figura 11).

Fração de excreção tubular de sódio (FE_{Na}):

Após a CLP os animais controles apresentaram uma queda significativa do FE_{Na} ($p < 0,05$) em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $0,24 \pm 0,04$; 6 horas = $0,26 \pm 0,06$; 12 horas = $0,37 \pm 0,05$ e 18 horas = $0,45 \pm 0,05$ %) (figura 11).

Após a CLP os animais experimentais apresentaram uma queda significativa da FE_{Na} ($p < 0,05$) em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $42,0 \pm 5,0$; 6 horas = $44,2 \pm 4,0$; 12 horas = $58,0 \pm 6,0$ e 18 horas = $61,3 \pm 3,0$ %) (figura 11).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos experimental tratados com NaCl 0,15M e o controle não tratados, observa-se uma elevação significativa ($p < 0,05$) da FE_{Na} às 18 horas após CLP (figura 11).

◆ Septicemia n=10
*p<0,05 vs 3h

■ Septicemia + NaCl 0,15M n=10
#p<0,05 Controle vs Septicemia

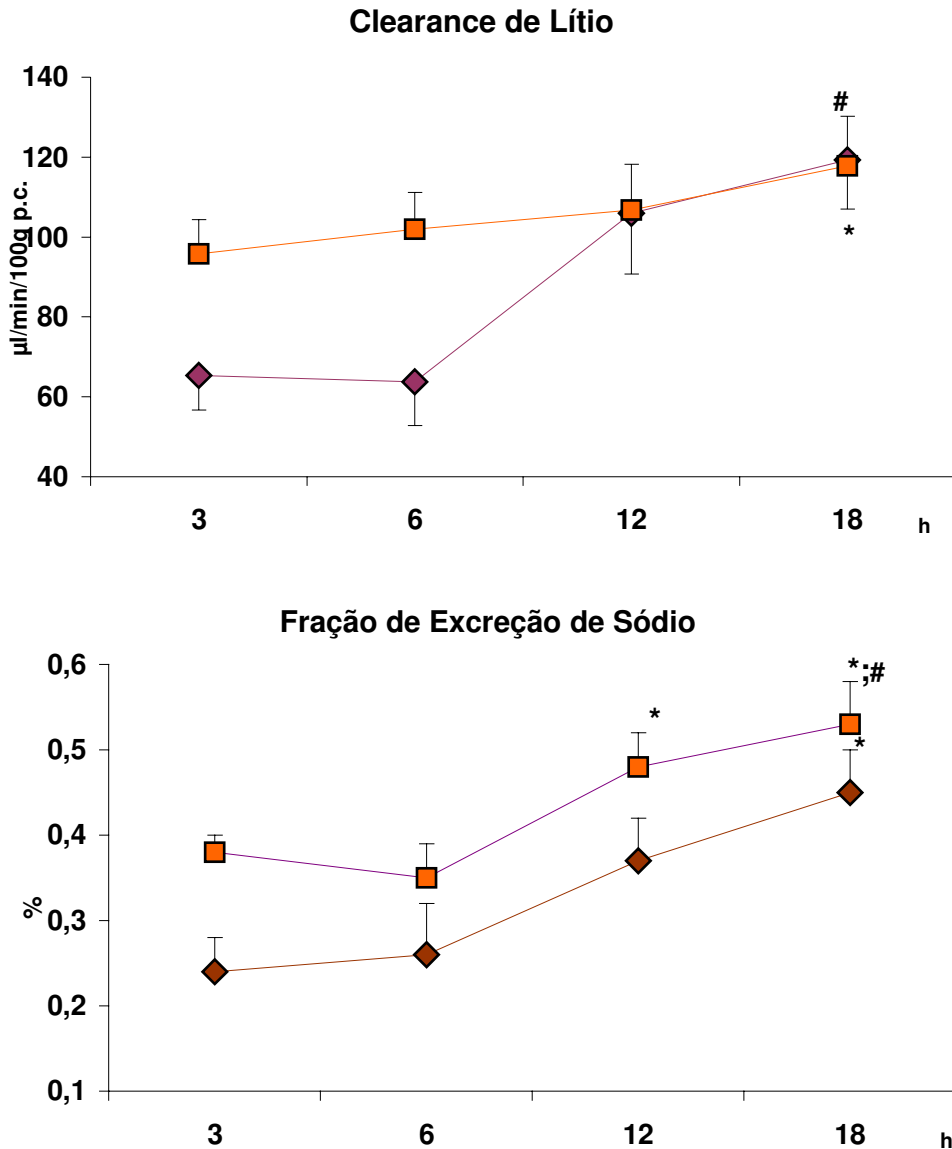


Figura 11: Alterações temporais do *clearance* de lítio e da fração de excreção tubular renal de sódio em ratos sépticos após CLP tratados com salina isotônica subcutâneo, comparados a um grupo controle de animais com septicemia sem tratamento.

Fração de excreção tubular proximal de sódio (FEP_{Na}):

Após a CLP os animais controles apresentaram uma elevação significativa do FEP_{Na} ($p < 0,05$) às 18 horas em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $21,0 \pm 5,4$; 6 horas = $24,6 \pm 3,9$; 12 horas = $38,9 \pm 4,1$ e 18 horas = $48,7 \pm 4,8$ %) (figura 12).

Após a CLP os animais experimentais apresentaram uma elevação da significativa da FEP_{Na} ($p < 0,05$) às 18 horas em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $42,0 \pm 5,0$; 6 horas = $44,2 \pm 4,0$; 12 horas = $58,0 \pm 6,0$ e 18 horas = $61,3 \pm 3,0$ %) (figura 12).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos experimental tratados com NaCl 0,15M e o controle não tratados observa-se uma elevação temporal significativa ($p < 0,05$) da FEP_{Na} (figura 12).

Fração de excreção tubular pós-proximal de sódio (FEPP_{Na}):

Após a CLP os animais controles apresentaram uma queda significativa do FEPP_{Na} ($p < 0,05$) às 12 horas em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $0,49 \pm 0,06$; 6 horas = $0,56 \pm 0,075$; 12 horas = $0,24 \pm 0,066$ e 18 horas = $0,28 \pm 0,08$ %) (figura 12).

Após a CLP os animais experimentais apresentaram uma queda significativa da FEPP_{Na} ($p < 0,05$) às 18 horas em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $0,78 \pm 0,065$; 6 horas = $0,82 \pm 0,49$; 12 horas = $0,66 \pm 0,085$ e 18 horas = $0,52 \pm 0,073$ %) (figura 12).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos experimental tratados com NaCl 0,15M e o controle não tratados, observa-se uma elevação significativa ($p < 0,05$) da FEPP_{Na} a partir das 3 horas após CLP (figura 12).

Fração de excreção tubular de potássio (FE_K):

Após a CLP os animais controles apresentaram uma queda significativa da FE_K ($p < 0,05$) as 12 e 18 horas em relação aos valores iniciais das 3 horas após indução de septicemia (3 horas = $0,19 \pm 0,03$; 6 horas = $0,16 \pm 0,036$; 12 horas = $0,32 \pm 0,037$ e 18 horas = $0,31 \pm 0,03$ %) (figura 12).

Não foram observadas modificações significativas do FE_K no grupo séptico experimental (figura 12).

Quando se procede a comparação entre os grupos sépticos experimental tratados com NaCl 0,15M e o controle não tratados, observa-se uma elevação significativa ($p < 0,05$) do C_{Cr} as 12 e 18 horas após CLP (figura 12).

◆ Septicemia n=10 ■ Septicemia + NaCl 0,15M n=10
 *p<0,05 vs 3h #p<0,05 Controle vs Septicemia

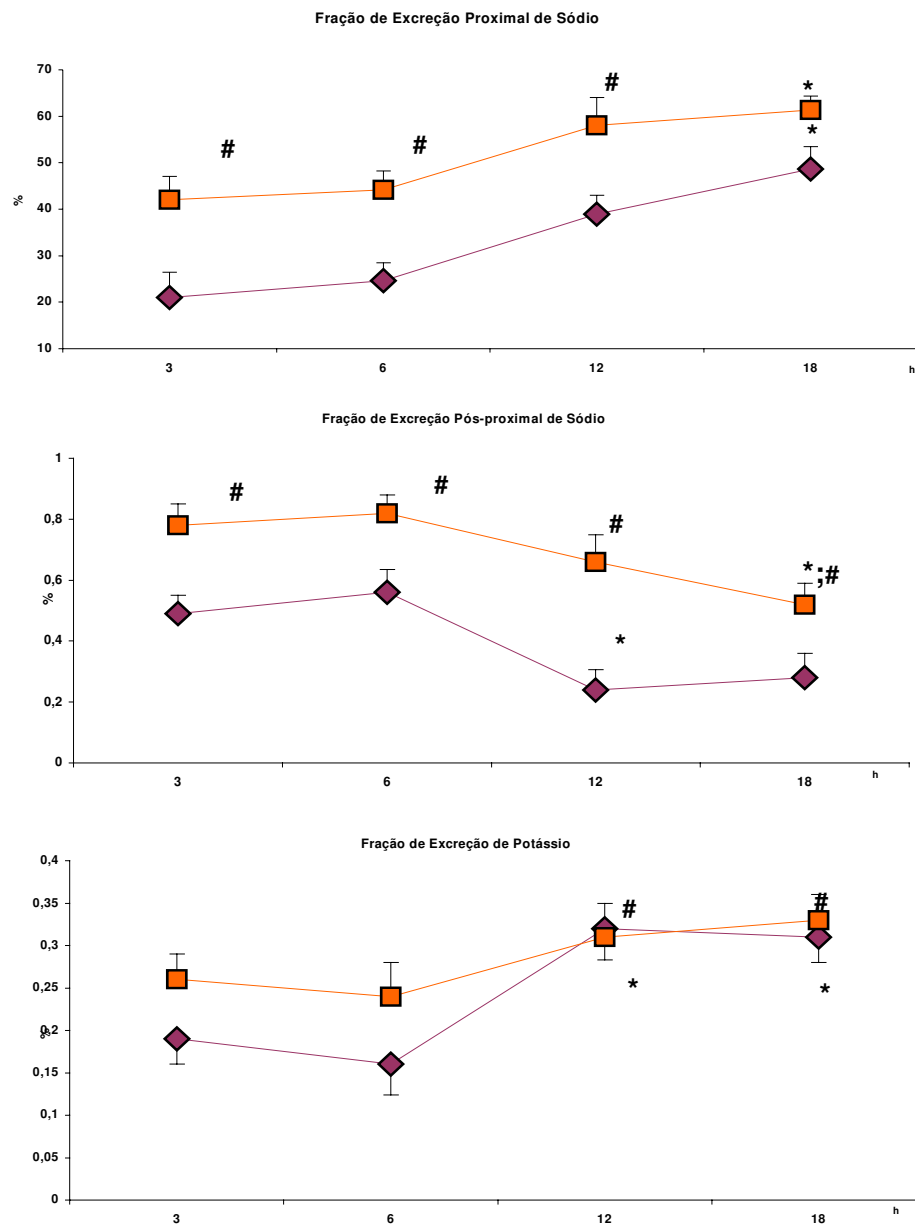
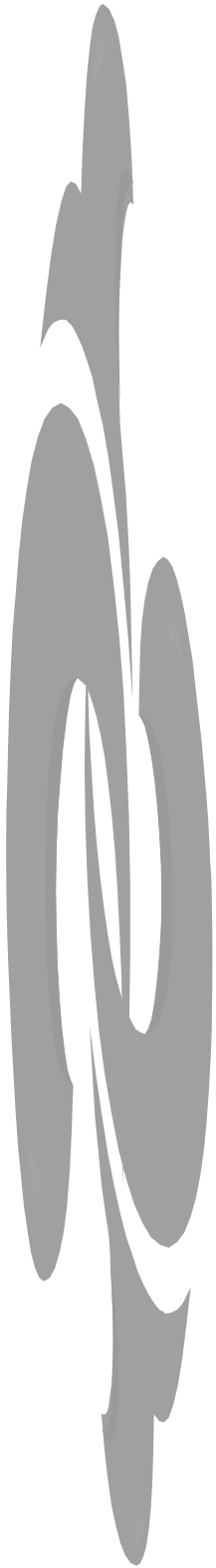


Figura 12: Alterações temporais da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após CLP tratados com salina isotônica subcutâneo, comparados a um grupo controle animais com septicemia sem tratamento.



5. DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho mostram que a septicemia-induzida pela ligadura e perfuração cecal causa uma progressiva deterioração funcional do rim nos animais, que culmina invariavelmente com a morte após as 18 horas.

Este comprometimento orgânico está associado a uma diminuição significativa e progressiva da pressão arterial caudal nos animais sépticos em relação àqueles submetidos à lesão simulada do ceco (figura 1).

Esta alteração hemodinâmica é associada no grupo septicemia-induzida a uma elevação na reabsorção tubular de íons, particularmente sódio nos segmentos tubulares proximais do nefro nas primeiras 6 horas experimentais e durante todo o período experimental nos segmentos pós-proximais (figuras 3 e 4). Este transitório aumento na reabsorção proximal nas primeiras 6 horas pós-CLP é seguida por uma elevação na rejeição proximal a partir de 12 horas experimentais (figura 3), a despeito de uma contínua queda da pressão arterial, do *clearance* de creatinina e do fluxo urinário (figura 2).

KUHLMANN et al. (1994), observou que a septicemia pós CLP evoluiu com necrose do ceco e formação de abscesso cecal, que se estende para a cavidade peritoneal de maneira semelhante ao observado em pacientes hipercatabólicos com IRA. O presente modelo animal de septicemia que evolui com acentuada disfunção renal, foi desenvolvido em animais sem doença renal prévia, transcorre com intensa manifestação hipercatabólica.

O grau de catabolismo confirmado em nossos experimentos é significativo sendo refletido pelo consumo de bicarbonato de sódio sérico e elevação da lactemia nestes animais já nas primeiras horas experimentais (MENEGON et al., 1998).

A isquemia renal transitória, reversível e comum no ser humano é descrita neste modelo de septicemia como sendo uma das causas de lesão renal associada (KUHLMANN et al., 1994).

O modelo septicemia CLP-induzida, é provavelmente causado pela liberação endotóxica bacteriana, apresenta um processo inflamatório persistente na cavidade peritoneal sendo freqüentemente associada com hipovolemia, disfunção renal, hepática e hipoproteïnemia.

PEDERSEN et al. (1989), mostraram que os efeitos sistêmicos dos modelos de septicemia não são causados pela ação direta de bactérias, sobre os tecidos, mas pela secreção endócrina e paracrina de hormônios, peptídeos e citocinas após a invasão bacteriana causando uma pronunciada redução da pressão arterial média sem alterações significativas da frequência cardíaca. Estas observações são confirmadas no presente estudo evidenciando uma fase compensatória seguida por um período hipodinâmico a partir de 12 a 18 horas após a CLP.

Relacionando as observações pressóricas acima no grupo septicemia-induzidos àquelas verificadas para a função renal notamos um paralelismo acentuado, com redução progressiva do fluxo urinário a partir das 12 horas pós CLP, e na filtração glomerular estimada pelo C_{Cr} . Pressupõe-se que esta oligúria e redução da taxa de filtração glomerular sejam pelo menos em parte resultado de proeminentes alterações hemodinâmica sistêmicas e renais secundárias à hipotensão arterial grave induzida pela sepse. Estes dados são concordantes com estudos prévios de NEVIÉRE et al. (1999), nos quais a septicemia inicia a partir de um foco infeccioso supurativo peritoneal localizado, que por contiguidade compromete o ramo venoso, arterial ou linfático, produzindo flebite, arterite e linfangite.

Por via hematogênica através de trombos sépticos formam-se focos metastáticos por bactérias gram negativas, nos quais a LPS é a responsável pela ação patogênica da endotoxina. Com o choque séptico (quadro clínico dominante da septicemia), observa-se à instalação da falência de múltiplos órgãos, cujos mecanismos são pouco elucidados, e com elevada taxa de mortalidade. Neste estado crítico paciente e animais em modelos experimentais são suscetíveis ao dano intestinal, devido a uma possível falha da permeabilidade e do mecanismo de defesa do intestino, cuja disfunção intestinal complicada pela septicemia é consequência de um dano e descontinuidade da mucosa, seguida de redução da perfusão microcirculatória (NEVIÉRE et al., 1999). Nos modelos animais utilizados para produção de septicemia com evolução para falência de múltiplos órgãos, tanto a causada pela injeção de endotoxina quanto aquela decorrente da indução de peritonite pela CLP apresentaram comportamento funcionais e hemodinâmicos similares após a produção de septicemia.

Entretanto, como tem mostrado recentemente KNOTEK et al. (2001), o presente trabalho não pode afastar a possibilidade que os efeitos hemodinâmicos renais sejam independentes da hipotensão arterial observada. Esta afirmativa está em acordo com as observações de que em animais pré-tratados com TNFRp55 (TNF-soluble receptor) que somente uma queda parcial da filtração glomerular seja decorrente de modificações na pressão arterial e no fluxo sanguíneo renal (KNOTEK et al., 2001). Nestes animais os níveis séricos de NO também eram baixos, sugerindo ser a disfunção renal durante a sepse independente de NOS e hipotensão, sendo possivelmente resultado de um desequilíbrio na secreção de substâncias vasodilatadoras e vasoconstrictoras renais (PAJKART, 1996).

Segundo VINCENT (1996), a endotoxina atua diretamente sobre os tecidos de vários órgãos, evoluindo com redução do débito cardíaco, seguido de queda da pressão arterial e da perfusão periférica, com evolução para o “choque frio” caracterizado por pele fria, úmida, palidez, cianose, taquicardia com hipotensão arterial progressiva secundária ao vasoespasmó decorrente da liberação de catecolaminas e hiperatividade simpática compensatória a hipotensão e vasodilatação arterio-venosa.

A progressiva redução do ultrafiltrado glomerular no presente estudo foi acompanhada por alterações funcionais tubulares (figuras 2, 3, 4), caracterizados por um aumento da excreção tubular de sódio a partir das 12 horas pós-sepse decorrente de um aumento da FEPNa. Esta rejeição tubular proximal de sódio foi acompanhada pelo aumento da reabsorção pós-proximal deste íon. A reabsorção pós-proximal de sódio promoveu um aumento na excreção tubular do potássio observado na (figura 4) a partir das 12 horas após indução da septicemia. As alterações glomerulo-tubulares encontradas no grupo de ratos septicemia-operados sem tratamento, são compatíveis com a evolução típica de uma insuficiência renal aguda, 12 horas após indução de septicemia.

Estudos prévios têm demonstrado que ratos submetidos a choque séptico preservam a capacidade de extração tecidual de O₂, que poderia seguir a manutenção de um balanço adequado de sódio e água pelos túbulos renais (HEEMSKERK et al., 1997^B). No entanto, a persistência de um consumo renal adequado de O₂ ocorre a despeito de uma queda no aporte tecidual de oxigênio sendo que a reabsorção efetiva de sódio diminui com consequência de uma queda na filtração glomerular (HEEMSKERK et al., 1997^B).

O presente estudo confirma uma queda na reabsorção proximal de sódio nos animais 12 horas após instalação do choque séptico e este resultado, tomado junto com os dados da literatura indicando um consumo parenquimatoso inalterado de O₂, sugere que o trabalho renal na septicemia requer um excessivo consumo de O₂, para manter a sua função. Embora estudos WEBER et al. (1992) tenham demonstrado esta maior necessidade de oxigênio para realizar a mesma função em animais sépticos, o epitélio tubular não parece apresentar alterações morfológicas significativas. É possível que os achados sejam conseqüências de uma retrodifusão de sódio a partir da região basolateral em direção a luz tubular.

Como possíveis causas deste “vazamento” tubulares poderiam ser aventado fatores inflamatórios ou mediadores vasoativos de secreção paracrina ou endócrina durante o estado séptico (HEEMSKERK et al., 1997^B). O aumento deste “*back-flow*” de sódio teria como conseqüência um elevado consumo de O₂ para manutenção de uma efetiva reabsorção de sódio.

Fatores adicionais como a secreção de enzimas por células polimorfonucleares que migram para o rim ou que são liberadas sistemicamente por células circulantes, podem promover uma diminuição da atividade Na⁺K⁺ATPase contribuindo para a natriurese observada (COHEN et al., 1986).

VAN LAMBALGEN et al.(1993), relataram, que a IRA é uma das alterações mais precoces observadas durante choque séptico, podendo ocorrer antes das mudanças hemodinâmica, ou até mesmo que estas alterações ocorram.

PÁLSSON et al. (1997), demonstraram que 1 hora após a infusão de *E. coli* ocorre uma queda do taxa de filtração glomerular, fluxo urinário e da excreção tubular de sódio em torno de 30-50%. A queda na filtração glomerular foi causada pela diminuição do débito cardíaco (depressão miocárdica *E. coli*-induzida), aumento da atividade simpática renal, e/ou por uma queda no coeficiente de ultrafiltração glomerular.

Estas observações são compatíveis com os resultados iniciais do presente estudo onde se observam um transitório aumento na reabsorção tubular de sódio refletido pela queda da FE_{Na} (figura 3).

Como vimos na secção anterior, uma importante característica deste estado fisiopatológico é o decréscimo da taxa de filtração glomerular associada a uma rejeição proximal do sódio após 12 horas de evolução, características muitas vezes não associada a modificações no fluxo sanguíneo renal (HEEMSKERK et al., 1997^B).

Teorias sobre a patogênese da insuficiência renal aguda sugerem uma secreção inapropriada de vários mediadores inflamatórios (HEEMSKERK et al., 1997^A), estes podem ser diretamente citóxicos ou promover uma má distribuição do fluxo sanguíneo e do suprimento de O_2 dentro da microcirculação renal.

Um grande número de estudos (GLAUSER, 1991; EVANS, 1993; BOYLE et al., 2000) tem levantado a hipótese que o óxido nítrico (NO) seja o mediador secundário da endotoxemia. O NO é produzido endogenamente, atuando localmente como vasodilatador cujo sinal intracelular parece ser via estimulação da 3',5' GMPc (DINARELLO, 1996).

O NO causa uma inibição de agregação plaquetária direta ou indiretamente em sinergismo com PGI (RADOMSKI et al., 1987^A).

Lipopolissacáride (LPS) de origem bacteriana bem como fator de necrose tumoral (TNF) e outras citocinas podem estimular a produção de NO via NOS cálcio-independente (BEASLEY et al., 1991). Tem sido demonstrado que células mesangiais em cultura quando incubados com LPS aumentam a produção de NO (SHULTZ et al., 1991).

KILBOURN et al. (1990), mostraram que a inibição de NOS atenua a hipotensão causada por TNF em cães. Finalmente, PETROS et al. (1991) descreveu os benefícios hemodinâmicos de inibição de síntese de NO em 2 pacientes com choque séptico. Com base nos dados acima, o presente estudo procurou determinar se a inibição da NOS pelo L-NAME causa modificações significativas na evolução do choque séptico causado pela CLP.

Os resultados obtidos demonstram que tanto no grupo *sham*-operados como no grupo septicemia-induzido tratado previamente com L-NAME, apresentaram elevação temporal da pressão arterial caudal (PAC) até 12 horas após indução da sepse (grupo septicemia-induzido) com queda significativa da PAC, às 18 horas após indução de septicemia (figura 5), embora esta queda aguda mantivesse ainda dentro de níveis pressóricas semelhantes àqueles observados para *sham*-operados não tratados (figura 1), sugerindo que o tratamento prévio com inibidor da NOS atenuou severamente a queda pressóricas nos animais sépticos. Estes dados foram confirmados por estudos, mostrando que a inibição da NOS melhora a vasodilatação sistêmica e a hipotensão associada ao choque séptico (PETROS et al., 1991), embora outros (NAVA et al., 1991; BOYLE et al., 2000), indagaram que a inibição da NOS possa reduzir ou potencializar a trombose glomerular e a injúria renal durante a endotoxemia.

Esta afirmativa é sustentada pelas observações do presente estudo de que apesar de previamente tratados com L-NAME, observa-se que a CLP promoveu alterações significativas na função renal com redução do fluxo urinário a partir das 12 horas após CLP, esta queda foi evolutiva até atingir nível acentuado por volta de 18 horas quando comparado com o grupo controle *sham*-operado (figura 6). Esta queda do fluxo urinário foi acompanhada também por uma redução da filtração glomerular 18 horas após indução de septicemia, embora os níveis pressóricas (~100mmHg) estivessem próximos aos níveis satisfatórios para manutenção de uma adequada filtração glomerular.

Com a redução do ultrafiltrado glomerular às 18 horas pós-CLP mesmo com tratamento prévio com L-NAME, observa-se no grupo septicemia-induzido um aumento da excreção urinária de sódio (FE_{Na}), associada a uma rejeição tubular proximal do sódio. Esta rejeição tubular proximal de sódio foi acompanhada por um aumento da excreção urinária deste íon e pela elevada secreção de potássio a partir de 12 horas após indução de septicemia.

No presente estudo, a despeito de uma significativa atenuação da hipotensão pelo L-NAME pós-CLP, ocorreu uma significativa redução no clearance de creatinina às 18 horas. Estas observações podem sugerir a possibilidade de que a redução da filtração glomerular neste modelo de sepse possa ocorrer como resultado de uma trombose e ou

deposição de fibrina nos capilares glomerulares como descritos por (RAIJ et al., 1977; FERRARIO et al., 1991).

Recentemente XAVIER et al. (2000), mostraram a presença de proteinúria após tratamento com L-NAME. É provável que esta proteinúria seja devido à hipertensão intraglomerular, desde que ambos os grupos, *sham*-operados e septicemia-induzidos apresentaram HA sistêmica. Não se afasta, entretanto, a possibilidade de que a inibição de NOS pelo L-NAME esteja associado a uma maior agregabilidade plaquetária e lesão glomerular, potencializada pelo choque séptico.

Muito investigador tem estabelecido que o NO é um dos fatores de relaxamento derivado do endotélio (EDRF) importante na manutenção do tônus vascular basal em indivíduos normais e em situações patológicas tais como: hipertensão arterial e insuficiência renal aguda (TOLINS et al., 1990; SHULTZ et al., 1990).

Tem sido estabelecido que estados de endotoxemia promovem a ativação da NO sintase, tipo indutiva, fazendo com que NAVA et al. (1992), tenha sugerido que os elevados níveis circulantes de endotoxinas e/ou citocinas possam ser os responsáveis pela vasodilatação bem como pelo choque endotóxico durante os estados sépticos. No entanto, vasodilatações teciduais locais induzidos pelo NO, podem auxiliar na manutenção de um fluxo sangüíneo adequado em órgãos durante períodos de hipoperfusão.

Adicionalmente, a propriedade antiagregante plaquetária do NO poderia proteger órgãos e tecidos contra trombose de pequenos vasos (RADOMSKI et al., 1987^A).

Estas ações do NO poderiam ter um efeito protetor durante a septicemia.

Tomando como base os nossos resultados em relação ao estudo citado acima, podemos aventar a possibilidade que embora a inibição da NOS pelo L-NAME retarde os efeitos decorrentes da hipotensão induzida pelo NO, uma menor produção de óxido nítrico pode levar agregação plaquetária, vasoconstrição e a trombose capilar em uma variedade de órgãos associada à disfunção destes (RADOMSKI et al., 1987^B).

THIEMERMANN & VANE (1990), já haviam observado que o L-NMMA e L-NAME poderiam atenuar a hipotensão após a infecção pelo LPS ou injeção de bactéria viva.

PETROS et al. (1991), foram os primeiros a descreverem o uso de análogos da arginina em dois pacientes em choque séptico severo. Tanto o L-NMMA quanto o L-NAME produziram uma elevação sustentada na pressão arterial média entre 10 minutos a várias horas após a sua administração, embora este fenômeno fosse acompanhado por uma queda no índice cardíaco de 4,5 para 2,7 l/min/m² e os pacientes foram a óbito por falência de múltiplos órgãos. Em estudo randomizado, duplo-cego, placebo-controlado de L-NMMA em 12 pacientes com choque séptico, PETROS et al. (1991), revelaram que em 6 pacientes recebendo a droga através de bolus de 0,3 mg/kg ou através da infusão contínua de 1 mg/kg/hora durante 6 horas foram confirmados as observações do presente trabalho, com uma ascensão sustentada da pressão arterial média, acompanhada, no entanto por uma queda da frequência cardíaca do débito cardíaco. Esta elevação pressóricas caracteriza-se como efeito benéfico do L-NAME, mas a queda do débito cardíaco, no entanto, evidenciou-se uma grande desvantagem.

Por outro lado, SCHILLING et al. (1993), também testaram L-NMMA em pacientes em choque séptico refratário, e observaram uma elevação da pressão arterial média acompanhado de uma queda de 30% no índice cardíaco, embora os pacientes tenham sobrevivido.

Sustentando mais uma vez os resultados do presente estudo, os dados de RODRIGUEZ-PEREZ et al. (1998), constataram que os ratos cuja síntese de NO foi bloqueada por L-NAME 100 mg/L na água, durante 21 dias, comparados a um grupo controle, apresentaram uma elevação da pressão arterial associada a vasoconstrição renal, queda do fluxo sanguíneo renal sem alterações significativas da filtração glomerular, tendo como consequência, um aumento da fração de filtração (FF), e uma mantida excreção urinária de sódio.

Estudos prévios de LIN et al. (1999); XAVIER et al. (2000), mostraram que o uso de L-NAME em longo prazo causam uma elevação da pressão arterial, seguida por um aumento na excreção urinária de sódio, devido à rejeição do sódio nos segmentos tubulares pós-proximais do nefro associada a uma pronunciada redução da filtração glomerular e conseqüente redução da carga filtrada de sódio. A inibição da NOS modifica a reabsorção tubular de sódio através de uma ação direta sobre o transporte tubular de sódio, bem como por uma redução em fluxo sanguíneo medular e/ou elevação na pressão hidrostática peritubular (GRANGER et al., 1986; MATTSON et al., 1992) Em apoio a uma ação direta de NO sobre o transporte tubular, tem sido observado uma inibição do transporte de sódio em células em cultura derivadas do ducto coletor cortical (STOOS et al., 1991).

Assim, na observação do presente estudo tomados junto com outros (SHULTZ et al., 1992; LIN et al., 1999; XAVIER et al., 2000) mostram que, a inibição aguda e crônica de NO, na septicemia promove um provável aumento da pressão capilar glomerular, mantendo-se a capacidade filtrante do nefro com um efeito antagônico sobre a ação deletéria da vasodilatação sistêmica nesta situação experimental.

Os resultados mostram que animais septicemia-induzidos sem administração ou após a administração de NaCl 0,15M, apresentaram queda significativa da PAC configuradas nas curvas apresentadas na figura 3. Os decréscimos da pressão arterial caudal intergrupo nos animais septicemia-induzidos tratados com NaCl 0,15M foi significativamente menor às 18 horas após indução. Quando comparados ao grupo septicêmico sem tratamento a PAC dos animais septicemia-induzidos tratados com NaCl 0,15M foi de: Controle = $113,0 \pm 2,8$; 3 horas = $132,0 \pm 8,9$; 6 horas = $126,0 \pm 9,0$; 12 horas = $102,0 \pm 9,2$; e 18 horas = $84,0 \pm 8,0$ mmHg vs PAC dos animais septicemia-induzidos sem tratamento: Controle = $113,0 \pm 2,8$; 3 horas = $121,0 \pm 11,0$; 6 horas = $119,0 \pm 8,0$; 12 horas = $84,0 \pm 8,9^*$; e 18 horas = $61,0 \pm 9,0^*$ mmHg) (* $p < 0,05$) foi significativamente menor das 12 às 18 horas após indução, no grupo de animais septicemia induzido sem tratamento.

Alterações da função renal:

Na comparação entre ratos septicemia-induzidos sem tratamento, e aqueles tratados pela administração SC de NaCl 0,15M, observam uma significativa e progressiva queda na filtração glomerular associada com uma pronunciada redução do fluxo urinário no grupo não tratado, quando relacionados ao grupo tratado com NaCl 0,15M subcutâneo (figura 10).

Com a redução do *clearance* de creatinina, observamos alterações significativas funcionais tubulares com um aumento da excreção urinária de sódio associado a uma rejeição tubular proximal e pós-proximal de sódio como mostrado na figura 10.

Nossos resultados mostram também um aumento da FEK, partir das 12 horas após indução da septicemia.

Após administração subcutânea de NaCl 0,15M, ocorre um transitório, mas significativo retardo da queda pressóricas e funcional renal, embora não modifique a evolução final da septicemia ao fim de 18 horas. Apesar da reposição volêmica com NaCl 0,15M as alterações glomerulo-tubulares são compatíveis com a instalação de insuficiência renal aguda no grupo de ratos septicemia-induzidos a partir das 12 horas após indução de septicemia.

Segundo METRANGOLO et al. (1995), no choque séptico experimental, o padrão hipodinâmico e hipocinético é observado nas fases iniciais do curso do choque, antes da administração de fluídos, ou após instalação de insuficiência miocárdica. A tentativa do uso agressivo de fluídos com soluções hipertônicas para recuperação hemodinâmica associada ao uso de dobutamina têm sido invariavelmente prescritos.

Em estudos prévios HEEMSKERK et al. (1997^A), refere que o tratamento com soluções colóides promove aumento no fluxo urinário em ratos controles e com bacteremia, mas não em ratos com endotoxemia. No presente estudo, animais submetidos à septicemia e tratados após reposição salina apresentam uma redução tardia da função, acompanhado por um aumento da excreção tubular proximal de sódio, revelando uma transitória melhora clínica, mas que, entretanto, não previne definitivamente a deterioração funcional

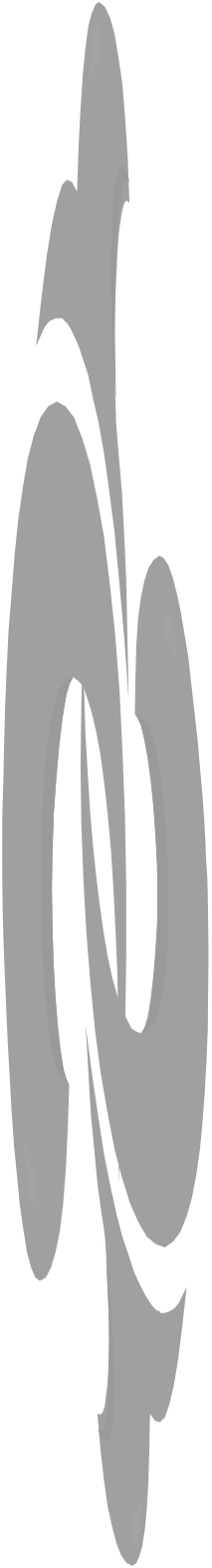
glomérulo-tubular. É possível que o estado endotóxico com o decorrer do processo infeccioso cause uma significativa disfunção na contratilidade ventricular suficiente para impedir uma adequada recuperação hemodinâmica.

Nossos resultados confirmam parcialmente os estudos de PEDERSEN et al. (1989), quando observaram que a administração subcutânea de fluído causa uma importante resposta hiperdinâmica após a septicemia CLP-induzida em ratos. No volume de 5 ml/100 gramas de peso corporal, de solução salina isotônica, administrada subcutaneamente, os autores obtiveram uma significativa melhora na hemodinâmica, neste modelo de sepse.

Verificamos, portanto que, com a reposição hidrosalina, há um retardo temporário da queda do C_{Cr} , provavelmente, por um temporário acúmulo da resistência vascular renal pós-glomerular associado a uma também transitória reabsorção tubular de sódio e água, que, no entanto, não é persistente durante todo o acompanhamento do processo.

Os nossos dados avaliam que há uma imediata preservação da função renal, com a reposição subcutânea com NaCl 0,15M, embora transitória, provavelmente como conseqüência de uma provável elevação do fluxo plasmático renal por uma dilatação arteríola aferente ou decorrente de um aumento da pressão de filtração glomerular por constrição eferente, exercendo considerável proteção sobre a filtração glomerular alterada pela septicemia-induzida.

Os resultados do presente estudo mostram que grupos de ratos pós-CLP evoluiu para um estado de choque hemodinâmico provavelmente a partir das 12 horas após a indução da septicemia (figura 1). Por outro lado, o tratamento prévio de animais com L-NAME ou reposição volêmica pela administração de NaCl 0,15M, promoveram um retardo na evolução deletéria deste estado patológico com uma pronunciada queda pressóricas às 18 horas pós a CLP (figuras 5 e 9), embora estas manobras terapêuticas não impedissem a lesão fatal da indução séptica.



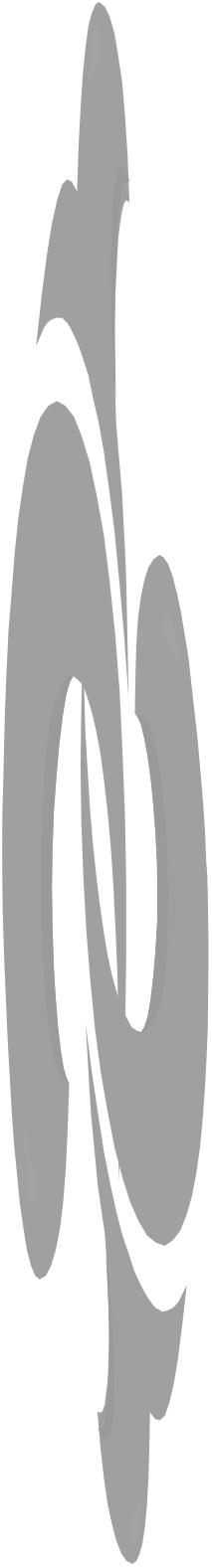
6. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo mostram que:

Grupos de ratos submetidos à septicemia provocados por ligadura e perfuração cecal evoluiu para um estado de choque hemodinâmico provavelmente a partir das 12 horas após a indução da septicemia (figura 1).

Por outro lado, a realização de tratamento prévio de animais controles e experimentais com L-NAME promoveram um retardo na evolução deletéria deste estado patológico com uma pronunciada queda pressóricas às 18 horas pós a CLP (figuras 5), embora esta manobra terapêutica não impediu a lesão fatal da indução séptica.

Finalmente, a realização de tratamento com reposição volêmica de animais experimentais pela administração de NaCl 0,15M, promoveram um retardo na evolução deletéria deste estado patológico com uma pronunciada queda pressóricas às 18 horas pós a CLP (figuras 9), embora esta manobra terapêutica também não impediu a lesão fatal da indução séptica.



7. SUMMARY

Acute renal failure is a frequent complication in septic patients associated with a high mortality rate. An important characteristic is a decrease in glomerular filtration rate, which is even present in situations where renal blood flow has been maintained. Prevailing hypothesis on the pathogenesis of renal failure suggest an inappropriate and uncontrolled release of various inflammatory mediators. Overwhelming sepsis, with or without septic shock, can be an extremely difficult clinical trouble to treat. Antibiotics clearly are a mainstay of therapy but are often inadequate in the immunocompromised host. Additionally, an adequate nutritional, pressure, fluid and electrolyte management is critical in the care of patients with sepsis. One such septicemia model that is frequently used is cecal ligation and puncture in rats. This model resembles human sepsis in several important aspects, such as an early phase of hyperdynamic, hypermetabolic sepsis followed by a late phase of hypodynamic sepsis. An intra-abdominal abscess causes the condition and devitalized tissue, which are common source of sepsis in-patients as well.

Recent studies also suggest involvement of nitric oxide (NO), generated by inducible NO synthase (iNOS), in the pathogenesis of endotoxin-induced renal failure. Several studies have shown that the short-term administration of N^o-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), an inhibitor of nitric oxide (NO) synthesis results in a prompt increase in the arterial pressure of rats, rabbits, and dogs. The immediate increase in arterial pressure reflects principally an increased vascular smooth muscle tone as a consequence of decreased NO synthesis. Increases in sympathetic nerve activity have been described after acute inhibition of NO synthesis, suggesting that neurogenic mechanisms may contribute to the rise in arterial pressure.

Administration of an adequate volume of fluid is important for the hyperdynamic response and to keep the hemodynamic steady state after cecal ligation and puncture (CLP) in rats. In the present study, 5 milliliters per 100 grams of body weight of 0.15M NaCl solution were administered *via* subcutaneous, immediately after CLP, as recommended previously.

The present study was performed to compare blood pressure behavior and renal sodium handling in three groups (experimental *versus* control group, n=10 each) of adult male Wistar-Hannover rats (weighting between 200-250 g) at 3, 6, 12 and 18 hour after

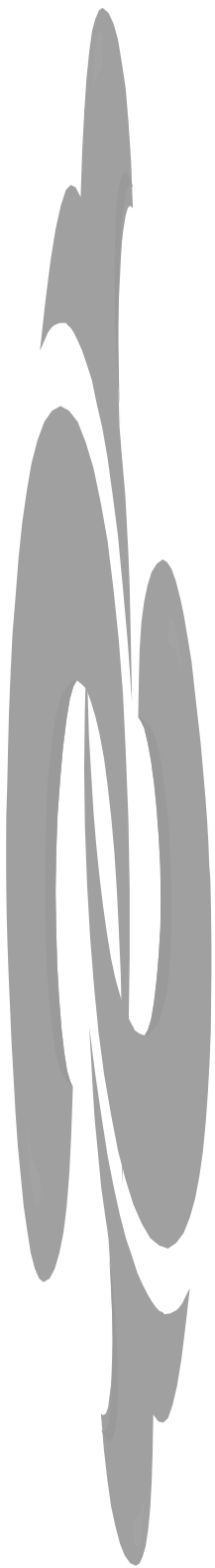
cecal ligation and puncture (CLP): 1) CLP and sham-operated vehicle-treated, 2) CLP and sham-operated L-NAME-treated, and 3) CLP and sham-operated 0.15M NaCl-treated rats. Three series of experiment were performed between 3 to 18 hours once most of animals died after 24 hours post CLP.

Arterial blood pressure and renal function study were measured 3, 6, 12 and 18-h after CLP in conscious rats by tail-cuff method and whole kidney creatinine and lithium clearances. The arterial pressure and renal function tests were performed in individual metabolic cages 7 days after the beginning of L-NAME administration (60mg/kg/day) and 3, 6, 12 and 18-h after 5ml 0.15M NaCl administration, and progressively increased arterial pressure from 127 ± 3.5 mmHg to 149 ± 13.0 mmHg ($P<0.05\%$) in the sham-operated group and a significant blood pressure decrease to 96 ± 8.0 mmHg 18-h after CLP. So, the development of hypertension was significantly delayed and attenuated in septic L-NAME-treated rats. By the 7th day of treatment the increased blood pressure was accompanied by a non-significant fall in creatinine clearance from $310\pm 32\mu\text{l}/\text{min}/100$ g to $305\pm 23\mu\text{l}/\text{min}/100$ g and no change in fractional urinary sodium excretion. In CLP group the treatment with L-NAME did not prevent the glomerular filtration fall (from $294\pm 25\mu\text{l}/\text{min}/100$ g to $185\pm 16\mu\text{l}/\text{min}/100$ g), as well as the proximal sodium rejection ($43.7\pm 4.4\%$ to $53.0\pm 3.3\%$) 18-h post sepsis induction. This was accompanied by a striking additional increase in fractional renal potassium excretion from $0.15\pm 0.04\%$ to $0.31\pm 0.03\%$ in sham-operated and septic rats respectively and an enhanced proximal followed by consecutive fall post-proximal sodium excretion compared to no-changed urinary sodium excretion the sham-operated group.

Fluid replacement was performed with the view of obtaining the amelioration of circulation and renal function in septic rats. Administration of an adequate volume of fluid is important for the hemodynamic stability after CLP in rats. However, in the present study, 5 ml per 100 g of body weight of 0.15M NaCl solution administered subcutaneously did not improved significantly the survival rate and renal tubular function. Our results suggest that fluid resuscitation delayed and attenuated the blood pressure and glomerular filtration rate decrease, based upon current understanding of the pathophysiology of fluid imbalance, should be to ensure adequate oxygen delivery by optimizing blood oxygenation,

perfusion pressure, and circulation volume independently of an additional increase in tubule sodium reabsorption in the whole segments of nephrons. Maintenance of higher values in venous pressure during fluid resuscitation might be recommended because adequate fluid resuscitation could sustain the renal function, and result in good outcome.

Key words: Experimental sepsis, renal function, nitric oxide, arterial blood pressure, natriuresis, and lithium clearance.



8. REFEREÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAM, E.; SHOEMAKER, W.C; BLAND, R.D; COBO, J.C. - Sequential cardiorespiratory pattern in septic shock. **Crit. Care Med.**, **11**:799-803, 1983.
- ARNAOUT, M.A. - Structure and function of the leukocyte adhesion molecules CD11/CD18. **Blood**, **75**:1037-1050, 1990.
- BAHKDI, S; GRIMMINGER, F; SUTTORP, N; WALMARATH, D; SEEGER, W. - Proteinaceous bacterial toxins and pathogenesis of sepsis syndrome and septic shock: the unknown connection. **Med. Microbiol. Immunol.**, **183**:119-144, 1994.
- BEASLEY, D.; SHARTZ, J.H.; BRENNER, B.M. - Interleukin 1 induces prolonged L-arginine dependent cyclic guanosine monophosphate and nitric oxide production in rat vascular smooth muscle cells. **J. Clin. Invest.**, **87**:602-608, 1991.
- BONE, R.C. - Sepsis, the sepsis syndrome, multi-organs failure: a plea for comparable definitions. **Ann. Intern. Med.**, **114**:332-333, 1991.
- BORDEN, C.W. & HAL, W.H. - Fatal transfusion reactions from massive bacterial contamination of blood. **N. England J. Med.**, **245**:760-767, 1951.
- BOYLE, W.A.; PARVATHANENI, L.S.; SUTER, C.; LAUBACH, V.; COBB, JP. - iNOS gene expression modulates microvascular responsiveness in endotoxin-challenged mice. **Circ. Res.**, **87**: 1-7, 2000.
- BRADY A.J.; POOLE-WILSON, P.A.; HARDING, J.Z.; WARREN, J.B. - Nitric oxide production within cardiac myocytes reduces their contractility in endotoxemia. **Am.J. Physiol.**, **32**:H1963-H1966, 1992.
- BRANDTZAEG, P. - Significance and pathogenesis of septic shock. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, **216**:15-37, 1996.
- BRAUDE, A.E.; SIEMIENSKI, J.; WILLIAMS, D.; SANFORD, J.P. - Overwhelming bacteremic shock produced by gram-negative bacilli: A report of four cases with one recovery. **Univ. Mich. Med. Bull.**, **19**:23-29, 1953.

- BROD, J. & STERZEL, R.B. - Conventional methods for renal clearance measurement used in man. **Contrib. Nephrol.**, **11**:1-9, 1978.
- BROUCKAERT, P. & FIERS, W. - Tumor necrosis factor and the systemic inflammatory response syndrome. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, **216**:167-187, 1996.
- COHEN, J.J. - Relationship between energy requirements for Na⁺ reabsorption and the other renal functions. **Kidney Int.**, **29(1)**:32-40, 1986.
- DINARELO, C.A. - Cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, **216**:133-165, 1996.
- EKSTROM-JODAL, B; HAGGENDAL, E.; LARSSON, L.E. - Cerebral blood flow and oxygen uptake in endotoxic shock: An experimental study in dogs. **Acta Anaesthesiol. Scand.**, **26**:163-170, 1982.
- EVANS, T.J. & COHEN, J.J. - Mediators: nitric oxide and other toxic oxygen species. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, **216**:189-207, 1996.
- EVANS, T.J.; CARPENTER, A.; KINDERMAN, H.; COHEN, J. - Evidence the increased nitric oxide production in patients with the sepsis syndrome. **Circ. Shock.**, **41**:77-81, 1993.
- FERRARIO A.; FOGO, A.; TAKAHASHI, K.; BADR, K.F. - Microcirculatory response to inhibition of oxide nitric (NO) synthesis in normal kidneys and during acute glomerulonephritis in the rat. **J. Am. Soc. Nephrol.**, **2**:504, 1991 (Abstract).
- GANGULI, M.C.; SMITH, J.D.; HANSON, L.E. - Sodium metabolism and its requirement during reproduction in female rats. **J. Nutr.**, **99(2)**:225-34, 1969^A
- GANGULI, M.C.; SMITH, J.D.; HANSON, L.E. - Sodium metabolism and requirements in lactating rats. **J. Nutr.**, **99(4)**:395-400, 1969^B.

- GARCIA, W.E.; GONTIJO, J.A.; FIGUEIREDO, J.F. - *Clearance* de lítio como método de avaliação do manuseio tubular de sódio em ratos acordados, estudos em gaiolas metabólicas. **J. Bras. Nefrol.** **13(3)**: 89-94, 1991.
- GLAUSER, M.P.; ZANETTI, G.; BAUMGARTER, J-D.; COHEN, J. - Septic shock: pathogenesis. **Lancet**, **338**:732-736, 1991.
- GONTIJO, J.A.; GARCIA, W.E.; FIGUEIREDO, J.F.; SILVA-NETTO, C.R.; FURTADO, M.R. - Renal water handling evaluated by lithium clearance following adrenergic and cholinergic stimulation of the lateral hypothalamic area. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, **24(8)**:837-42, 1991.
- GRANGER, J.P. – Regulation of sodium secretion by renal interstitial hydrostatic pressure. **Federation Proceedings**, **45**:2892-2896, 1986.
- GRISHAM, M.B.; EVERSE, J.; JANSSEN, H.F - Endotoxemia and neutrophil activation in vivo. **Am. J. Physiol.**, **254**:2H1017-H1022, 1988.
- GROENEVELD, A.B; BROMSVELD,W.; THIJS, L.G - Hemodynamic determinants of mortality in human septic shock. **Surgery**, **99**:140-152, 1986.
- HEEMSKERK, A.E.J.; HUISMAN, E.; VAN LAMBALGEN, A.A.; VAN DEN BOS, G.C.; HENNEKES, M.; THIJS, L.G.; TANGELDER, G.J. - Influence of fluid resuscitation on renal function in bacteremic e endotoxemic rats. **J. Crit. Car.**, **3**; **12**:120-31, 1997^A.
- HEEMSKERK, A.E.J.; HUISMAN, E.; VAN LAMBALGEN, A.A.; VAN DEN BOS, G.C.; HENNEKES, M.; THIJS, L.G.; TANGELDER, G.J. - Renal function and oxygen consumption during bacteraemia and endotoxaemia in rats. **Nephrol. Dial. Transplant.**, **12**:1586-1594, 1997^B.
- HERMAN, T. & MAC DONALD, H.R. - T cell recognition of superantigens. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, **174**: 21-38, 1991.

- HIRCHBERG, R. & KOPPEL, J.D. – Evidence that insulin-like growth factor I increases renal plasma flow and glomerular filtration rate in fasted rats. **J. Clin. Invest.**, **83**:326-332, 1989.
- KILBOURN, R.G.; GROSS, S.S.; JUBRAN, A.; ADAMS, J.; GRIFFITH, O.W.; LEVI, L.; LODATO, R.F. - N^G-Methyl-L-arginine inhibits tumor necrosis factor-induced hypotension: Implication for the involvement of nitric oxide. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, **87**:3629-3632, 1990.
- KNOTEK, M.; ROGACHEV, B.; WANG, W.; ECDER, T.; MELNIKOV, V.; GEMGAR, P.E.; ESSION, M.; EDELSTEIN, C.L.; DINARELLO, C.A.; SCHIER, R.W. - Endotoxemic renal failure in mice. Role of tumor necrosis factor independent of inducible nitric oxide synthase. **Kidney Int.**, **59(6)**: 2243-2249, 2001.
- KREFT, B. & PAGEL, H. - Virulence factors of escherichia coli contribute to acute renal failure. **Exp. Nephrol.**, **8(4-5)**:244-51, 2000.
- KUHLMANN, M.K.; SHAHMIR, E.; MAASARANI, E.; AKHTAR, S.; THEVANAYAGAM, Y.; VADGAMA, J.V.; KOPPEL, J.D. - New experimental model of acute renal failure and sepsis in rats. **J. Par. Ent. Nut.**, **18(6)**: 477-485, 1994.
- LIN, M.T.; PAN, S.P.; LIN, J.H.; YANG, Y.L. - Central control of blood pressure by nitrenergic mechanisms in organum vasculosum laminae terminalis of rat brain. **Br. J. Pharmacol.**, **127(6)**:1511-7, 1999.
- LOVENBERG, W. - Techniques for the measurements of blood pressure. **Hypertension**, **9(suppl)**: 15-16, 1987.
- LUGON, J.R.; BOIM, M.A.; RAMOS, O.L. – Renal function and glomerular hemodynamics in male endotoxemic rats. **Kidney Int.**, **36**: 570-576, 1989.
- MACFATE, R.P. - Symposium on azotemia. **Am. J. Clin. Path.**, **24**:511-571, 1954.

- MANZO, C.B.; DICHERSON, R.N.; SETTLE G.; RALTER J-J. - Insulinlike growth factor 1 and endotoxin-mediated kidney dysfunction in critically ill, parenterally fed rats. **Nutrition**, **9(6)**:528-531, 1993.
- MARÉCAUX, G.; PINKY, M.R.; DUPONT, E.; KAHAN, R.J.; VINCENT, J.L. – Blood lactate levels are better prognostic indicators than TNF and IL-6 levels in patients with septic shock. **Intensive Care Med.**, **22(5)**:404-408, 1996.
- MARCHANT, A.; ALEGRE, M.L.; HAKIM, A.; PIÉRARD, G.; MARÉCAUX, G; FRIEDMAN, G.; DEGROOTE, D.; KAHAN, R.J.; VINCENT, J.L.; GOLDMAN, M. - Clinical and biological significance of interleukin-10 plasma levels in patients with septic shock. **J. Clin. Immunol.**, **15**: 266-273, 1995.
- MATTSON, D.L.; ROMAN R.J.; COWLEY, A.W. - Role of oxide nitric in renal papillary blood flow and sodium excretion. **Hypertension**, **19**:766-769, 1992.
- MENEGON, L.F.; FIGUEIREDO, J.F. GONTIJO, J.A.R. - Effect of metabolic acidosis on renal tubular sodium handling in rats as determined by lithium clearance. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, **31**:1269-1273, 1998.
- MERCIER, J.C.; BEAUFILS, F.; HARTAMANN, JF.; AZÉMA, D. - Hemodynamics patterns of meningococcal shock in children. **Critic. Care Med.**, **16**:27-33, 1988
- METRANGOLO, L.; FIORILLO, M.; FRIEDMAN, G.; SILANCE, PG.; KAHN, R.J.; NOVELLI, GP.; VINCENT, J.L. - The early hemodynamic course of septic shock. **Crit. Care Med.**, **23(12)**:1971-50, 1995.
- MILLER, C.F.; BRESLOW, M.J.; SHAPIRO, R.M. - Role of hypotension in decreasing cerebral blood flow in porcine endotoxemia. **Am. J. Physiol.**, **253**: H956-H964, 1987.
- NAVA, E.; PALMER, R.M.J.; MONCADA, S. - Inhibition of nitric oxide synthesis in septic shock: how much is beneficial? **Lancet**, **338**:1555-1557, 1991.

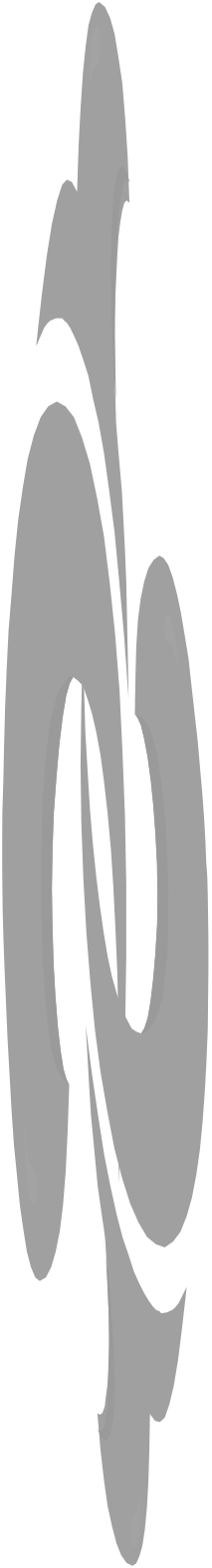
- NAVA, E.; PALMER, R.M.J.; MONCADA, S. - The role of nitric oxide in endotoxin shock: Effect of NG- monomethyl-L-arginine. **J. Cardiovasc. Pharmacol.** **20(s12):S132-S134**, 1992.
- NEVIERE, R.R.; PITT-HYDE, M.L.; PIPER, R.D.; SIBBALD, W.J.; POTTER, R.F. - Microvascular perfusion deficits are not a pre-requisite for mucosal injury in septic rats. **Am. J. Physiol. Gastroint. Liver. Physiol.**, **276(4):G933-G940**, 1999.
- PAJKRT, D. & VAN DEVENTER, S.J.H. - The cellular response in sepsis. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, **216:119-131**, 1996.
- PALSON, J.; RICKSTEN, S-E.; LUNDIN, S. – Changes in central hemodynamics during experimental septic shock in conscious rats. **Circ. Shock**, **22:65-72**, 1987.
- PALSON, J.; RICKSTEN, S-E.; DELLE, M.; LUNDIN, S. – Changes in renal sympathetic nerve activity during experimental septic and endotoxic shock in conscious rats. **Circ. Shock**, **24:133-141**, 1988.
- PALSON, J.; RICKSTEN,S-E.; HOULTZ, E.; LUNDIN, S. - Effects of dopamine, dopexamine and dobutamine on renal excretory functions during experimental sepsis in conscious rats. **Acta. Anaesthesiol. Scand.**, **4:392-398**. 1997.
- PARILLO, J.E. - Pathogenetic mechanisms of shock septic. **N. England J. Med.**, **328:1471-1477**, 1993.
- PARKER, J.L. & EMERSON, T.E. - Cerebral hemodynamics, vascular reactivity, and metabolism during canine endotoxic shock. **Circ. Shock**, **4: 41-53**, 1977.
- PARKER, M.M. & PARRILLO, J.E. - Septic shock: hemodynamics and pathogenesis. **JAMA**, **250: 2324-2327**, 1983.
- PARKER, M.M.; SHELHAMER J.H.; BACHARACH, S.L.; GREEN M.V.; DAMSKE B.A.; PARRILLO, J.E. - Profound but reversible myocardial depression in patients with septic shock.. **Cann. Intern. Med.**, **100: 483-490**, 1983.

- PEDERSEN, P.V.; WARNER, B.W.; BJORSON, H.S.; HIYMA, D.T.; LI, S.; RIGEL, D.F. - Hemodynamic and metabolic alterations during experimental sepsis in young and adult rats. **Surgery, Gynecology & Obstetrics**, **168**:148-56, 1989.
- PETROS, A.; BENNETT, D.; VALLANCE, P. - Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension patients with septic shock. **Lancet**, **338**:1557-1558, 1991.
- QUADROS, M.R.; GONTIJO, J.A.R.; FIGUEIREDO, J.F. - Renal tubular sodium handling determined by lithium clearance in partially hepatectomized rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, **29**:1077-1083, 1996.
- RADOMSKI, M.; PALMER, R.M.J.; MONCADA, S. - A comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide and prostacilin in platelets. **Br. J. Pharmacol.** **92**:181-197, 1987.
- RADOMSKI, M.; PALMER, R.M.J.; MONCADA, S. - The role of nitric oxide and cGMP in platelet adhesion to vascular endothelium. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, **148**:1482-1489, 1987.
- RAIJ, K.; PERHEENTUPA, J.; HARKONEM, M. - Urinary cyclic adenosine 3',5'-monophosphate excretion in children in short stature: effect of somatotropin. **Scand. J. Clin. Lab. Invest.**, **37(8)**:713-716, 1977.
- RIETSCHEL, E.T.; BRADE, H.; HOLST, O.; MÜLLER-LENNIES, S.; BRADE, L.; MAMAT, U.; ZÄHRINGER, U.; BECKMANN, F.; SEYDEL, U.; BRANDENBURG, K.; ULMER, A.J.; MATTERN, T.; HEINE, H.;
- SCHELETTER, J.; LOPPNOW, H.; SHOÖNBECK, U.; FLAD, H.D.; HAUSCHILDT, S.; SHADE, U.F.; DI PADOVA, F.; KUSUMOTO, S.; SCHUMANN, R.R. - Bacterial endotoxin: chemical constitution, biological recognition, host response, and immunological detoxification. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, **216**:40-81, 1996.
- RODRIGUEZ-PEREZ, J.C. & BRENNER, B.M. - Renal effects of an acute NaCl load in chronic oxide blockade-induced hypertensive rats. **J. Physiol. Biochem.**, **54(3)**:127-33, 1998.

- RUOKONEN, E.; TAKALA, J.; KARI, A.; ALHAVA, E. - Septic shock and multiple organ failure. **Crit. Care Med.**, **19**:1146-1151, 1991.
- SESSA, W.C. - The nitric oxide synthase family of protein. **J. Vasc. Res.**, **31**:131-143, 1994.
- SHEAR, M.J. & TURNER, F.C. - Chemical treatment of tumors. V. Isolation of the hemorrhage-producing fraction from *Serratia marcescens* (*Bacillus prodigiosus*) culture filtrates. **J. Natl. Cancer. Int.**, **4**:81-97. 1943.
- SCHILLING, J.; CAKMAKCI, M.; BÄTTIG, U.; GEROULANOS, S. - A new approach in the treatment of hypotension in human septic shock by N^G-monomethyl-L-arginine, a inhibitor of the nitric oxide synthetase. **Intensive Care Med.**, **19**:227-231, 1993.
- SHOEMAKER, W.C. - Cardiorespiratory patterns in complicated and uncomplicated septic shock: physiologic alterations and their therapeutic indications. **Ann. Surg.**, **174**:119-125, 1971.
- SHULTZ, P.J.; SCHORER, A.; RAIJ, L. - Effects of endothelium-derived relaxing factor and nitric oxide on rat mesangial cells. **Am. J. physiol.**, **258**: -F162-F167, 1990.
- SHULTZ, P.J.; TAYEH, M.A.; MARLETTA, M.A.; RAIJ, L. - Synthesis and action of nitric oxide in rat glomerular mesangial cells. **Am. J. physiol.**, **261**:F600-F606, 1991.
- SHULTZ, P.J. & RAIJ, L. - Endogenously synthesized nitric oxide prevents endotoxin-induced glomerular thrombosis. **J. Clin. Invest.**, **90**:1718-1725, 1992.
- SMITH, E.F.; SLIVJAK, M.J.; EGAN, J.W., GAGNON, R.; ARLETH, A.J.; ESSE, K.N. - Fluid resuscitation improves survival of endotoxemic or septicemic rats: possible contribution of tumor necrosis factor. **Pharmacology**, **46(5)**:254-267, 1993.
- STOOS, B.H.; CARRETERO A.O.; GRAVEY, J.L. - Endothelium derivated relaxing factor inhibits transport in cultured cortical collecting duct cells. **Hypertension**, **18**:390 1991 (abstract).

- STRUNK, V.; HAHNENKAMP, K.; SHNEUING, M.; FISHER, L.G.; RICH, G.F.- Selective iNOS inhibition prevents hypotension in septic rats while preserving endothelium-dependent vasodilation. **Anesth. Analg.**, **92**: 681-687, 2001.
- THIEMERMANN, C. & VANE, J. - Inhibition of nitric oxide synthesis reduces the hypotension induced by bacterial lipopolycarides in the rat in vivo. **Eur. J. Pharmacol.**, **182**:591-595, 1990.
- THIJS, L.G.; VAN LAMBALGEN, A.A.; GROENNEVELD, A.B.J. - Sepsis and acute renal failure. **Clin. Intensive Care**, **2**:276-281, 1991.
- THIJS, A. & THIJS, L.G. - Pathogenesis of renal failure in sepsis. **Kidney Int.**, **53(suppl 66)**:S34-S37, 1998.
- THOMSEN, K. & SHIRLEY, D.G. - The validity of lithium clearance as an index of sodium and water delivery from the proximal tubules. **Nephron**, **77**:125-138, 1997.
- TOLINS, J.P.; PALMER, R.M.; MONCADA, S.; RAIJ, L. - Role of endothelium-derived relaxing factor in regulation of renal hemodynamic responses. **Am. J. Physiol.**, **258(3 Pt 2)**:H655-662, 1990.
- VAN LAMBALGEN, A.A.; VAN KRAATS, A.A.; VAN DEN BOS, G.C.; TEERLINK, T.; STEL, H.V.; DONKER, A.J.; THIJS, L.G. - Development of renal failure in endotoxemic rats: can it be explained by early changes in renal energy metabolism? **Nephron**, **65(1)**:88-94, 1993.
- VARY, T.C.; SIEGEL, J.H.; NAKATANI, T.; SATO, T.; AOYAMA, H. - Effect of sepsis on activity of pyruvate dehydrogenase complex in skeletal muscle and liver. **Am. J. Physiol.**, **250**:E634-E640, 1986.
- VINCENT, J.L.; ROMAN, A.; KAHAN, R.J. - Dobutamine administration in septic shock: Addition to a standard protocol. **Crit. Care Med.**, **18**:689-693, 1990.

- VINCENT, J.L.; GRIS, P.; COFFERNILS, M.; LEON, M.; PINSKY, MR, REUSE, C.; KAHAN, R.J. - Myocardial depression characterizes the fatal course of septic shock. **Surgery**, **111**:660-667, 1992.
- VINCENT, J.L. - Definition and pathogenesis of shock septic. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, **216**:01-14, 1996.
- WEBER, A.; SCHWIEGER, I.M.; POINSOT, O.; KLOHN, M.; GAUMANN, D.M.; MOREL, D.R. - Sequential changes in renal oxygen consumption and sodium transport during hyperdynamic sepsis in sheep. **Am. J. Physiol.**, **262(6Pt2)**:F965-971, 1992.
- WICHTERMAN, K.E.; BAUE, A.E.; CHAUDRY, I.H. - Sepsis and septic shock-a review of laboratory models and proposal. **J. Surg. Res.**, **229**:189-201, 1980.
- WRIGHT, C.E.; REES, D.D.; MONCADA, S.; Protective and pathological roles of nitric oxide in endotoxin shock. **Cardiovasc. Res.**, **26**: 48-57, 1992.
- WOLFF M. - Beiträge zur immuntätslehre (contributions to the teaching of immunity). **Zentral Bakteriell. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. I. Org.**, **37**: 392-397, 1904.
- WU, Z.L. & GE, Y.Q. - An animal model of septicemia-induced hypercatabolic acute renal failure. **Ren. Fail.**, **21(5)**:477-82, 1999.
- XAVIER, F.; MAGALHÃES, A.M.F.; GONTIJO, J.A.R. - Effect of inhibition of nitric oxide synthase on blood pressure and renal sodium handling in renal denervated rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, **33**:347-354, 2000.



9. ANEXOS

Tabela 2: Alterações temporais da massa corporal, da pressão arterial caudal, do fluxo urinário minuto e do *clearance* de creatinina em ratos sépticos após ligadura e punção cecal (CLP) comparados aos animais controles.

Pressão arterial caudal (PAC) mmHg				
Horas	C	Epm	S	Epm
Controle	126,0	3,2	126,0	3,2
3	115,0	11,0	121,0	11,0
6	122,0	10,0	119,0	8,0
12	116,0	9,0	84,0	8,9*;<#
18	121,0	9,6	61,0	9,0*;<#

Peso corporal (p.c.) g				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	253,0	5,8	249,0	5,3
6	263,0	10,0	274,0	9,0
12	246,0	9,0	260,0	9,6
18	268,0	3,4	278,0	4,8

Volume urinário minuto (V') µl/min/100g p.c.				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	46,0	3,8	38,0	4,5
6	37,9	2,1	28,5	4,5
12	48,9	2,3	16,3	3,5*;<#
18	43,0	2,4	11,5	1,9*;<#

Clearance de creatinina (C_{Cr}) µl/min/100g p.c.				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	303,0	32,1	312,0	38,0
6	257,7	17,4	217,0	20,0
12	303,0	22,3	186,0	28,0
18	281,0	25,5	174,0	19,0*

C = Controle S = Septicemia *p<0,05 vs 3h #p<0,05 Controle vs Experimental

Tabela 3: Alterações temporais do clearance de lítio e fração de excreção tubular renal de sódio, da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após CLP comparados aos animais controles.

Fração de Excreção Tubular de Sódio (FE_{Na}) %				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	0,30	0,046	0,26	0,03
6	0,31	0,05	0,29	0,05
12	0,27	0,03	0,37	0,04#
18	0,24	0,034	0,42	0,026*#;
Fração de excreção tubular de potássio (FE_K) %				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	0,15	0,02	0,17	0,02
6	0,11	0,05	0,15	0,03
12	0,10	0,03	0,26	0,04*#;
18	0,12	0,05	0,24	0,02*#;
Clearance de lítio (C_{Li}) µl/min/100g p.c.				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	87,0	9,3	68,0	6,4
6	85,8	6,6	65,0	6,0
12	93,5	6,7	95,4	7,8
18	81,0	7,9	121,3	9,1*#;
Fração de excreção tubular proximal de sódio (FEP_{Na}) %				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	38,0	4,5	27,0	4,4
6	32,2	2,2	23,2	2,02
12	40,6	3,6	42,8	3,4*
18	37,5	4,1	56,0	4,3*#;
Fração de excreção tubular pós-próximo de sódio (FEPP_{Na}) %				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	0,70	0,07	0,51	0,08
6	0,81	0,09	0,60	0,09
12	0,68	0,08	0,28	0,08*#;
18	0,56	0,10	0,37	0,07

C = Controle S = Septicemia *p<0,05 vs 3h #p<0,05 Controle vs Experimental

Tabela 4: Alterações temporais da massa corporal, da pressão arterial caudal, do fluxo urinário minuto e do *clearance* de creatinina em ratos sépticos após CLP comparados a um grupo de animais controle, após administração oral de N^ω-Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME).

Pressão arterial caudal (PAC) mmHg				
Horas	C	Epm	S	Epm
Controle	146,8	10,1	150,0	11,8
3	148,0	11,0	152,0	12,8
6	152,0	10,0	148,0	14,0
12	143,0	11,0	136,0	10,5
18	149,0	13,0	96,0	8,0*:#

Peso corporal (p.c.) g				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	303,0	33,0	312,0	36,0
6	289,0	19,0	287,0	25,0
12	300,0	25,0	265,0	24,0
18	297,0	24,0	254,0	19,0

Fluxo urinário minuto (V') µl/min/100g p.c.				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	46,0	3,8	38,0	4,5
6	37,9	2,1	28,5	4,5
12	48,9	2,3	16,3	3,5*:#
18	43,0	2,4	11,5	1,9*:#

Clearance de creatinina (C_{Cr}) µl/min/100g p.c.				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	310,0	32,0	294,0	25,0
6	305,0	25,0	287,0	22,0
12	298,0	22,0	267,0	28,0
18	305,0	23,0	185,0	16,0*:#

C = Controle S = Septicemia *p<0,05 vs 3h #p<0,05 Controle vs Experimental

Tabela 5: Alterações temporais do *clearance* de lítio e fração de excreção tubular renal de sódio, da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após CLP comparados a um grupo de animais controle, após administração oral de L-NAME.

Fração de Excreção Tubular de Sódio (FE_{Na}) %				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	0,48	0,05	0,34	0,02
6	0,5	0,03	0,43	0,03
12	0,46	0,025	0,45	0,04
18	0,45	0,042	0,539	0,02*
Fração de excreção tubular de potássio (FE_K) %				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	0,19	0,03	0,23	0,04
6	0,17	0,03	0,22	0,03
12	0,16	0,03	0,30	0,03*,#
18	0,15	0,04	0,31	0,03*,#
Clearance de lítio (C_{Li}) µl/min/100g p.c.				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	101,0	9,3	87,0	10,0
6	108,0	6,6	96,0	8,0
12	111,0	6,7	115,0	10,2
18	102,0	7,9	132,0	6,4*
Fração de excreção tubular proximal de sódio (FEP_{Na}) %				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	42,0	4,5	43,7	4,4
6	38,0	2,2	36,4	2,02
12	46,0	3,6	41,8	3,4
18	41,0	4,1	53,0	3,3
Fração de excreção tubular pós-próximal de sódio (FEPP_{Na}) %				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	0,75	0,09	0,71	0,10
6	0,80	0,11	0,54	0,10
12	0,82	0,13	0,49	0,09
18	0,79	0,15	0,33	0,08#

C = Controle S = Septicemia *p<0,05 vs 3h #p<0,05 Controle vs Experimental

Tabela 6: Alterações temporais da massa corporal, da pressão arterial caudal, do fluxo urinário minuto e do *clearance* de creatinina em ratos sépticos após CLP tratados com salina isotônica subcutâneo, comparados a um grupo controle de animais com septicemia sem tratamento.

Pressão arterial caudal (PAC) mmHg				
Horas	C	Epm	S	Epm
Controle	113,0	2,8	112,0	3,8
3	121,0	11,0	132,0	8,9
6	119,0	8,0	126,0	9,0
12	84,0	8,9*	102,0	9,2#
18	61,0	9,0*	84,0	8,0*:#

Peso corporal (p.c.) g				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	251,0	9,0	265,0	7,0
6	281,0	5,6	273,0	13,0
12	274,0	10,9	254,0	12,0
18	268,0	11,0	259,0	11,5

Fluxo urinário minuto (V') µl/min/100g p.c.				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	44,0	6,2	43,6	4,0
6	32,1	4,3	45,1	3,2
12	20,0	4,6	36,8	3,4
18	13,6	3,7*	32,7	3,3#

Clearance de creatinina (C_{Cr}) µl/min/100g p.c.				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	312,0	23,0	312,0	31,0#
6	211,0	22,0	296,0	16,7#
12	172,0	19,0	292,0	21,3#
18	163,0	15,0*	216,0	22,0*:#

C = Sepse S = Septicemia+NaCl 0,15m *p<0,05 vs 3h #p<0,05 Controle vs Experimental

Tabela 7: Alterações temporais do clearance de lítio e fração de excreção tubular renal de sódio, da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após CLP tratados com salina isotônica subcutâneo, comparados a um grupo controle de animais com septicemia sem tratamento.

Fração de Excreção Tubular de Sódio (FE_{Na}) %				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	0,24	0,04	0,38	0,03
6	0,26	0,06	0,35	0,042
12	0,37	0,05	0,48	0,037*
18	0,45*	0,05	0,53	0,048*#;
Fração de excreção tubular de potássio (FE_K) %				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	0,19	0,03	0,26	0,03
6	0,16	0,036	0,24	0,035
12	0,32	0,037*	0,31	0,04#
18	0,31	0,03*	0,33	0,031#
Clearance de lítio (C_{Li}) µl/min/100g p.c.				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	65,4	8,7	95,8	8,6
6	63,7	10,9	102,0	9,2
12	105,9	15,2	106,7	11,5
18	119,3	12,3*	117,8	12,4#
Fração de excreção tubular proximal de sódio (FEP_{Na}) %				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	21,0	5,4	42,0	5,0#
6	24,6	3,9	44,2	4,0#
12	38,9	4,1	58,0	6,0#
18	48,7	4,8*	61,3	3,0*#;
Fração de excreção tubular pós-próximal de Sódio (FEPP_{Na}) %				
Horas	C	Epm	S	Epm
3	0,49	0,06	0,78	0,065#
6	0,56	0,075	0,82	0,056#
12	0,24	0,066*	0,66	0,085#
18	0,28	0,08	0,52	0,073*#;

C = Sepse S = Septicemia+NaCl 0,15M *p<0,05 vs 3h #p<0,05 Controle vs Experimental

Tabela 8: Dosagens gasométricas realizados às 3 horas em um grupo definido de animais utilizados durante a padronização do modelo experimental.

Horas	pH	PaCO ₂ mmHg	PaO ₂ mmHg	HCO ₃ ⁻ mEq/l	Lactemia mg/dl
Controle	7,36	42	92	20	2
Septicemia	7,01	24	96	7	9

Tabela 9: Dosagens gasométricas realizados em um grupo controle de animais utilizados durante a padronização do modelo experimental.

pH venoso

Horas	Média	Epm
3	7,3	0,2
6	7,1	0,6
12	7,1	0,2
18	6,9	0,4

HCO₃⁻ venoso mEq/l

Horas	Média	Epm
3	11,46	4,05
6	10,40	2,05
12	9,33	3,00
18	9,37	2,06

Lactato mg/dl

Horas	Média	Epm
3	4,9	0,9
6	6,8	0,5
12	5,7	0,7
18	8,4	3,9

PaCO₂ venoso mmHg

Horas	Média	Epm
3	36,0	4,9
6	32,0	1,2
12	31,0	2,4
18	35,0	3,7

PaO₂ venoso mmHg

Horas	Média	Epm
3	90,0	5,0
6	85,0	7,1
12	84,4	8,1
18	74,3	6,2

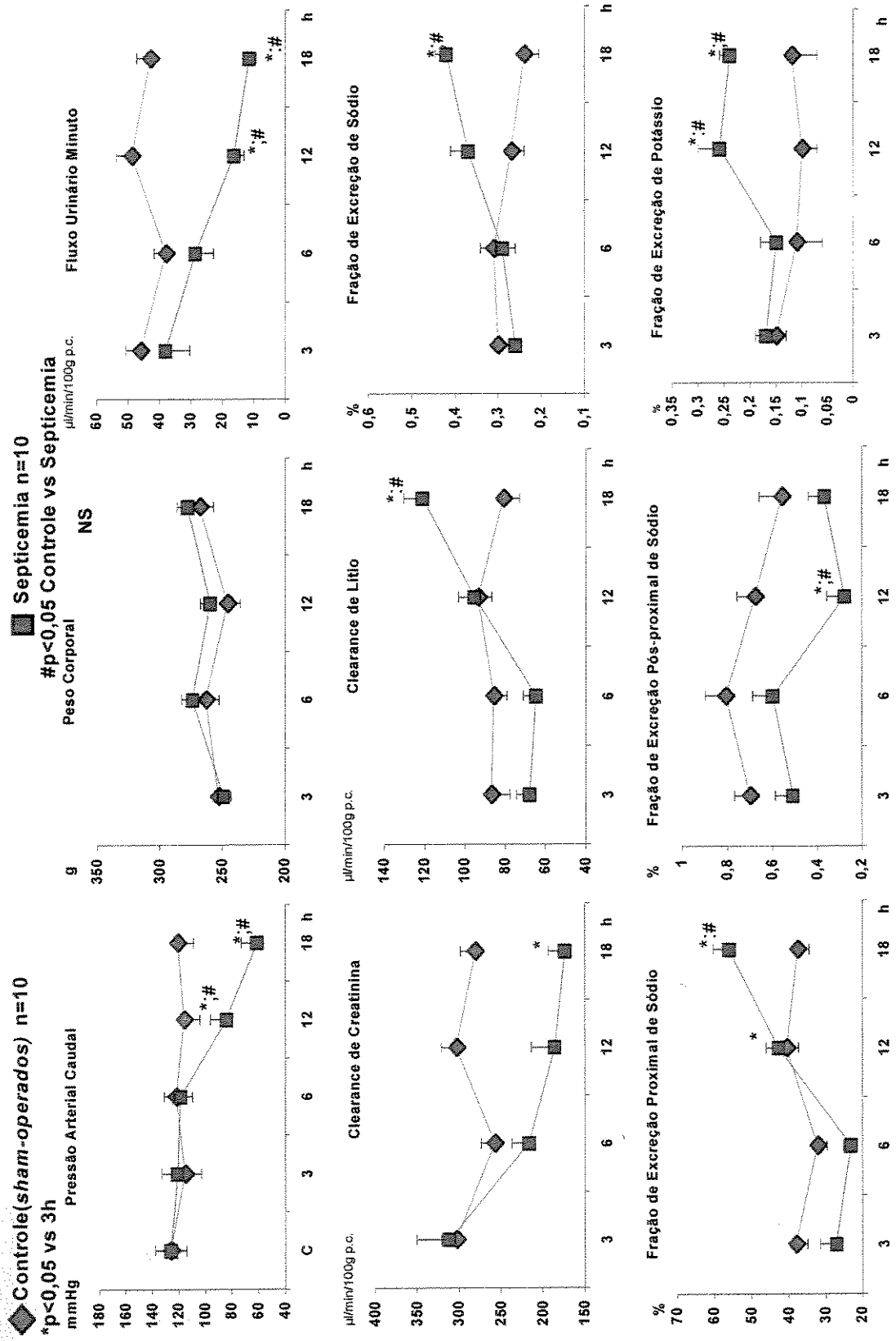


Figura 13 - Alterações temporais da massa corporal, da pressão arterial caudal, do fluxo urinário minuto, do clearance de creatinina, do clearance de lítio, da fração de excreção tubular renal de sódio, da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após ligadura e punção cecal comparados aos animais controles.

◆ Controle(sham-operados) n=10
*p<0,05 vs 3h

■ Septicemia n=10
#p<0,05 Controle vs Septicemia

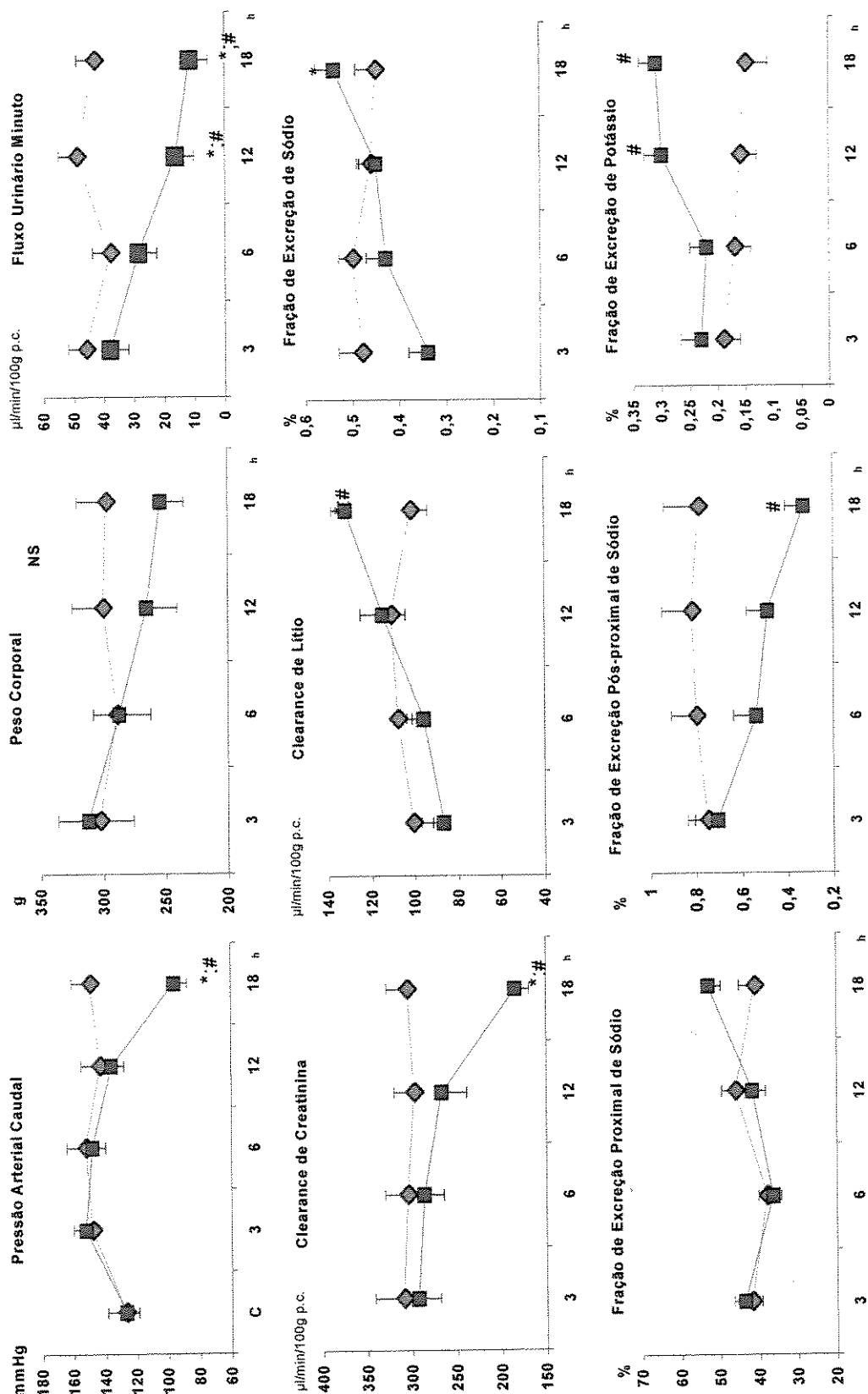


Figura 14 - Alterações temporais da massa corporal, da pressão arterial caudal, do fluxo urinário minuto, do clearance de creatinina, do clearance de lítio, da fração de excreção tubular renal de sódio da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após ligadura e punção cecal comparados aos animais controles, tratados com N^o-Nitro-L-Arginine Methyl Ester.

◆ Controle com septicemia n=10
*p<0,05 vs 3 hs

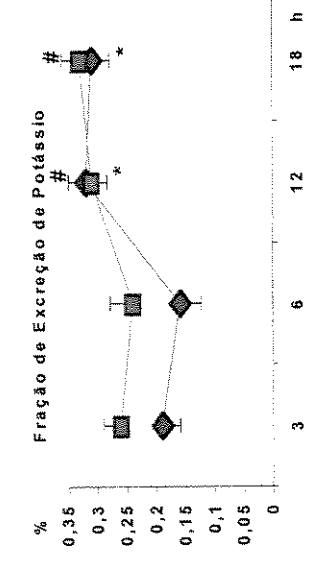
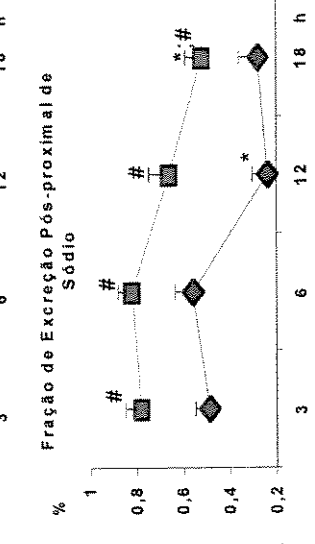
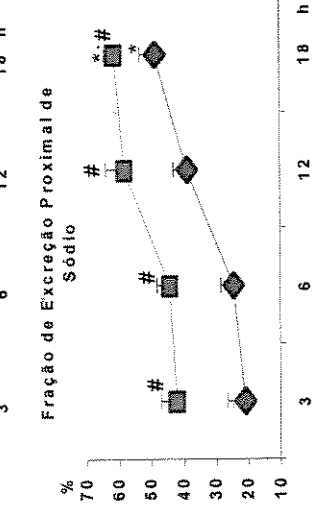
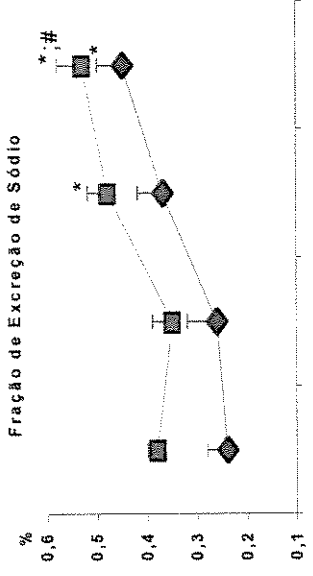
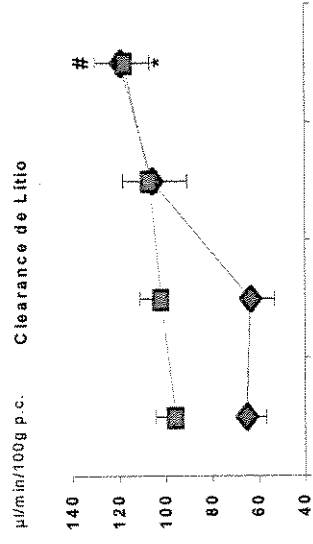
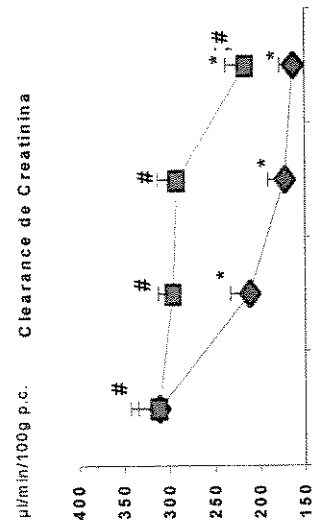
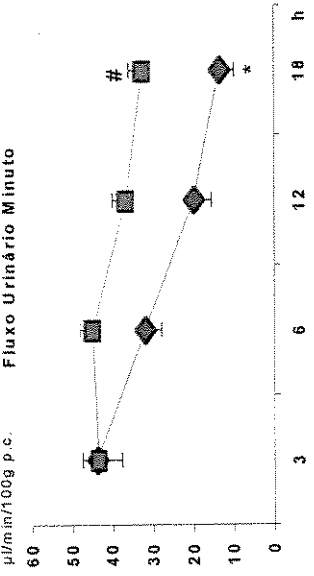
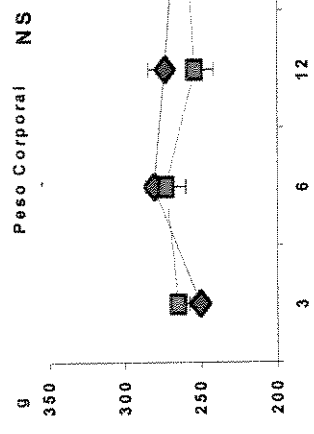
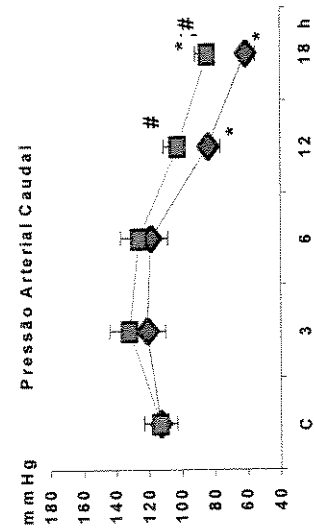


Figura 15 - Alterações temporais da massa corporal, da pressão arterial caudal, do fluxo urinário minuto, do clearance de creatinina, do clearance de lítio, da fração de excreção tubular renal de sódio, da fração de excreção tubular renal proximal e pós-proximal de sódio e da fração de excreção tubular renal de potássio em ratos sépticos após ligadura e punção cecal tratados com salina subcutânea comparados a um grupo controle de animais com septicemia sem tratamento.