

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**

**GUILHERME ALEXANDRE SOARES MONTEIRO**

**ANÁLISE FUNCIONAL DE FÁRMACOS DE CONTROLE DA SEPSE – MODELO  
EXPERIMENTAL POR LIGADURA E PUNÇÃO CECAL (CLP) EM RATOS WISTAR**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES**

**AGOSTO, 2019**

**GUILHERME ALEXANDRE SOARES MONTEIRO**

**ANÁLISE FUNCIONAL DE FÁRMACOS DE CONTROLE DA SEPSE – MODELO  
EXPERIMENTAL POR LIGADURA E PUNÇÃO CECAL (CLP) EM RATOS WISTAR**

**Tese de doutorado apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologia Agropecuária da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, na área de concentração de Sanidade Animal.**

**ORIENTADOR: ANDRÉ LACERDA DE ABREU OLIVEIRA**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES**

**2019**

**GUILHERME ALEXANDRE SOARES MONTEIRO**

**ANÁLISE FUNCIONAL DE FÁRMACOS DE CONTROLE DA SEPSE – MODELO  
EXPERIMENTAL POR LIGADURA E PUNÇÃO CECAL (CLP) EM RATOS WISTAR**

**Tese de doutorado apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologia Agropecuária da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, na área de concentração de Sanidade Animal.**

---

Dra. Fernanda Antunes (Doutora, Cirurgia Geral - Professora Associada UENF)

---

Dra. Jussara Peters Scheffer (Doutora, Ciência Animal, UENF – Diplomada Cirurgia CBCAV)

---

Dr. Arnaldo Rocha Façanha (Doutor, Química Biológica, UFRJ – Professor Associado UENF)

---

André Lacerda de Abreu Oliveira (Doutor, Cirurgia Geral, UFRJ – Professor Associado UENF)

## DEDICATÓRIA

### **No meio do caminho – Carlos Drummond de Andrade (1902 - 1987)**

No meio do caminho tinha uma pedra  
tinha uma pedra no meio do caminho  
tinha uma pedra  
no meio do caminho tinha uma pedra.  
Nunca me esquecerei desse acontecimento  
na vida de minhas retinas tão fatigadas.  
Nunca me esquecerei que no meio do caminho  
tinha uma pedra  
tinha uma pedra no meio do caminho  
no meio do caminho tinha uma pedra.

Dedico este trabalho aos meus amigos e à minha família, especialmente ao meu saudoso pai Elmo, que tornaram possível apreciar a estrada, mesmo com as pedras que encontramos pelo caminho.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente, por me permitir concluir esta jornada com saúde, paz e perseverança.

Agradeço à minha amiga, professora, orientadora de mestrado e *roommate* **Fernanda Antunes**, por me aturar por mais de 10 anos, nem sempre com o mesmo bom humor que ela, mas sempre com muito respeito e colaboração, além da felicidade de acompanhar o crescimento da Tainah. Amizade e irmandade que levarei para a vida toda, com certeza.

Agradeço ao meu orientador **André Lacerda de Abreu Oliveira** que, mesmo sendo torcedor do Fluminense, mantém-se otimista mesmo quando tudo parece que vai dar errado. E, no final, sempre dá certo. Orientar não é levar o aluno pela mão. Orientar é mostrar as ferramentas e incentivar a solução dos problemas, quando aparecem. E isso ele faz com maestria.

Agradeço à minha amiga de longa data, **Jussara Peters Scheffer**, que iniciou comigo a pós-graduação na UENF e, devido à minha pausa necessária, se adiantou e seguiu brilhantemente sua jornada, se tornando hoje uma das professoras e profissionais mais respeitadas na medicina veterinária do Brasil e, mais recentemente, também do exterior.

Agradeço aos grandes amigos que fiz no decorrer destes quatro anos e meio (na verdade, já são quase 10 anos de UENF) de doutorado, pela amizade, parceria, confabulação e pelas grandes viagens que fizemos juntos. Amigos como **Marcelo Borges**, que participou diretamente deste estudo, bem como **Tainara Micaele**, **Lívia Amaral** e **Josias Machado**, sempre dispostos a ajudar tanto na rotina de experimentos, como nos desafios diários que a instituição nos apresenta. Estaremos sempre um olhando pelo outro.

Agradecimento a parte para meu grande amigo e xará, **Guilherme Vieira**, sempre bem humorado e bem disposto em ajudar a todos que necessitem. Seu suporte técnico e moral foi fundamental à realização deste experimento, mas, muito mais do que isso, sua colaboração facilitou imensamente a rotina semanal em Campos, especialmente para quem, como eu, não tinha residência fixa na cidade.

Agradeço na mesma medida aos amigos **Hércules Gomes, Thiago Henrique, Rodney Denevitz, Isabella Morales, Ivaney Azevedo** e muitos outros que não daria tempo de listar nestas breves palavras.

Agradeço, com alegria, aos queridos companheiros de estimação, que sempre nos enchem de carinho (mesmo que por suborno alimentar) e felicidade no dia-a-dia dos corredores da UEA. **Felícia (Fefê)** e **Luke** (*in memoriam*) e, em casa à querida **Nathália**.

Agradeço também aos colegas da **Veterinária Canne & Gatto**, que sempre me deram apoio logístico e motivacional para o cumprimento desta difícil jornada.

Agradeço aos amigos, professores e funcionários que, durante todos estes anos, contribuíram para meu crescimento profissional e me permitiram alcançar o objetivo maior.

E, finalmente, o agradecimento final à minha querida família, especialmente ao meu saudoso pai **Elmo Monteiro**, que nos deixou há pouco mais de um ano, mas sempre foi um grande incentivador dos meus estudos, assim como minha mãe **Eneida Soares Monteiro** e meus irmãos, **Gustavo Monteiro, Ana Lurdes Monteiro** e **Ana Beatriz Monteiro**, esta última também com fundamental participação na elaboração estatística deste projeto.

A **TODOS** vocês, o meu **MUITO OBRIGADO!!!**

## RESUMO

A maior causa de mortalidade conhecida no mundo, até os dias de hoje, é a Síndrome Sepsé. O conhecimento do envolvimento dos mediadores inflamatórios liberados na resposta do hospedeiro ao agente infeccioso, justifica a importância sobre o assunto, especialmente envolvendo as disfunções orgânicas associadas à sepsé. Este estudo faz uma análise comparativa entre a vitamina C, a dexmedetomidina e a eritropoetina, em ratos submetidos ao modelo experimental de sepsé induzida por ligadura e punção cecal (CLP), verificando suas ações sobre a disfunção miocárdica, a infiltração pulmonar e a mediação inflamatória dos animais testados. Foram utilizados 36 ratos wistar (*Rattus norvegicus*), machos, pesando entre 300 e 350 gramas, divididos em 6 grupos (Controle, Sham, Sepsé, Vitamina C, Dexmedetomidina e Eritropoetina) com 6 ratos cada um. Os animais foram anestesiados com cetamina (100 mg. Kg<sup>-1</sup>) associada ao midazolam (0,5 mg.kg<sup>-1</sup>), aplicados na mesma seringa, por via intraperitoneal. Os animais eram preparados para o posterior procedimento cirúrgico de CLP (nos grupos pertinentes), realização dos ecocardiogramas, monitoração de pressão invasiva, realização de tomografia computadorizada e coleta de sangue para análise hematológica e bioquímica, definido o momento de 24 horas após a indução da sepsé, do *sham* ou da anestesia inicial. A sepsé foi induzida nos grupos pertinentes através de ligadura e punção cecal, conforme protocolo previamente determinado. Nossos resultados demonstraram que houve significância estatística entre os grupos de controle e os grupos aonde a sepsé foi induzida por CLP, sendo que todos os tratamentos (vitamina C, dexmedetomidina e eritropoetina) foram eficientes em reduzir a inflamação pulmonar, a disfunção miocárdica, a pressão arterial e a mediação inflamatória causada pela sepsé. Porém a vitamina C obteve um desempenho melhor na mediação inflamatória, bem como na ação sobre a hemodinâmica e na infiltração pulmonar, quando comparada à dexmedetomidina e à eritropoetina agindo também como moduladores inflamatórios. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Palavras-chave: Sepsé, Vitamina C, Dexmedetomidina, Eritropoetina, Tomografia, TNF-alfa.

## ABSTRACT

The largest cause of mortality in the world to date is sepsis. The knowledge of the involvement of the released inflammatory mediators in the host response to the infectious agent justifies the importance of the subject, especially involving the organ dysfunction associated with sepsis. This study makes a comparative analysis between vitamin C, dexmedetomidine and erythropoietin, in rats submitted to the experimental model of cecal ligation and puncture-induced sepsis (CLP), verifying their actions on myocardial dysfunction, pulmonary infiltration and inflammatory mediation. of the animals tested. Thirty-six wistar rats (*Rattus norvegicus*), males, weighing between 300 and 350 g, divided into 6 groups (Control, Sham, Sepsis, Vitamin C, Dexmedetomidine and Erythropoietin) with 6 rats each. The animals were anesthetized with ketamine (100 mg. Kg<sup>-1</sup>) associated with midazolam (0.5 mg.kg<sup>-1</sup>), applied to the same syringe, intraperitoneally. The animals were prepared for the subsequent CLP surgical procedure (in the relevant groups), echocardiograms, invasive pressure monitoring, computed tomography and blood collection for hematological and biochemical analysis, defined the time of 24 hours after induction. sepsis, sham or initial anesthesia. Sepsis was induced in the relevant groups by ligature and cecal puncture according to previously determined protocol. Our results demonstrated that there was statistical significance between the control groups and the groups where sepsis was induced by PLC, and all treatments (vitamin C, dexmedetomidine and erythropoietin) were effective in reducing pulmonary inflammation, myocardial dysfunction, blood pressure. arterial pressure and inflammatory mediation caused by sepsis. However, vitamin C performed better on inflammatory mediation as well as on hemodynamic action and pulmonary infiltration when compared to dexmedetomidine and erythropoietin acting also as inflammatory modulators. This study is financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance code 001.

Keywords: Sepsis, Vitamin C, Dexmedetomidine, Erythropoietin, Tomography, TNF-alpha.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Modulação de monócitos e macrófagos na resposta durante a sepse. Microorganismos são reconhecidos por macrófagos através de receptores de reconhecimento de padrões, desencadeando vias de resposta inflamatória intracelular. Amplificação da resposta inflamatória e imunológica ocorre através da síntese de mediadores inflamatórios e do contato célula a célula.....	20
<b>Figura 2:</b> Esquema representativo de disfunção endotelial induzida por isquemia/reperfusão e induzida por sepse, levando ao aumento da concentração de espécies reativas de oxigênio.....	23
<b>Figura 3:</b> Posicionamento utilizado durante o procedimento no animal ( <i>Rattus norvegicus</i> ), colocado sobre calha cirúrgica adaptada.....	37
<b>Figura 4:</b> Exposição do ceco dos ratos para dissecação mesentérica nos grupos pertinentes.....	38
<b>Figura 5:</b> Fechamento da cavidade abdominal após exposição do ceco e dissecação mesentérica nos grupos pertinentes.....	39
<b>Figura 6:</b> Deslocamento do conteúdo fecal, nos grupos pertinentes, para ligadura na porção proximal da válvula ileocecal.....	40
<b>Figura 7:</b> Dissecação para ligadura próxima à válvula ileocecal, com o cuidado necessário para evitar o ramo cecal da artéria ileocecal.....	40
<b>Figura 8:</b> Passagem do fio pelo mesentério, evitando a artéria ileocecal (ramo cecal) .....	41
<b>Figura 9:</b> Ligadura realizada no terço proximal do ceco, nos grupos pertinentes, próximo à válvula ileocecal.....	42
<b>Figura 10:</b> Transposição de agulha 18G sobre a porção proximal do ceco, na direção da borda antimesentérica.....	42
<b>Figura 11:</b> Exteriorização de conteúdo fecal com manipulação suave do ceco....	43
<b>Figura 12:</b> Exteriorização contralateral do conteúdo cecal.....	43
<b>Figura 13:</b> Manifestação clínica de pelos arrepiados 24 horas após ao procedimento de CLP nos grupos pertinentes.....	45
<b>Figura 14:</b> Representação gráfica por boxplot dos valores de leucometria global entre os grupos testados.....	51
<b>Figura 15:</b> Representação gráfica por boxplot dos valores de teor de hemoglobina entre os grupos testados.....	52

<b>Figura 16:</b> Representação gráfica por boxplot dos valores de contagem de plaquetas entre os grupos testados.....	52
<b>Figura 17:</b> Representação gráfica por boxplot dos valores de PAS entre os grupos testados.....	54
<b>Figura 18:</b> Representação gráfica por boxplot dos valores de PAD entre os grupos testados.....	54
<b>Figura 19:</b> Representação gráfica por boxplot dos valores de PAM entre os grupos testados.....	55
<b>Figura 20:</b> Representação gráfica por boxplot dos valores de PP entre os grupos testados.....	55
<b>Figura 21:</b> Representação gráfica por boxplot dos valores de fração de ejeção por Simpson entre os grupos testados.....	57
<b>Figura 22:</b> Representação gráfica por boxplot dos valores de fração de ejeção por Teicholz entre os grupos testados.....	57
<b>Figura 23:</b> Representação gráfica por boxplot dos valores de fração de encurtamento por Simpson entre os grupos testados.....	58
<b>Figura 24:</b> Representação gráfica por boxplot dos valores de mensuração da câmara ventricular esquerda em diástole entre os grupos testados.....	58
<b>Figura 25:</b> Representação gráfica por boxplot dos valores de mensuração da câmara ventricular esquerda em sístole entre os grupos testados.....	59
<b>Figura 26:</b> Representação gráfica por boxplot dos valores de tempo de relaxamento isovolumétrico entre os grupos testados.....	59
<b>Figura 27:</b> Descrição das alterações no parênquima pulmonar entre os grupos testados.....	60
<b>Figura 28:</b> Corte axial reconstituído do animal 2 do grupo 1 pelo programa InVesalius. Ausência de infiltrado pulmonar.....	61
<b>Figura 29:</b> Corte axial reconstituído do animal 3 do grupo 2 pelo programa InVesalius. Infiltrado pulmonar leve.....	61
<b>Figura 30:</b> Corte axial reconstituído do animal 2 do grupo 5 pelo programa InVesalius. Infiltrado pulmonar moderado.....	62
<b>Figura 31:</b> Corte axial reconstituído do animal 6 do grupo 3 pelo programa InVesalius. Infiltrado pulmonar grave.....	62
<b>Figura 32:</b> Representação gráfica por boxplot dos valores de TNF-alfa entre os grupos testados.....	63

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Distribuição dos animais nos grupos de controle e tratamento.....	50
<b>Tabela 2:</b> Médias com desvio padrão dos valores de leucometria global (absoluto), hemoglobina (g/dl) e contagem de plaquetas ( $\times 10^3$ ) .....	51
<b>Tabela 3:</b> Médias com desvio padrão dos valores de pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e pressão de pulso (PP).....	53
<b>Tabela 4:</b> Médias com desvio padrão dos valores de fração de ejeção Simpson (Fes%), fração de ejeção Teicholz (Fet%), fração de encurtamento (FS%), câmara ventricular esquerda em sístole (CVEs), câmara ventricular esquerda em diástole (CVEd) e tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV).....	56
<b>Tabela 5:</b> Médias com desvio padrão dos valores de picogramas por ml de TNF alfa.....	63

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 OBJETIVOS GERAIS.....	16
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
1.3 HIPÓTESE.....	16
2. EMBASAMENTO TEÓRICO.....	17
2.1 CONCEITO E FISIOPATOLOGIA DA SEPSE.....	17
2.2 VITAMINA C.....	21
2.3 DEXMEDETOMIDINA.....	24
2.4 ERITROPOETINA.....	28
2.5 SÍNDROME DO DESCONFORTO RESPIRATÓRIO NA SEPSE ....	30
2.6 DISFUNÇÃO CARDÍACA NA SEPSE.....	32
3. MATERIAIS E MÉTODO.....	36
3.1 DIVISÃO DOS GRUPOS.....	36
3.2 AVALIAÇÃO INICIAL.....	44
3.3 COLETA DE DADOS HEMODINÂMICOS E EXAMES DE IMAGEM...45	
3.4 COLETA DE AMOSTRAS DE SANGUE.....	47
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	49
4. RESULTADOS.....	50
4.1 HEMOGRAMAS.....	50
4.2 PRESSÃO ARTERIAL.....	53
4.3 ECOCARDIOGRAMAS.....	56
4.4 TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA.....	60
4.5 TNF-ALFA.....	62
5. DISCUSSÃO.....	64
6. CONCLUSÃO.....	77
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78



## 1. INTRODUÇÃO

2

3 A maior causa de mortalidade conhecida no mundo, até os dias de hoje, é a  
4 Síndrome Sepsé. Essa síndrome causa anormalidades fisiológicas, patológicas e  
5 bioquímicas, podendo ser causadas por uma infecção ou outro tipo de injúria severa,  
6 como o trauma, por exemplo. Somente no ano de 2011, a sepsé causou um prejuízo  
7 de mais de 20 bilhões de dólares em custos hospitalares. E esses são apenas os  
8 dados conhecidos. Muitos países não fornecem dados concretos sobre a sepsé,  
9 tornando a epidemiologia da doença parcialmente desconhecida. Além disso, dentre  
10 os sobreviventes da sepsé, ainda há um número considerável de doentes que  
11 necessitam de acompanhamento psicológico, físico e cognitivo durante substancial  
12 período, ajudando a elevar os custos consideravelmente (SINGER et al., 2016).

13 O termo septicemia foi utilizado por muito tempo para definir a presença  
14 destas complicações, mas, desde o início da década de 1990, esse termo foi  
15 gradativamente abandonado pela comunidade médica, por se referir apenas à  
16 proliferação do agente infeccioso na circulação sanguínea, o que não explicaria as  
17 manifestações sistêmicas da síndrome (SALOMÃO et al., 2019). Em 1991, a  
18 comunidade médica, especialmente especialistas dos Estados Unidos e da Europa,  
19 se reuniram para a criação do primeiro consenso de definição da sepsé. Segundo  
20 este consenso, a sepsé seria uma síndrome da resposta inflamatória sistêmica  
21 (SIRS) causada por um agente infeccioso de qualquer origem (bactérias, fungos,  
22 vírus, protozoários etc.). Este conceito foi endossado durante a elaboração do  
23 segundo consenso de definição da sepsé, realizado pelo mesmo grupo de  
24 pesquisadores em 2003 (RELLO et al., 2017).

25 Com os avanços nas pesquisas sobre o tema, e, conseqüentemente, um  
26 melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicos que envolvem a sepsé,  
27 percebeu-se a necessidade de um novo conceito sobre esta síndrome, uma vez que  
28 ficou mais evidente que as respostas inflamatórias são desencadeadas no início do  
29 processo infeccioso e que esses mecanismos interferiam diretamente nos processos  
30 de disfunção celular e orgânica. Os conceitos anteriores, embora muito sensíveis,  
31 eram pouco específicos, e as estratégias de combate à sepsé eram focadas na

1 terapia contra a resposta inflamatória, o que poderia se traduzir em muito tempo  
2 gasto com pouca efetividade no tratamento (SALOMÃO et al., 2019).

3 Em 2014, a Sociedade Europeia de Medicina Intensiva e a Sociedade de  
4 Medicina Intensiva e Cuidados Críticos reuniram uma força-tarefa de 19  
5 especialistas nas áreas de terapia intensiva, doenças infecciosas, cirurgia e  
6 pneumologia com objetivo de elaborar um novo consenso com independência  
7 financeira e, a partir desse, a avaliação dos estudos pertinentes em epidemiologia  
8 da sepse, bem como os ensaios clínicos sobre o tema, pesquisa básica ou  
9 translacional (SINGER et al., 2016)

10 Em 2016, foi então publicado o terceiro consenso de definição da sepse e,  
11 desde então, esta síndrome é definida como a presença de disfunção orgânica  
12 ameaçadora à vida, através de uma resposta inflamatória desregulada do organismo  
13 hospedeiro à uma infecção ou mesmo ao trauma. A importância em se definir o que  
14 é ou não sepse é a inclusão correta e precoce dos pacientes nos protocolos iniciais  
15 de tratamento, pois a evolução da síndrome pode ser rápida e fatal para muitos  
16 acometidos por ela (RELLO et al., 2017).

17 Em 2017, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou um documento  
18 onde chama a atenção para a gravidade da sepse, que chega a matar mais de 6  
19 milhões de pessoas por ano no mundo, e os altos custos hospitalares relacionados a  
20 ela. Dessa forma, a entidade passou a considerar a sepse como uma das  
21 prioridades da saúde mundial e convocou os Estados-membros a desenvolverem  
22 políticas de saúde pública voltadas à prevenção, ao reconhecimento e ao tratamento  
23 da sepse (AZEVEDO et al., 2018)

24 Há mais de cem anos, um renomado médico e professor chamado Willian  
25 Osler observou em seus artigos que “o paciente mais parece morrer da resposta do  
26 corpo à infecção do que da própria infecção em si”. Com o avanço dos estudos na  
27 área imunocelular, houve o entendimento (ainda não totalmente esclarecido) dos  
28 mecanismos que formam a patogênese da sepse. Esses mecanismos são  
29 complexos e envolvem vários aspectos da interação entre os agentes infectantes e  
30 os hospedeiros. A ativação celular resultante do reconhecimento dos patógenos é  
31 fundamental para o controle da infecção, mas, paradoxalmente, a resposta

1 inflamatória do hospedeiro também é o substrato para as mudanças fisiopatológicas  
2 na sepse (SALOMÃO et al., 2012; VAN der POLL et al., 2017).

3 A evolução da sepse, mediada por espécies reativas de oxigênio, pode  
4 comprometer a função endotelial. Danos ao glicocálix, às membranas celulares e  
5 junções podem determinar aumento de permeabilidade, adesão de neutrófilos e  
6 plaquetas, com inflamação local e distúrbios de coagulação. Estes fatores podem  
7 levar à vasodilatação endotelial e atenuam a resposta vascular aos vasoconstritores  
8 (WU et al., 2003; VAN DEN BERG et al., 2006; BURKE-GAFFNEY et al., 2012).

9 Estes eventos contribuem para o aparecimento de hipotensão,  
10 extravasamento vascular e hipoperfusão microcirculatória, aumentando a hipoxia  
11 tecidual, pela dificuldade de difusão do oxigênio para os tecidos, comprometendo  
12 ainda mais a arquitetura celular e contribuindo para a falência orgânica (De BAKER  
13 et al., 2013).

14 Os estudos com diversas substâncias que modulam a resposta inflamatória  
15 endotelial têm sido incentivados pela comunidade científica, pois deles têm surgido  
16 informações relevantes sobre a mediação inflamatória, abrindo novas perspectivas  
17 para futuras condutas terapêuticas. Dentre estas substâncias, a vitamina C (ácido  
18 ascórbico), a dexmedetomidina e a eritropoetina têm alcançado importante destaque  
19 pela sua capacidade de reduzir a inflamação endotelial e, conseqüentemente,  
20 reduzir o extravasamento vascular e a disfunção orgânica em pacientes sépticos  
21 (SALOMÃO et al., 2012; MARSHALL et al., 2003; ANGUS et al., 2013).

22 O conhecimento, ainda que incompleto, do envolvimento dos mediadores  
23 inflamatórios liberados na resposta do hospedeiro ao agente infeccioso, como  
24 interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa)  
25 causando ativação da coagulação, vasodilatação, extravasamento endotelial e  
26 mobilização de neutrófilos para o espaço extra vascular, faz com que a cada dia  
27 apareçam novas linhas de pesquisa sobre o assunto, especialmente envolvendo a  
28 relação entre estes mediadores inflamatórios e as disfunções orgânicas associadas  
29 à sepse (MARSHALL et al., 2003; ANGUS et al., 2013). Este estudo se justifica pela  
30 importância da implementação de novas terapias dentro dos protocolos iniciais de  
31 tratamento dos pacientes sépticos.

32

1           **1.1 OBJETIVOS GERAIS**

2

3           Fazer uma análise comparativa entre a vitamina C, a dexmedetomidina e a  
4 eritropoetina em ratos sépticos e identificar qual dessas substâncias apresenta  
5 melhor desempenho na modulação inflamatória durante a sepse.

6

7           **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

8

9           Avaliar a resposta e os efeitos da vitamina C, dexmedetomidina e  
10 eritropoetina sobre a pressão arterial (sistólica, diastólica e média), função cardíaca  
11 através de ecocardiograma, infiltrado pulmonar através de tomografia  
12 computadorizada, resposta hematológica (hemoglobina, leucometria e contagem de  
13 plaquetas) e mediação inflamatória, através do TNF-alfa nos ratos com sepse  
14 induzida por CLP.

15

16           **1.3 HIPÓTESE**

17

18           Se vitamina C, a dexmedetomidina e a eritropoetina são capazes de reduzir a  
19 disfunção miocárdica, a infiltração pulmonar e a mediação inflamatória em ratos  
20 submetidos à indução da sepse por ligadura e punção cecal de maneira similar entre  
21 elas. Dentro da população testada, considera-se também a hipótese igual a zero  
22 ( $H=0$ ).

23

24

25

26

27

## 2. EMBASAMENTO TEÓRICO

### 2.1 CONCEITO E FISIOPATOLOGIA DA SEPSE

A fisiopatologia da síndrome sepse é bastante complexa e envolve diversos mecanismos que participam na interação entre hospedeiro e agente infeccioso. O reconhecimento de patógenos e a consequente ativação celular são fundamentais para o controle da infecção, mas, de maneira paradoxal, também contribuem para as mudanças fisiopatológicas que ocorrem na sepse. Buscando respostas sobre esta interação entre hospedeiros e agentes infecciosos, Freudenberg e colaboradores transferiram macrófagos de camundongos sensíveis aos lipopolissacarídeos (LPS) (C3H/HeN) para camundongos resistentes aos lipopolissacarídeos (C3H/HeJ) e tornou estes últimos susceptíveis à atividade letal do LPS. Os lipopolissacarídeos e os receptores “*Toll like 4*” (TLR4) fazem parte de um conceito onde o reconhecimento de patógenos é mediado por um conjunto de receptores chamados de “receptores de reconhecimento padrão” (PRRs), capazes de detectar produtos comuns das vias de biossíntese dos microrganismos, conhecidos como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). (FREUDENBERG et al., 1986; JANEWAY et al., 1989; SALOMÃO et al., 2019).

Alguns autores sugerem que é o hospedeiro, e não o microrganismo, que desencadeia a cascata fisiopatológica da sepse (CERRA, 1985). Ao mesmo tempo em que o conceito da teoria do hospedeiro começou a ganhar força, outros estudos assumiram que as características clínicas da sepse são desencadeadas pelas reações excessivamente exuberantes do processo inflamatório (ANGUS *et al.*, 2013). Mais tarde, outros estudos observaram que a resposta inflamatória inicial deu origem à uma síndrome da resposta anti-inflamatória compensatória e, ainda de maneira mais evidente, a infecção desencadeia uma resposta muito mais complexa, variável e prolongada no hospedeiro susceptível e tanto os mecanismos pró-inflamatórios como os anti-inflamatórios contribuem para recuperação dos tecidos de um lado, mas também para as lesões orgânicas e infecções secundárias de outro (BONE et al., 1997; VAN der POLL et al., 2008).

1 A resposta do hospedeiro à sepse pode ser considerada como uma série de  
2 eventos pró-inflamatórios e outros eventos anti-inflamatórios imunossupressivos. A  
3 duração, extensão e a direção que estes eventos irão tomar (pró ou anti-  
4 inflamatórios) dependem de fatores associados aos hospedeiros, como idade,  
5 medicamentos em uso, doenças concomitantes, dentre outros, e de fatores  
6 relacionados ao agente infeccioso, como a carga microbiana e a sua virulência.  
7 Estes eventos inflamatórios são desencadeados pela interação entre os padrões  
8 moleculares associados ao patógeno, expressos pelos próprios agentes causadores  
9 da infecção, e os receptores de reconhecimento padrão (PRRs), expressos pelas  
10 células do hospedeiro em suas superfícies, que são os receptores “Toll like” (TLRs),  
11 os receptores de lecitina tipo C (CLRs), no endossoma (TLRs) ou no citoplasma, que  
12 são os receptores do tipo 1 indutíveis pelo ácido retinóico (RLRs). Ainda participam  
13 do processo receptores de domínio de oligomerização de ligação dos nucleotídeos  
14 (NLRs). Como consequência da inflamação desregulada ocorre dano tecidual e  
15 necrose celular, que acabam resultando na liberação de padrões moleculares  
16 associados à lesão, chamadas de moléculas de risco, que auxiliam a perpetuar as  
17 lesões, agindo sobre os mesmos receptores de reconhecimento padrão,  
18 desencadeados pelos agentes infecciosos (ANGUS et al., 2013).

19 A resposta aos agentes infecciosos durante a sepse envolve os PRRs e os  
20 PAMPs, incluindo os TLRs de superfície celular (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 e TLR6),  
21 que reconhecem produtos bacterianos como lipoproteínas, flagelina, ácido  
22 lipoteicóico e os TLRs intracelulares, como o TLR3, TLR7 e TLR9, que participam da  
23 detecção de material genético de vírus e bactérias. Outros receptores como os  
24 NLRs, RLRs e CLRs também participam do reconhecimento de produtos  
25 microbianos, resultando em efeitos sinérgicos e antagônicos complementares,  
26 participando da modulação da imunidade inata e adaptativa do hospedeiro (BONE et  
27 al., 1997; VAN der POLL et al., 2008). Os PRRs também são capazes de reconhecer  
28 substratos hospedeiros conhecidos como “alarmins” ou “sinais de risco” tais como  
29 proteínas associadas ao choque térmico e proteínas de alta mobilidade tipo “Box 1”  
30 (HMGB1), que possuem relevante participação na regulação da resposta  
31 inflamatória (HOTCHKISS et al., 2013).

32 Toda esta mobilização de receptores de reconhecimento de patógenos  
33 promove a liberação de mediadores inflamatórios, através da imunidade celular

1 inata, tais como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), interleucinas 6 e 1 (IL-6 e  
2 IL-1). O efeito que esses mediadores exercem sobre as células endoteliais resultam  
3 no processo de ativação da cascata de coagulação, vasodilatação e extravasamento  
4 endotelial, com mobilização de neutrófilos e proteínas inflamatórias para o espaço  
5 extra vascular. Esses eventos contribuem para o aparecimento da hipotensão  
6 arterial e das disfunções orgânicas durante a sepse. A resposta inflamatória  
7 promove a liberação de fatores pró-coagulantes, como o fator tecidual, ao mesmo  
8 tempo que também restringe a atividade de fatores anticoagulantes naturais, como  
9 proteína C ativada, antitrombina e trombomodulina, determinando um estado pró-  
10 coagulante com formação de múltiplos micro trombos, causando a obstrução de  
11 capilares e pequenos vasos e que podem levar até o aparecimento de coagulação  
12 intravascular disseminada (FIGURA 1) (MARSHALL et al., 2003; ANGUS et al.,  
13 2013; SALOMÃO et al., 2019).

14 Em condições usuais, o processo inflamatório desencadeado pela infecção  
15 deve ser regulado suavemente e se reconhece que esses mecanismos de controle  
16 são afetados no paciente séptico. O termo “síndrome de resposta anti-inflamatória  
17 compensatória” (CARS) foi proposto para identificar estes mecanismos de controle:  
18 um deles seria uma resposta inflamatória equilibrada, que resultaria no controle da  
19 infecção e na recuperação das disfunções orgânicas, enquanto o outro mecanismo  
20 seria da predominância da resposta inflamatória, chamada de imunossupressão da  
21 sepse, que seria responsável pela manutenção dos focos infecciosos (ou  
22 desenvolvimento de novas infecções, oportunistas ou sequenciais), com  
23 agravamento das disfunções orgânicas e podendo levar o doente à morte (BONE et  
24 al., 1996; MARSHALL et al., 2003; ANGUS et al., 2013; HOTCHKISS et al., 2013).

25 Durante cerca de 3 décadas, os estudos buscavam intervir na cascata  
26 inflamatória através de estudos com fatores anti-TNFalfa, proteína C ativada  
27 recombinante e antagonistas TLR4/MD2, por exemplo. Porém, com as evidências  
28 mais recentes, a desregulação nas funções celulares, especialmente na capacidade  
29 de produzir citocinas, ganharam um interesse renovado após um longo período de  
30 resultados negativos (FISHER et al., 1996; BERNARD et al, 2001; VINCENT et al.,  
31 2002; OPAL et al., 2013).

32 Estudos que avaliaram a resposta imunológica de células sanguíneas  
33 periféricas indicaram um grande comprometimento dessa resposta, com os





## 2.2 VITAMINA C

O ácido ascórbico (3-oxo-L-gulofuranolactona (5R) – 5 - [(1S) - 1,2-diidroxietyl] - 3,4 diidroxi furano – 2 (5H) - ona), que é a forma redox (reduzida e oxidada) da vitamina C, é um antioxidante fisiológico. Estudos suportam que a administração precoce de vitamina C, em dose farmacológica elevada, a pacientes sépticos ou com isquemia, pode reduzir o dano oxidativo das células endoteliais, melhorando perfusão e oxigenação dos tecidos e inibindo a disfunção orgânica subsequente (BIELSALSKI et al., 2007; HERNANDEZ et al., 2013).

Pacientes gravemente enfermos são susceptíveis à disfunção múltipla de órgãos, oriunda de processos patológicos de isquemia e reperfusão, bem como da síndrome sepse e, especialmente, do choque séptico. Essas condições são favoráveis a uma grande produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio. As ROS são agentes oxidantes produzidas durante a respiração celular, através das mitocôndrias, e fagocitose. Além disso, as ROS causam modificações pós-translacionais das proteínas, modificando sua ação e afetando a sinalização celular, a expressão gênica, a detecção de oxigênio e outros processos fisiológicos (KOBAYASHI et al., 2005; BEDARD, et al., 2007).

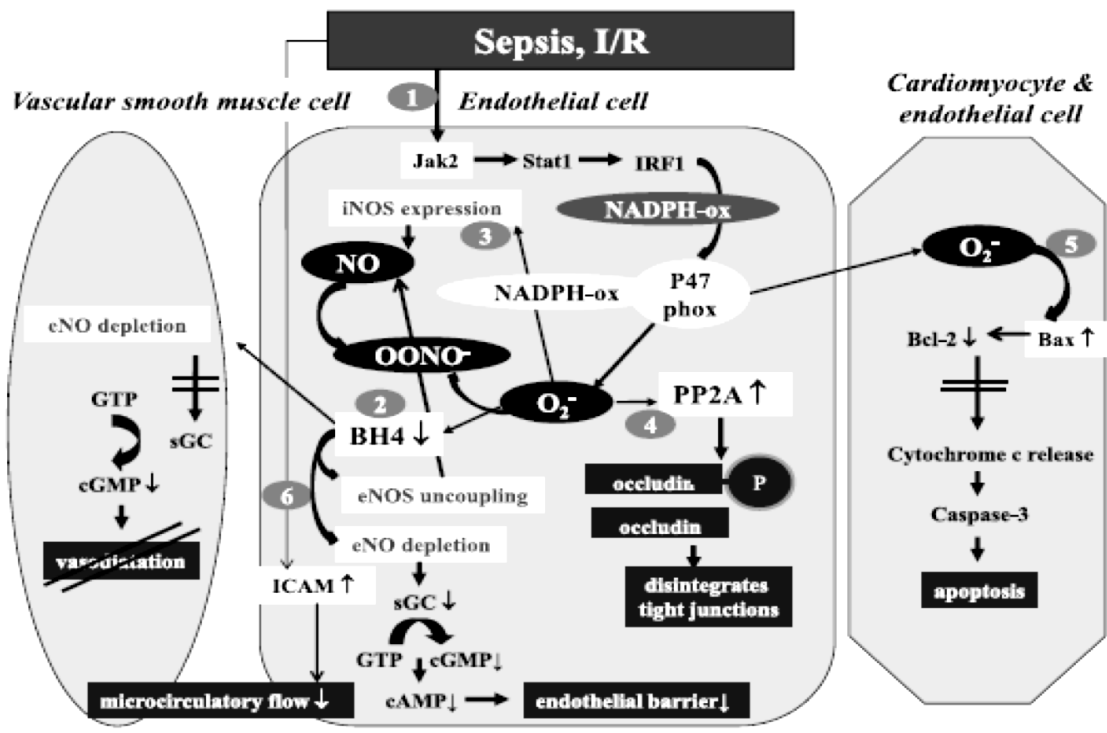
Pequenas concentrações de ROS também podem incrementar a resposta antioxidante, através da ativação do fator 2, relacionado ao fator nuclear eritróide 2, promovendo a sobrevivência celular. Embora as ROS sejam cruciais para a homeostase e defesa do organismo, elas podem causar lesões quando em concentrações elevadas, de modo a ultrapassar a defesa antioxidante. Nestes casos, as ROS podem induzir lesões reversíveis ou irreversíveis para as proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, agravando a disfunção endotelial, a lesão celular e a disfunção de múltiplos órgãos (WU et al., 2003; VAN DEN BERG et al., 2006; BURKE-GAFFNEY et al., 2012).

Quantidades elevadas de ROS propiciam o surgimento da disfunção endotelial, através de enzimas como a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato-oxidase (NADPH-OX = NOX) e pelo desacoplamento entre a fosforilação oxidativa mitocondrial e o óxido nítrico endotelial sintase (eNOS). As ROS também são produzidas pela xantina oxidase, lipoxigenase e cicloxigenase e ainda durante a

1 oxidação de catecolaminas. As espécies reativas não oxidadas irão então reduzir a  
2 atividade da eNOS, através da oxidação do cofator tetrahydrobiopterina (BH4). O  
3 óxido nítrico endotelial (eNO) inicia o processo de vasodilatação através da elevação  
4 do monofosfato de guanosina cíclico em células musculares lisas. Também é  
5 responsável pela inibição da agregação plaquetária e adesão entre plaquetas e  
6 leucócitos ativados. Desta forma, o eNO é de fundamental para a manutenção do  
7 fluxo microcirculatório e a sua deficiência dificulta a perfusão e a oxigenação de  
8 órgãos e tecidos. Na ausência de BH4, a eNOS produz superóxido ( $O_2^-$ ) em vez de  
9 óxido nítrico (NO), que é uma das espécies reativas mais danosas ao organismo  
10 (STRAATEN et al., 2014).

11 A vitamina C diminui o estresse oxidativo no endotélio através da redução na  
12 produção de superóxido, peróxido de hidrogênio e peroxinitrito. Estes mecanismos  
13 incluem a redução na expressão da sintase induzida pelo óxido nítrico (iNOS), na  
14 prevenção da ativação de NOX e na elevação da biodisponibilidade do óxido nítrico.  
15 NOX é a principal origem das espécies reativas de oxigênio tanto no endotélio,  
16 quanto no miocárdio. A ativação de NOX é responsável pela formação de  $O_2$   
17 intracelular. Quando houve a adição de ácido ascórbico às células endoteliais,  
18 expostas ao estresse oxidativo, ocorreu a inibição desta ativação de NOX, através  
19 da inibição da expressão da subunidade p47phox. O esquema representativo destas  
20 reações no endotélio pode ser visto na figura X (WU et al., 2002; WU et al., 2007;  
21 WU et al., 2008; FREY et al., 2009; MORTENSEN et al., 2014;).

22 As ROS derivadas de NOX também aumentam a expressão de iNOS,  
23 elevando a produção de óxido nítrico. E este óxido nítrico abundante, na presença  
24 de peróxido, gera peroxinitrito. Nesta relação, a vitamina C preveniu a expressão de  
25 iNOS. A vitamina C também elimina o peróxido, mas apenas quando este atingir  
26 concentrações mais altas, acima de 10 milimol por litro (mmol/l). Além disso, a  
27 vitamina C é capaz de aumentar a biodisponibilidade do óxido nítrico, impedindo a  
28 oxidação da BH4 e recuperando a BH4 quando esta já foi oxidada. Esta recuperação  
29 da BH4 pelo ácido ascórbico evita o desacoplamento da eNOS e a produção relativa  
30 de peróxido, restaurando a função endotelial e reduzindo o processo de  
31 vasodilatação (JACKSON et al., 1998; WU et al., 2002; MORTENSEN et al., 2014).



1

2 **Figura 2: Esquema representativo de disfunção endotelial induzida por isquemia/reperfusão e**  
 3 **induzida por sepse, levando ao aumento da concentração de espécies reativas de oxigênio**  
 4 **(STRAATEN et al., 2014).**

5

6 Também são conhecidos outros efeitos da vitamina C. Ela melhora a resposta  
 7 imunológica, facilita a absorção enteral de ferro, reduz a ação de intermediários do  
 8 ácido fólico e síntese de colágeno, contribuindo para cicatrização de feridas, além de  
 9 atuar na modulação do cortisol, catecolaminas e da carnitina (LEVINE et al., 1999;  
 10 MAY, 2000).

11 Nos últimos anos, iniciou-se uma série de estudos associando a vitamina C  
 12 (ácido ascórbico) à hidrocortisona e à tiamina para o tratamento de pacientes em  
 13 sepse ou mesmo em choque séptico, chamado de protocolo HAT (*hydrocortisone,*  
 14 *ascorbic acid, thiamine*). Este protocolo, ainda em estudos mais aprofundados,  
 15 sugere que os benefícios da vitamina C (já citados) podem ser potencializados  
 16 quando associados à hidrocortisona e à tiamina. A hidrocortisona, em tese, teria  
 17 efeito sinérgico à vitamina C, quando utilizada em doses moderadas. A tiamina foi  
 18 adicionada ao protocolo por favorecer as reações antioxidantes da vitamina C,  
 19 considerando que pacientes sépticos comumente têm deficiência de tiamina (MARIK  
 20 et al., 2017).

1 O uso isolado de hidrocortisona, bem como outras classes de corticoides, não  
2 mostrou evidências de benefícios aos pacientes sépticos, exceto àqueles refratários  
3 ao uso de vasopressores, pela dependência desta classe de fármacos aos níveis de  
4 cortisol sistêmico (KEH et al., 2016). Porém seu uso associado à vitamina C tem sido  
5 relacionado à potencialização da capacidade antioxidante desta última, além de  
6 inibir o processo de vasodilatação, a ação de mediadores pró-inflamatórios,  
7 preservar a função endotelial e o fluxo microcirculatório. Juntas, essas drogas  
8 também demonstraram contribuição à síntese de catecolaminas e na sensibilidade  
9 ao uso de vasopressores (MARIK et al., 2008; MARIK, 2009; ZHOU et al., 2012;  
10 FISCHER et al., 2013; MAY et al., 2013).

11 Outro estudo mostrou a importância da vitamina C, associada ao alfa-  
12 tocoferol (vitamina E), na proteção de cardiomiócitos em situações de estresse  
13 oxidativo e ainda na prevenção de apoptose endotelial em humanos, induzida por  
14 lipopolissacarídeos. Outros também demonstraram sua eficiência nos processos de  
15 estresse oxidativo causado por outras doenças, como a diabetes (HAENDELER et  
16 al., 1996; RINNE et al., 2000; SILVA et al., 2017). Algumas linhas de pesquisa  
17 também conseguiram demonstrar que a vitamina C de fato exerce um papel  
18 importante na imunomodulação em pacientes sépticos, reduzindo a  
19 imunossupressão celular e inibindo a imunorregulação negativa das células T  
20 reguladoras (TREGS) e a produção de citocinas inibitórias como interleucina 10 (IL-  
21 10) (GAO et al., 2017).

22

### 23 **2.3 DEXMEDETOMIDINA**

24

25 A dexmedetomidina (monocloridrato de (+)-4-(S)-[1-(2,3-dimetilfenil)etil]-1H-  
26 imidazol) é uma droga pertencente à classe dos sedativos, sendo um agonista  
27 seletivo dos receptores alfa-2 adrenérgicos, possuindo estabilidade sedativa,  
28 ansiolítica, simpatolítica e hemodinâmica (ZHANG et al., 2015). Estudos  
29 demonstraram que a dexmedetomidina é capaz de reduzir a dosagem de outros  
30 medicamentos durante procedimentos anestésicos, auxiliando no equilíbrio  
31 hemodinâmico e reduzindo os efeitos depressivos respiratórios que outros fármacos  
32 possuem. Além disso, existem estudos que sugeriram um efeito anti-inflamatório em

1 ratos sépticos, porém sem haver ainda uma determinação precisa deste mecanismo  
2 molecular (VENN et al., 1999; TRILTSCH et al., 2002).

3 Um estudo de ZHANG e colaboradores (2015) investigou os efeitos da  
4 dexmedetomidina sobre as concentrações plasmáticas (e no lavado bronquial) de  
5 TNF-alfa e IL-6 em ratos com sepse induzida por CLP. Os resultados mostraram que  
6 a dexmedetomidina reduziu significativamente a produção de TNF-alfa e IL-6, tanto  
7 no plasma como no lavado bronquial e, além disso, inibiu a expressão de TLR4 e  
8 MyD88 (fator de diferenciação mieloide) ao nível de mRNA bem como a ativação de  
9 ERK1/2 (quinase reguladora do sinal extracelular 1 e 2) e NF-kB (fator nuclear kB)  
10 nos tecidos pulmonares, que são críticas na produção de citocinas inflamatórias no  
11 pulmão dos ratos sépticos. Este mesmo experimento ainda demonstrou que a  
12 loimbina não foi capaz de anular tais efeitos após o uso de dexmedetomidina. Esses  
13 efeitos da dexmedetomidina dependem das vias de sinalização (TLR4, MyD88,  
14 MAPK e NF-kB), mas não dependem dos receptores adrenérgicos alfa-2.

15 O uso da dexmedetomidina também tem sido relatado como importante na  
16 modulação adrenérgica em pacientes sépticos. Em um experimento realizado por  
17 HERNÁNDEZ e colaboradores (2016) com ovelhas induzidas ao choque séptico,  
18 através da aplicação contínua de endotoxinas, a dexmedetomidina foi utilizada junto  
19 com o esmolol (beta bloqueador) e ambos foram bem tolerados pelos animais  
20 sépticos. O grupo que recebeu a dexmedetomidina necessitou de doses bem  
21 menores de epinefrina, mas sem demonstrar diferença nos níveis de lactato. Outros  
22 estudos similares mostraram que a dexmedetomidina tem sido relacionada a  
23 menores níveis de lactato, tanto por redução na geração, como na manutenção da  
24 depuração hepática desta substância (Clearance), sem apresentar grandes impactos  
25 na hemodinâmica global (TANIGUCHI et al., 2008; MIRANDA et al., 2015).

26 A dexmedetomidina é capaz de modular a resposta inflamatória, incluindo  
27 apoptose e necrose celular, através da liberação de canais e transmissores, bem  
28 como é capaz de modular a expressão gênica celular. Seu uso também tem sido  
29 relatado em síndromes de isquemia e reperfusão, contribuindo na liberação de  
30 neurotransmissores, como a serotonina, secreção de insulina, vasoconstrição,  
31 reabsorção renal de sódio, entre outros efeitos benéficos (CAI et al., 2014).

1 Uma outra linha de pesquisa mostrou que a regulação genética causada pela  
2 dexmedetomidina, através da expressão de citocinas, auxilia na redução do  
3 processo inflamatório causado pela sepse. Os receptores adrenérgicos alfa-2 são  
4 receptores acoplados à proteína G que transduzem sinais catalisando a proteína G  
5 em subunidades de proteína G, modulando, assim, os efeitos deletérios dessas  
6 subunidades (HSING et al., 2012). Estudos anteriores também demonstraram que a  
7 sobrevivência celular associada à dexmedetomidina está relacionada a uma  
8 diminuição nos níveis de caspase-3 (uma das mais importantes enzimas no  
9 processo de apoptose celular) e à redução da liberação de proteína B1 (HMGB1) do  
10 grupo de alta mobilidade (DHAMANI et al., 2005; GU et al., 2011). Estes relatos  
11 corroboram a tese de que a dexmedetomidina, em doses clínicas, inibe  
12 substancialmente a translocação de HMGB1 do núcleo para o citoplasma celular e  
13 as elevações na expressão de RNA mensageiro (mRNA) em macrófagos ativados  
14 por lipopolissacarídeos (CHANG et al., 2013).

15 Os efeitos protetores da dexmedetomidina podem estar relacionados à via  
16 anti-inflamatória colinérgica, que depende do receptor acetilcolina alfa-7 nicotínica  
17 (alfa 7nAChR). E, mesmo se demonstrando que o baço possui um papel  
18 fundamental na via anti-inflamatória colinérgica neural, pouco é conhecido sobre a  
19 ação deste órgão na atuação da dexmedetomidina sobre a sepse. Um estudo de LIU  
20 e colaboradores (2015) demonstrou que a dexmedetomidina atenuou a ativação de  
21 NF-κB (ativada por lipopolissacarídeos), bem como a produção de TNF-alfa e IL-6 ao  
22 nível de mRNA no baço.

23 Os agonistas alfa-2 adrenérgicos, como dexmedetomidina e clonidina, quando  
24 utilizados em pacientes sépticos, têm demonstrado uma redução na necessidade do  
25 uso de drogas vasopressoras, especialmente a noradrenalina. Até mesmo o uso de  
26 drogas não catecolaminérgicas, como a angiotensina II, mostrou melhor resultado  
27 quando associada à clonidina. Uma das hipóteses para este mecanismo é o  
28 aumento da resposta simpática e elevação das catecolaminas endógenas durante o  
29 choque séptico, ao mesmo tempo que ocorre uma regulação na baixa resposta ao  
30 estímulo de receptores adrenérgicos alfa-1 e alfa-2, capaz de reduzir a sua  
31 sensibilidade ou acoplamento intracelular. Esses resultados foram demonstrados em  
32 relatos de casos em humanos, mas também experimentalmente em modelos  
33 experimentais de sepse em ratos e ovelhas, sugerindo que o uso de agonistas alfa-2

1 adrenérgicos é capaz de melhorar a microcirculação (PICHOT et al., 2010; GÉLOËN  
2 et al., 2015).

3 Em uma outra linha de pesquisa, observou-se que a dexmedetomidina foi  
4 capaz de promover uma efetiva proteção do tecido hepático em ratos submetidos à  
5 sepse por endotoxemia. Parâmetros como congestão dos sinusoides hepáticos,  
6 congestão venosa central e inflamação do trato portal foram sensivelmente menores  
7 nos pacientes tratados com dexmedetomidina, quando comparados ao grupo séptico  
8 (SEZER et al., 2010). Outro estudo mostrou que a dexmedetomidina também age a  
9 nível hepático protegendo o fígado de lesões de isquemia e reperfusão induzida em  
10 ratos, reduzindo mediadores pró-inflamatórios como TNF-alfa, IL-6 e iNOS (CHENG  
11 et al., 2017). A ação alfa-2 agonista da dexmedetomidina também contribui para a  
12 melhoria da inflamação do parênquima hepático, bem como na funcionalidade do  
13 órgão, reduzindo os níveis das transaminases (ALT e AST) e os níveis de lactato,  
14 contribuindo para a redução da mortalidade em ratos sépticos (CHEN et al., 2015).

15 Um outro estudo demonstrou que a dexmedetomidina foi bem mais eficiente  
16 na sedação de pacientes humanos sépticos quando comparada ao lorazepam.  
17 Neste ensaio clínico, os pacientes que receberam dexmedetomidina tiveram uma  
18 melhora no período de disfunção neurológica, presença de *delirium* ou coma durante  
19 a internação e necessitaram de menos tempo de ventilação mecânica  
20 (PANDHARIPANDE et al., 2010). Nesta mesma linha de efeitos neuroprotetores, um  
21 experimento realizado por CHENG e colaboradores (2017) indicou que a  
22 dexmedetomidina (50 µg/kg) foi capaz de melhorar a perda muscular e ainda atenua  
23 as alterações em neuropeptídeos hipotalâmicos, além de contribuir para a redução  
24 da inflamação do hipotálamo em ratos sépticos induzidos por lipopolissacarídeos. A  
25 perda muscular foi avaliada pela expressão em mRNA de duas ligases de ubiquitina  
26 E3 e as alterações em neuropeptídeos avaliada pela liberação de  
27 proopiomelanocortina (POMC), fator de transcrição relacionado à cocaína e  
28 anfetamina (CART) e neuropeptídeos Y, além da redução da produção da proteína  
29 relacionada com agouti (melanocortina).

30

31

32

## 2.4 ERITROPOETINA

A eritropoetina (EPO) é uma molécula multifuncional (hormônio de glicoproteína), da classe dos agentes estimuladores da eritropoiese (ESA) produzida por diversos tecidos, com efeito anti-inflamatório e protetor celular, que auxiliam no combate ao dano tecidual e na regulação dos processos inflamatórios. Os ESAs mostraram efeitos renoprotetores quando utilizados em lesões de isquemia e reperfusão, mas também em situações de nefrotoxicidade por cisplatina, ciclosporina e uso de radiocontrastes (VESEY et al., 2004; SOLLING et al., 2011; EREN et al., 2012).

Na maioria dos estudos envolvendo EPO, o objeto de pesquisa sempre foi o tecido renal. Em processos inflamatórios, endotoxêmicos ou mesmo de isquemia e reperfusão, muitos mediadores humorais, incluindo citocinas, são liberados na circulação. O surgimento de hipotensão arterial sistêmica e de vasoconstrição renal podem resultar em lesão renal aguda, através do processo isquêmico. Além disso, células inflamatórias podem causar danos no epitélio tubular renal, através da liberação de ROS, proteases e citocinas adicionais. Muitas evidências sugerem que a EPO, produzida localmente em resposta ao processo inflamatório, tenha um efeito negativo nestes eventos (SCHRIER et al., 2004; WANG et al., 2005; JHOANNES et al., 2009).

Porém outras pesquisas mostram que as citocinas inflamatórias são capazes de suprimir a produção de EPO de forma dependente da concentração. Segundo os autores supracitados, a quantidade de EPO necessária para produzir os efeitos protetores nos tecidos é significativamente maior do que aquela necessária apenas para efeitos hormonais. Ainda é relatado que a EPO pode ser retardada por estes processos, sendo necessário um período superior a 12 horas para atingir seu pico de produção (MITRA et al., 2007; BRINES, 2010).

Da mesma forma, os efeitos da EPO na sepse induzida por lipopolissacarídeos foram investigados utilizando-se doses diferentes e em momentos diferentes. Em doses mais baixas (próximas de 300 U/Kg), a EPO não foi capaz de melhorar a função renal de indivíduos sépticos, no choque endotóxico. Porém, em doses bem mais elevadas (chegando até 5000 U/Kg), houve uma



1 melhora considerável na função renal e nos marcadores inflamatórios em modelos  
2 experimentais com ratos. Os benefícios da EPO ocorreram por suas propriedades  
3 antioxidantes e anti-inflamatórias, com efeitos benéficos sobre as estruturas  
4 celulares. A melhora nas taxas de sobrevivência associadas a doses elevadas de  
5 EPO foi relacionada com a atenuação do apoptose celular, redução na produção de  
6 óxido nítrico e na hipoxia tecidual, mas sem a presença de reações inflamatórias.  
7 Em doses baixas, a EPO aumentou a liberação de TNF-alfa, IL-6 e IL-1 horas após a  
8 indução da sepse por lipopolissacarídeos em ratos (AOSHIBA et al., 2009; WU et al.,  
9 2010).

10 Em pacientes sépticos, especialmente aqueles que acabam apresentando  
11 disfunção renal, os níveis de EPO ficam especialmente reduzidos e isso pode  
12 resultar em um quadro de anemia, também potencializada pela redução da resposta  
13 da medula óssea à EPO e à redução de viabilidade das hemácias (KRANTZ, 1994;  
14 ROGIERS et al., 1997; VAN IPEREN et al., 2001). Em um experimento onde se  
15 submeteu ratos à indução da sepse por CLP e aplicando EPO e imunoglobulina M  
16 enriquecida (Ig-M en), observou-se uma redução nas lesões pulmonares e  
17 intestinais relacionadas à sepse. A síntese de EPO fica bastante reduzida na  
18 presença abundante de TNF-alfa e IL-1, em estudos *in vitro*. EPO tem função  
19 importante na prevenção de danos celulares em pacientes sépticos, através da  
20 inibição da síntese de óxido nítrico. Receptores de EPO já foram detectados em  
21 alguns tecidos como cérebro, coração, pulmão, fígado, rim e no endotélio vascular  
22 (ATES et al., 2015).

23 Outras pesquisas relataram que a administração prévia de EPO, em doses  
24 elevadas (1000 U/Kg) reduziu substancialmente a produção de citocinas  
25 inflamatórias, especialmente TNF-alfa e IL-6, além de produzir efeitos benéficos no  
26 tecido intestinal em ratos submetidos ao modelo de isquemia e reperfusão (MORI et  
27 al., 2008). O tratamento prévio com doses elevadas de EPO também demonstrou  
28 reduzir os danos pulmonares em ratos induzidos com lesões de isquemia e  
29 reperfusão (WU et al., 2009). Da mesma forma, outra pesquisa também mostrou que  
30 doses elevadas de EPO melhoraram os danos orgânicos em fígado, rins, pulmão e  
31 intestino delgado) e suprimiram a liberação de IL-6 em ratos submetidos ao modelo  
32 de choque hemorrágico (WU et al., 2010).

## 2.5 SÍNDROME DO DESCONFORTO RESPIRATÓRIO AGUDO NA SEPSE

Não é incomum o aparecimento de edema pulmonar, que pode levar ao surgimento da síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), em pacientes criticamente enfermos, especialmente os pacientes sépticos. A SDRA se manifesta através do aumento de permeabilidade nos capilares pulmonares, contribuindo para o extravasamento alveolar através de um processo inflamatório sistêmico. Um dos métodos mais utilizados para o reconhecimento da presença de infiltrado inflamatório pulmonar é o diagnóstico por imagem, preferencialmente a tomografia computadorizada (TC) (CHANG et al., 2016; ALYESIL et al., 2017).

Em 2012, em Berlim, formou-se um consenso sobre SDRA e insuficiência respiratória em pacientes críticos. Segundo este consenso, a SDRA é uma síndrome clínica composta por, pelo menos, um fator de risco conhecido, presença de hipoxemia aguda não completamente explicada por sobrecarga de volume ou choque cardiogênico e ainda a presença de infiltração bilateral observada em exame de imagem radiográfico ou tomográfico (RIOS et al., 2017). Em estudos mais recentes, o valor prognóstico do consenso de Berlim foi testado comparando-se os níveis de lactato sérico e das mudanças fibroproliferativas no pulmão com imagens tomográficas de alta resolução. Esses resultados têm mostrado uma boa correlação da aplicação dos parâmetros do consenso de Berlim com o desfecho prognóstico conseguido com as imagens da tomografia de alta definição (KAMO et al., 2019).

A tomografia computadorizada é um exame não invasivo que combina cargas especiais de raios X, com programação computadorizada capaz de reconstituir as imagens captadas por cortes transversais da área estudada e permitindo uma visualização detalhada e multidimensional dos órgãos internos. As fatias (ou cortes) podem ter espessuras mínimas que chegam a 0,5 mm (SCHLEDER et al., 2017).

A radiografia torácica continua sendo uma técnica de grande importância para avaliação da imagem pulmonar. Porém a tomografia computadorizada, ao longo dos últimos anos, melhorou significativamente o conhecimento sobre o processo fisiológico da lesão pulmonar, induzida ou não por sepse, tornando-se atualmente a ferramenta referenciada para análise visual e quantitativa da imagem pulmonar. A aplicação da TC pulmonar, na fase inicial da SDRA, levou a mudanças importantes

1 no manejo clínico em mais de 30% dos pacientes. Embora exista a dificuldade  
2 técnica do deslocamento do paciente para a realização da TC e as doses de  
3 radiação sejam consideravelmente maiores do que as cargas aplicadas na radiologia  
4 convencional, a TC desempenha um papel até então insubstituível para descrever e  
5 avaliar a capacidade de recrutamento pulmonar em pacientes sépticos portadores  
6 de SDRA (CHIUMELLO et al., 2019).

7 Clinicamente, o termo SDRA tem sido usado para sugerir a presença de  
8 infiltrado inflamatório no parênquima pulmonar, resultado do aumento de  
9 permeabilidade microvascular com extravasamento de líquido e proteínas para o  
10 interior do alvéolo. Contudo, por consenso, a SDRA só é efetivamente caracterizada  
11 quando a relação entre a pressão arterial de oxigênio e a fração inspirada de  
12 oxigênio ( $PaO_2/FiO_2$ ) reduz consideravelmente, caindo a níveis abaixo de 200 na  
13 relação. Por conta disso, pacientes que já apresentem algum grau de edema  
14 pulmonar relacionado à sepse poderiam ser ignorados na etapa inicial da doença e  
15 serem diagnosticados apenas quando a relação  $PaO_2/FiO_2$  cair a níveis abaixo de  
16 200 (VAL-FLORES et al., 2014).

17 O prognóstico de pacientes sépticos acometidos de SDRA é, geralmente,  
18 desfavorável devido à complexidade da fisiopatologia e pela etiologia altamente  
19 heterogênea. Mas é sabido que a principal causa de SDRA é a sepse e a ativação  
20 da síndrome é o dano endotelial parecem ser as causas mais prováveis da  
21 inflamação pulmonar (ORFANOS et al., 2004; PEEK et al., 2010).

22 Não é totalmente conhecida a fisiopatologia da SDRA em pacientes sépticos,  
23 mas se sabe que as células endoteliais promovem migração transepitelial de  
24 neutrófilos e favorecem a agregação plaquetária e coagulação, causando obstrução  
25 microvascular nos capilares pulmonares. Este processo de dano endotelial pode  
26 evoluir para a ruptura da membrana alvéolo-capilar e, dessa forma, levar ao  
27 aumento da permeabilidade capilar e consequente edema pulmonar (WORT et al.,  
28 1999; JHONSON et al., 2010). Mais de 90% de pacientes sépticos que  
29 desenvolveram SDRA, tinham baixos níveis de proteína plasmática (abaixo de 6  
30 g/dL), sugerindo que a hipoproteinemia potencializa o extravasamento de líquido  
31 para o interstício e, dessa forma, piora o prognóstico respiratório e eleva a  
32 mortalidade em pacientes sépticos (MANGIALARDI et al., 2000).

1 Um estudo de MOUSSA e colaboradores (2015) demonstrou que as células  
2 endoteliais circulantes (CEC) estão significativamente aumentadas em pacientes  
3 sépticos portadores de SDRA, quando comparadas a pacientes com outras causas  
4 de inflamação pulmonar, que não a sepse. Estes resultados mostraram que, embora  
5 não se possa usar as CEC como um biomarcador de dano endotelial, é seguro  
6 afirmar que o dano endotelial está presente em pacientes sépticos com disfunção  
7 respiratória.

8 A TC tem sido utilizada com sucesso na avaliação pulmonar de pacientes  
9 sépticos. Seu uso, tanto na avaliação de infiltrados pulmonares como na avaliação  
10 de tromboembolismo associado à sepse já foi descrito por vários autores (CHANG et  
11 al., 2016). Uma técnica sugerida é a sobreposição de imagens de TC nos momentos  
12 inspiratórios e expiratórios para melhor avaliação das áreas de recrutamento em  
13 pacientes sépticos com inflamação pulmonar. Isso permitiria uma avaliação  
14 individualizada destes pacientes, sugerindo um melhor prognóstico respiratório  
15 (CEREDA et al, 2017).

## 16

## 17 **2.6 DISFUNÇÃO CARDÍACA NA SEPSE**

## 18

19 O sistema cardiovascular desempenha um papel fundamental na sepse e a  
20 depressão miocárdica relacionada à sepse é um achado comumente associado ao  
21 aumento de mortalidade. Os mecanismos que envolvem a depressão miocárdica na  
22 sepse não estão completamente definidos, mas se acredita que a disfunção  
23 cardíaca acomete os lados direito e esquerdo do coração, bem como os momentos  
24 de sístole e de diástole. Desta forma, o acompanhamento da função cardíaca,  
25 através do exame de ecocardiografia, é uma importante ferramenta de diagnóstico e  
26 controle em pacientes sépticos (ANTONUCCI et al., 2014).

27 A ecocardiografia é a técnica de utilização do ultrassom como meio  
28 diagnóstico em cardiologia, representando um importante método não-invasivo na  
29 avaliação morfofuncional do coração (MUZZI et al., 2000). Um dos métodos para a  
30 realização do exame ecocardiográfico é o modo bidimensional, conhecido como  
31 ecocardiografia em tempo real, onde a imagem obtida corresponde a de um plano

1 de corte, reconstituindo, em duas dimensões, as estruturas anatômicas que estão  
2 sendo observadas (O'GRADY et al., 1986). O modo M exibe, por meio de um  
3 gráfico, sinais de diferentes ecogenicidades devido à profundidade dos tecidos,  
4 registrando o movimento do coração através de uma linha de tempo (KOCH et al.,  
5 1996).

6       Numerosos estudos relacionam a sepse com evidências de depressão  
7 miocárdica nos últimos 50 anos. Porém o comprometimento do miocárdio na sepse  
8 continua a ser um desafio a ser vencido. O coração é apenas um componente do  
9 sistema cardiovascular e constantemente altera seu desempenho em função das  
10 alterações hemodinâmicas periféricas, dificultando a distinção entre efeitos  
11 cardíacos diretos ou resposta cardíaca secundária às alterações de pré-carga, pós-  
12 carga e atividade neuro-humoral ocorridas durante a sepse, como liberação de  
13 catecolaminas, ação do óxido nítrico etc (SUFFREDINI et al, 1989; HOCHSTADT et  
14 al., 2011).

15       A fisiopatologia da disfunção miocárdica na sepse envolve uma série de  
16 mecanismos genéticos, moleculares, metabólicos e estruturais que, embora não  
17 completamente conhecidos devido à sua complexidade, têm fundamental  
18 participação na evolução da sepse, contribuindo sensivelmente para a mortalidade  
19 elevada (FENTON et al., 2016). Os mecanismos genéticos não são claros, mas  
20 sugerem que a deficiência de iNOS tem efeito cardioprotetor. Outros mecanismos  
21 incluem a liberação excessiva de TNF-alfa, IL-6 e IL-1 que também contribuem para  
22 a disfunção cardíaca (KUMAR et al, 1996; SANTOS et al, 2010).

23       Não obstante, a depleção dos níveis de cálcio intracelular é um fator de  
24 contribuição significativo na depressão miocárdica na sepse, devido ao poder  
25 inotrópico que este componente possui nos cardiomiócitos. A presença de óxido  
26 nítrico também tem relação importante com vasodilatação e, conseqüentemente,  
27 prejuízo da função miocárdica (STENGL et al., 2010; SANTOS et al., 2010; CIMOLAI  
28 et al., 2015).

29       Um estudo conduzido por PARK e colaboradores (1984) foi o pioneiro em  
30 demonstrar o desempenho do ventrículo esquerdo em pacientes sépticos, através  
31 de cineangiocoronariografia e implantação de cateter de artéria pulmonar, para  
32 avaliar fração de ejeção e débito cardíaco, respectivamente. O grupo observou que

1 a fração de ejeção chegava a reduzir até 40% em metade dos pacientes, mas eles  
2 conseguiram recuperar a função miocárdica em até 10 dias. Paradoxalmente, o  
3 grupo que manteve a fração de ejeção dentro da faixa de normalidade, ou mesmo  
4 acima do normal, foi aquele que apresentou maior mortalidade.

5 Um outro estudo realizado por JARDIN e colaboradores (1989), que incluiu 90  
6 pacientes em choque séptico, demonstrou que o volume diastólico final do ventrículo  
7 esquerdo permaneceu dentro da faixa de normalidade, enquanto a fração de ejeção  
8 do mesmo ventrículo estava deprimida, reduzindo o débito cardíaco em todos os  
9 pacientes nos estágios iniciais do choque séptico. Porém 62% dos pacientes que  
10 morreram, tinham frações de ejeção mais elevadas e volumes diastólicos finais mais  
11 reduzidos, apesar de receberem quantidades significativas de fluido durante o  
12 tratamento inicial.

13 Os métodos comumente empregados na análise dos dados da  
14 ecocardiografia são: a fração de ejeção (FE), fração de encurtamento (FS), tempo  
15 de relaxamento isovolumétrico (TRIV) e mensuração das câmaras ventriculares  
16 esquerdas em sístole (CVEs) e em diástole (CVEd). A fração de ejeção do ventrículo  
17 esquerdo (FEVE) é a medida central da função sistólica deste lado do coração. Esta  
18 medida se refere à fração do volume existente na câmara esquerda na sístole  
19 (volume sistólico) em relação ao volume existente no mesmo ventrículo ao final da  
20 diástole (volume diastólico final). O volume sistólico é calculado baseado na  
21 diferença entre o volume diastólico final e o volume sistólico final. A fração de ejeção  
22 é o percentual estabelecido desta relação entre diástole e sístole. Estima-se uma  
23 fração de ejeção normal entre 52 e 72% em humanos. Uma anormalidade de grau  
24 leve ocorreria quando a fração de ejeção estiver entre 41 e 51%. Moderadamente  
25 anormal quando se encontrar entre 30 e 40% e severamente anormal quando estiver  
26 abaixo de 30% de ejeção (NAGUEH et al., 2009; BOUHEMAD et al., 2009).

27 A fração de encurtamento (FS) corresponde à variação percentual no  
28 diâmetro ventricular que ocorre com a sístole. É um dos métodos mais simples da  
29 avaliação ecocardiográfica por trabalhar com o modo M de mensuração, que  
30 corresponde a sinais de diferentes ecogenicidades, pela espessura dos tecidos,  
31 fazendo o registro do movimento cardíaco através de uma linha de tempo. A medida  
32 do encurtamento do ventrículo esquerdo tem sido utilizada como um indicador da  
33 eficiência do ventrículo em ejetar o volume. Os valores de normalidade da fração de

1 encurtamento em humanos está entre 28 e 44% e não depende da frequência  
2 cardíaca, mas sim do volume diastólico (pré-carga) e da resistência arterial sistêmica  
3 (pós-carga) (KAMPMANN et al., 2000; GUERRA et al., 2002).

4 O TRIV é o intervalo de tempo entre o final da ejeção aórtica e o início do  
5 enchimento ventricular. Este valor é obtido, em milissegundos, a partir do registro  
6 simultâneo, no modo doppler espectral, dos fluxos aórticos e mitrais. O TRIV é capaz  
7 de estimar o relaxamento ventricular. Um relaxamento ventricular (diástole) mais  
8 demorado será refletido em um TRIV mais longo. A frequência cardíaca está  
9 positivamente relacionada com o TRIV em humanos, mas pode variar em outras  
10 espécies. A redução na pressão do átrio esquerdo pode elevar falsamente o TRIV,  
11 não refletindo verdadeiramente um relaxamento ventricular deficiente (PLOTNIK et  
12 al., 1989; THOMAS et al., 1992; FUENTES, 2003; SCHOBER et al., 2003).

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

### 1        3. MATERIAIS E MÉTODO

2

3        O experimento foi realizado no laboratório de cirurgia e anestesia da Unidade de  
4        Experimentação Animal (UEA) da Universidade Estadual Fluminense Darcy Ribeiro  
5        (UENF) e submetido à Comissão de Ética de Uso Animal (CEUA) sob o número  
6        124447.

7

#### 8        3.1 DIVISÃO DOS GRUPOS

9

10        Foram utilizados 36 ratos wistar (*rattus norvegicus*), machos, pesando entre 300  
11        e 350 gramas, divididos em 6 grupos com 6 ratos cada um, separados em gaiolas  
12        individuais com número do grupo e do animal de cada grupo, com regime liberal de  
13        água e comida e abrigados em ambiente com temperatura controlada em 20 graus  
14        Celsius.

15        Os grupos foram divididos do seguinte modo:

16        Grupo 1: animais apenas anestesiados (controle)

17        Grupo 2: animais falsamente operados (sham)

18        Grupo 3: animais apenas submetidos à CLP

19        Grupo 4: animais submetidos à CLP com aplicação de vitamina C

20        Grupo 5: animais submetidos à CLP com aplicação de dexmedetomidina

21        Grupo 6: animais submetidos à CLP com aplicação de eritropoetina

22        Os animais foram anestesiados com cetamina (100 mg. Kg<sup>-1</sup>) associada ao  
23        midazolam (0,5 mg.kg<sup>-1</sup>), aplicados na mesma seringa, por via intraperitoneal. Após  
24        cerca de 10 minutos, os animais então eram colocados sobre uma calha cirúrgica  
25        adaptada, onde recebiam tricotomia da região abdominal, região torácica e na região  
26        ventral do pescoço, para o posterior procedimento cirúrgico (nos grupos pertinentes),  
27        realização dos ecocardiogramas e monitoração de pressão invasiva através de  
28        punção da artéria carótida, por dissecação e visualização direta, no momento de



1 avaliação, que foi definido em 24 horas após a indução da sepse, do *sham* ou da  
2 anestesia inicial. Nos locais onde houve tricotomia, os animais recebiam aplicação  
3 de solução de clorexidina degermante, seguida de solução de clorexidina alcoólica.

4 Os animais do grupo 1, após serem anestesiados, eram colocados em gaiolas  
5 individualizadas, com identificação do grupo e do número do paciente (de 1 a 6) de  
6 cada grupo. Esses ratos não sofriam nenhuma intervenção além das tricotomias e  
7 antissepsias já descritas acima.



8

9 **FIGURA 3: Posicionamento utilizado durante o procedimento no animal (*Rattus norvegicus*),**  
10 **colocado sobre calha cirúrgica adaptada. Fonte: Arquivo pessoal.**

11

12 No grupo 2, após a entrada em plano anestésico (percebida pela não reação à  
13 preensão digital com pinça hemostática) e tricotomia, os ratos eram colocados em  
14 calha cirúrgica adaptada para início do procedimento (Figura 3). Foi realizada então  
15 uma incisão na pele, na linha média do abdômen e uma pequena dissecção do  
16 tecido subcutâneo, quando então era feita a abertura da cavidade abdominal, sobre  
17 a linha alba, com lâmina de bisturi número 11. Após a abertura da cavidade  
18 abdominal, o ceco era visualizado e exposto manualmente para fora do abdômen  
19 (Figura 4). O restante dos intestinos delgado e grosso eram mantidos naturalmente  
20 dentro do abdomen.



1

2 **Figura 4: Exposição do ceco dos ratos para dissecção mesentérica nos grupos pertinentes.**  
3 **Fonte: Arquivo pessoal.**

4

5 Naquele momento, era realizada a dissecção do mesentério do ceco, próximo à  
6 válvula ileocecal, com extremo cuidado para não lesionar o ramo cecal da artéria  
7 ileocecal, o que poderia levar a um quadro de hemorragia e óbito do animal em  
8 questão. Além disso, esta etapa é fundamental para evitar a isquemia do ceco  
9 durante o procedimento de ligadura e punção, nos grupos pertinentes.

10 Após a abertura da cavidade abdominal, exteriorização do ceco e dissecção do  
11 mesentério, o ceco foi recolocado em sua posição original, e a cavidade abdominal  
12 foi fechada com pontos simples separados, com fio de náilon de espessura 3-0 e  
13 então se deu o fechamento do espaço subcutâneo e pele, também com fio de náilon  
14 de espessura 3-0 (Figura 5). Depois da abertura e sutura, os animais foram  
15 colocados em suas respectivas gaiolas individuais, até a reavaliação em 24 horas.

1



2

3 **Figura 5: Fechamento da cavidade abdominal após exposição do ceco e dissecação**  
4 **mesentérica. Fonte: Arquivo pessoal.**

5

6 Os animais dos grupos 3,4,5 e 6, além de todos os procedimentos citados nos  
7 grupos 1 e 2, receberam os procedimentos de ligadura e punção do ceco (CLP),  
8 para indução da sepse. Primeiro foi escolhida a porção do ceco a ser ligada e  
9 puncionada. Foi padronizada a ligadura cecal larga, próxima à válvula ileocecal, que  
10 corresponde à ligadura em torno de 50% da área do ceco, com o objetivo de indução  
11 em curto período da sepse nos animais testados (Figuras 6 e 7).

12 No grupo 3, após exposição do ceco e dissecação do mesentério, um fio de seda,  
13 com espessura número 2-0, era passado entre o ceco e o espaço da dissecação do  
14 mesentério e então era feita a ligadura da região selecionada, com cuidado para não  
15 causar isquemia ou laceração nesta região do ceco (Figuras 8 e 9). Antes da  
16 ligadura, o conteúdo fecal era gentilmente manuseado e deslocado em direção à  
17 região distal do ceco, para facilitar o processo de punção.

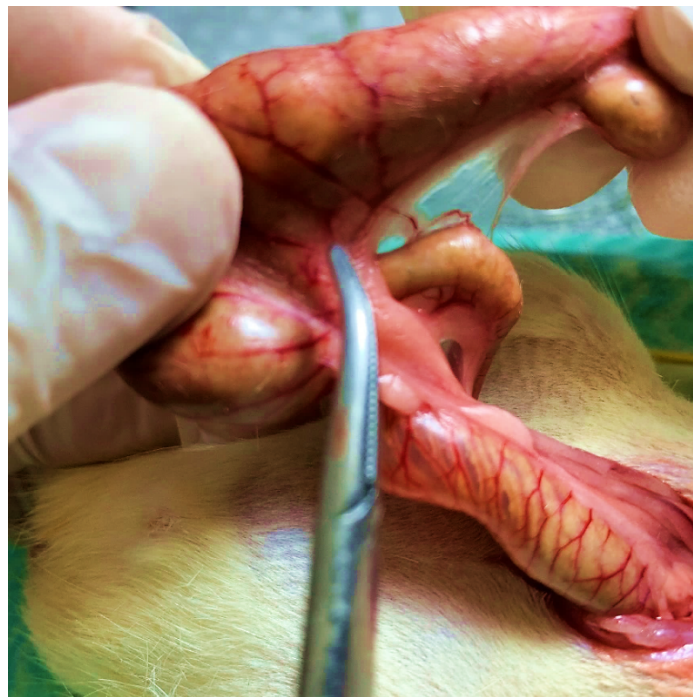




1

2 **Figura 6: Deslocamento do conteúdo fecal, nos grupos pertinentes, para ligadura na porção**  
3 **proximal da válvula ileocecal. Fonte: Arquivo pessoal.**

4



5

6 **Figura 7: Dissecção para ligadura próxima à válvula ileocecal, com o cuidado necessário para**  
7 **evitar o ramo cecal da artéria ileocecal. Fonte: Arquivo pessoal.**

8



1

2 **Figura 8: Passagem do fio pelo mesentério, evitando a artéria ileocecal (ramo cecal). Fonte:**  
3 **Arquivo pessoal.**

4

5 Após a ligadura, era introduzida uma agulha calibre 18 (40 x 1,2 mm) na região  
6 proximal do ceco, atravessando este completamente, sempre no sentido da borda  
7 mesentérica para a borda antimesentérica, com o cuidado de não acertar nenhum  
8 leito vascular no trajeto da agulha (Figura 10). A agulha era removida e então se  
9 realizava uma suave compressão no local da punção, com o objetivo de exteriorizar  
10 uma pequena quantidade de fezes, tanto no orifício da borda mesentérica, quanto no  
11 orifício da borda antimesentérica. A quantidade de exposição de material fecal era  
12 limitada e sempre a mesma em todos os animais do experimento submetidos ao  
13 protocolo (Figuras 11 e 12).



1

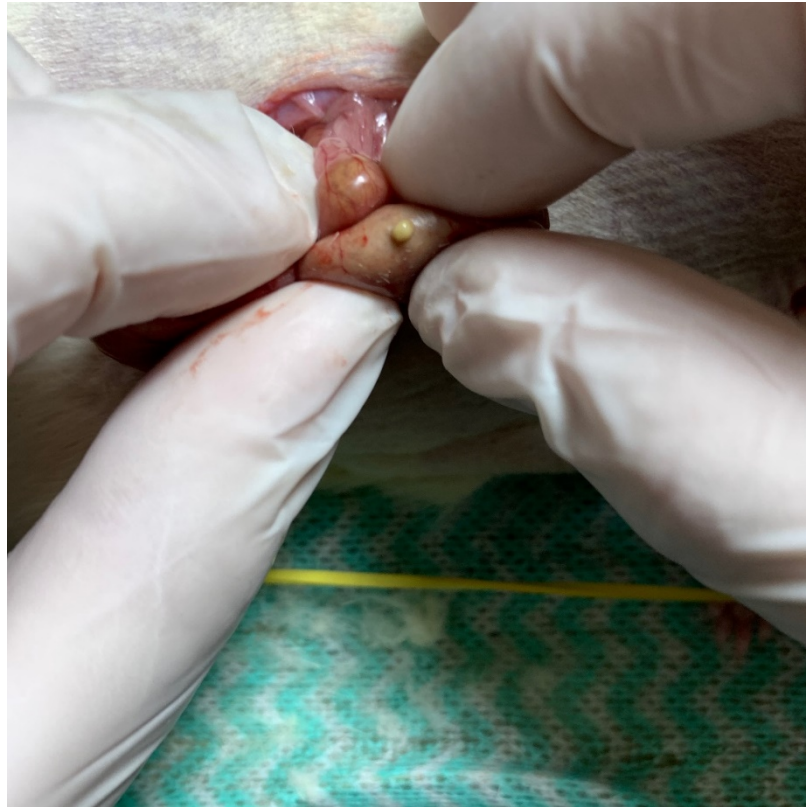
2 **Figura 9: Ligadura realizada no terço proximal do ceco, nos grupos pertinentes, próximo à**  
3 **válvula ileocecal. Fonte: Arquivo pessoal.**



4

5 **Figura 10: Transposição de agulha 18G sobre a porção proximal do ceco, na direção da borda**  
6 **antimesentérica. Fonte: Arquivo pessoal.**





1

2 **Figura 11: Exteriorização de conteúdo fecal com manipulação suave do ceco. Fonte: Arquivo**  
3 **peçoal.**

4



5

6 **Figura 12: Exteriorização contralateral do conteúdo cecal. Fonte: Arquivo peçoal.**

1 Depois disto, o ceco era então realocado dentro da cavidade abdominal, com o  
2 cuidado de não haver contato das fezes expostas com a abertura da parede  
3 abdominal. Assim feito, o peritônio e a parede abdominal eram fechados com fio de  
4 náilon de espessura 3-0, seguido do fechamento do tecido subcutâneo e pele com o  
5 mesmo tipo de fio, ambos com pontos simples descontínuos.

6 Todos as ligaduras e punções cecais nos animais do experimento tiveram o  
7 cuidado de manter um tempo médio de realização do procedimento entre 10 e 15  
8 minutos, evitando manipulações e exposições excessivas que pudessem  
9 comprometer o resultado.

10 No grupo 4, após realização da CLP, foi administrado  $200 \text{ mg.kg}^{-1}$  de vitamina C  
11 (ácido ascórbico), por via intravenosa, através de punção da veia jugular esquerda,  
12 imediatamente após o fechamento da cavidade abdominal.

13 No grupo 5, após realização da CLP, foi administrado  $5 \text{ mcg.kg}^{-1}$  de  
14 dexmedetomidina, por via intraperitoneal no quadrante inferior direito, imediatamente  
15 após o fechamento da cavidade abdominal.

16 No grupo 6, após realização da CLP, foi administrado  $3.000 \text{ U.Kg}^{-1}$  de  
17 eritropoetina, por via intraperitoneal no quadrante inferior direito, imediatamente  
18 após o fechamento da cavidade abdominal.

19

## 20 **3.2 AVALIAÇÃO INICIAL**

21

22 Os animais eram então colocados em suas gaiolas individuais, com livre acesso  
23 à água e comida, para recuperação anestésica e assim permaneciam nas 24 horas  
24 seguintes à indução da sepse, quando então eram reavaliados para parâmetros  
25 clínicos como tremores, pelos arrepiados, mal-estar e fraqueza muscular (Figura 13).

26





1

2 **Figura 13: Manifestação clínica de pelos arrepiados 24 horas após ao procedimento de CLP**  
3 **nos grupos pertinentes. Fonte: Arquivo pessoal.**

4

5 Após esta avaliação clínica, os animais eram anestesiados novamente com a  
6 mesma combinação de cetamina e midazolam utilizadas anteriormente, para  
7 contenção e realização das coletas de dados.

8

### 9 **3.3 COLETA DE DADOS HEMODINÂMICOS E EXAMES DE IMAGEM**

10

11 Após atingirem o plano anestésico, os animais eram posicionados novamente na  
12 calha cirúrgica adaptada, onde então era feita a abertura da pele na região cervical  
13 ventral, sendo feita a dissecção do tecido subcutâneo da região para exposição dos  
14 músculos esterno-hioideos, que eram separados com uso de pinças hemostática

1 curva, permitindo a visualização da traqueia. A traqueia era então lateralizada  
2 suavemente, permitindo o acesso à artéria carótida, que foi separada do nervo vago  
3 e individualizada para permitir a sua punção. A punção da artéria carótida era  
4 realizada após a ligadura de sua porção cranial, facilitando o enchimento da artéria e  
5 sua canulação. Para a punção carotídea, foi utilizado um cateter endovenoso calibre  
6 24, sendo este então fixado à artéria através de outra ligadura na porção caudal da  
7 carótida. Com o fluxo sanguíneo presente, era inserido pelo cateter 0,2 ml de  
8 solução heparinizada, preparada com o uso de 0,01 ml de heparina sódica 5.000 U  
9 para 9,9 ml de solução salina, para evitar a formação de trombos e prejudicar a  
10 leitura dos valores hemodinâmicos.

11 Com o acesso arterial definido, os animais eram conectados ao equipamento de  
12 mensuração invasiva Labchart<sup>®</sup>, da empresa AD INSTRUMENTS LTD, através de  
13 um cabo de transdutor de pressão ligado a um sistema de pressão arterial invasiva  
14 que, por sua vez, estava conectado ao cateter arterial implantado na carótida. A  
15 partir da detecção do pulso arterial pelo equipamento, era marcado o momento de  
16 leitura da pressão arterial invasiva, realizada por um período de 5 minutos  
17 subsequentes ao início da coleta dos dados. Ao final deste período, a leitura era  
18 interrompida pelo equipamento e os dados coletados eram salvos no computador,  
19 identificados pelo número do grupo analisado e o número do rato dentro de cada  
20 grupo.

21 Ao mesmo tempo que eram coletados os dados hemodinâmicos, também eram  
22 realizadas as mensurações cardíacas através de exame de ecocardiograma,  
23 performado por um profissional com larga experiência na área e que desconhecia os  
24 tratamentos aplicados a cada grupo (cego). Para a realização dos ecocardiogramas,  
25 foi utilizado um equipamento VIVID IQ PREMIUM<sup>®</sup>, da GE HEALTHCARE<sup>®</sup>, com um  
26 transdutor PHASED ARRAY<sup>®</sup>, modelo 12S-RS, com frequência entre 5 e 11 MHz.

27 O profissional fez as mensurações de fração de ejeção pelos métodos de  
28 Simpson e Teicholz, fração de encurtamento pelo método de Teicholz, tamanho da  
29 câmara ventricular esquerda em sístole e em diástole e o tempo de relaxamento  
30 isovolumétrico. As mensurações das frações de ejeção e encurtamento são dadas  
31 em percentuais (%), enquanto a mensuração da câmara ventricular esquerda se dá  
32 em centímetros e o tempo de relaxamento isovolumétrico é calculado em  
33 milissegundos.

1 Para a captação das imagens, foram utilizados os cortes paraesternal direito 4  
2 câmaras em eixo longo (frações de encurtamento e ejeção), paraesternal esquerdo  
3 apical 5 câmaras (tempo de relaxamento isovolumétrico) e paraesternal direito em  
4 eixo curto, ao nível dos músculos papilares (mensuração da câmara ventricular  
5 esquerda). Estes dados foram coletados e salvos em planilha do programa Excel®,  
6 para posterior análise estatística.

7 Após a realização dos ecocardiogramas, os animais eram preparados para o  
8 exame de tomografia computadorizada, realizado em tomógrafo LIGHTSPEED®,  
9 com 32 canais, da GE HEALTHCARE®, com projeções de tórax, em cortes axiais,  
10 coronais, sagitais e reconstrução de volume em 3 dimensões, com 1,25 milímetros  
11 de espessura em cada imagem, para observar a presença ou não de infiltrado  
12 pulmonar inflamatório posterior à indução da sepse. As imagens foram reconstruídas  
13 pelo programa InVesalius® e analisadas por um observador experiente em  
14 diagnóstico por imagem, sem conhecimento dos tratamentos aplicados a cada grupo  
15 (cego). O padrão de presença ou não de infiltrado inflamatório pulmonar foi definido  
16 da seguinte forma: ausente, quando não houver percepção de processo inflamatório  
17 nos campos pulmonares observados; infiltração leve, quando o processo  
18 inflamatório acometer até 25% dos campos pulmonares observados; infiltração  
19 moderada, quando o processo inflamatório corresponder à uma área entre 25 e 50%  
20 dos campos pulmonares observados; infiltração severa, quando houver  
21 comprometimento inflamatório em mais de 50% dos campos pulmonares  
22 observados. Foram observados os cortes axial, sagital, coronal e reconstituição  
23 tridimensional de volume em áreas pulmonares. Os dados foram tabelados para  
24 posterior análise estatística.

25

### 26 **3.4 COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE**

27

28 Ao final da coleta de todos os dados, os animais foram desconectados do  
29 sistema de pressão arterial invasiva e, através do cateter arterial implantado na  
30 carótida, foi coletado sangue para realização dos hemogramas completos (e  
31 respectivas lâminas para leucometria específica) e do teste de ELISA para detecção  
32 do fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa). Foram coletadas 3 amostras de sangue

1 contendo 0,5 ml cada uma, sendo distribuídas em 3 tubos de coleta com esta  
2 mesma capacidade, sendo um tubo contendo EDTA, para realização do  
3 hemograma, e outros dois tubos com gel separador, para obtenção de soro para  
4 análise imunológica. Uma pequena quantidade de sangue de cada animal foi  
5 colocada sobre uma lâmina limpa para realização do esfregaço sanguíneo, que foi  
6 imediatamente corado com panóptico rápido e deixado exposto ao ambiente para  
7 secagem natural das lâminas. Estas lâminas foram utilizadas para análise diferencial  
8 dos leucócitos encontrados nos exames de hemograma.

9 Os tubos com sangue para análise sorológica foram colocados na centrífuga  
10 específica para micro tubos, da marca VACUPLAST<sup>®</sup>, sendo centrifugados de modo  
11 contínuo durante 10 minutos, com velocidade de 4 mil rotações por minuto (rpm).  
12 Após a centrifugação, o soro sobrenadante foi coletado com pipetas graduadas em  
13 0,5 ml, com a utilização de micro ponteiros individualizadas para cada amostra e  
14 então foi colocado em eppendorfs identificados individualmente, com grupo e  
15 número de cada animal escrito em cada frasco. Os frascos tipo eppendorf foram  
16 então acondicionados em freezer específico para material biológico, com  
17 temperatura constante de -80°C.

18 O material para análise imunológica (TNF-alfa) permaneceu sob congelamento a  
19 -80°C durante todo o tempo até que fosse realizada a análise pelo teste ELISA,  
20 através de espectrofotometria. Os testes de ELISA foram realizados com o uso de  
21 placa pré-sensibilizada para TNF-alfa de ratos FINE TEST<sup>®</sup>, da empresa WUHAN  
22 FINE BIOTECH CO LTD<sup>®</sup>. O método de detecção utilizado foi o ELISA sanduíche,  
23 em duplicata. Os protocolos estabelecidos para a realização dos testes foram  
24 rigorosamente obedecidos até se obter a sensibilização da placa de TNF-alfa para a  
25 leitura dos dados, através do leitor automático de microplacas em absorbância  
26 BIOTEK 800 TS<sup>®</sup>. Os dados da leitura foram compilados para uma planilha  
27 eletrônica, para posterior análise estatística.

28 Os hemogramas completos foram realizados por equipamento automático  
29 BC5000<sup>®</sup>, da empresa MINDRAY<sup>®</sup>, configurado para análise de sangue de ratos. A  
30 amostra foi aspirada pelo aparelho que fez a leitura de toda a parte celular vermelha  
31 e das células brancas e plaquetas. Para este experimento, foram consideradas a  
32 contagem global de leucócitos e contagem de plaquetas.

1 As lâminas com esfregaço sanguíneo de cada animal foram analisadas por  
2 observador com experiência em patologia clínica, mas que desconhecia os  
3 tratamentos aplicados a cada grupo (cego). Os resultados foram tabulados  
4 juntamente com os dados do hemograma completo e colocados em planilha para  
5 posterior análise estatística.

6 Ao final de todos os procedimentos de coleta de dados hemodinâmicos, imagens  
7 e sangue para análise hematológica e imunológica, os animais sofreram eutanásia  
8 com aplicação intravenosa (na veia jugular) de tiopental sódico 2,5% (25 mg.kg<sup>-1</sup>),  
9 seguido da aplicação intravenosa de cloreto de potássio 10% (25 mEq.kg<sup>-1</sup>),  
10 confirmando-se então o óbito de cada animal. Os animais foram descartados  
11 seguindo os padrões estabelecidos pela Comissão de Ética e Uso de Animais  
12 (CEUA) da UENF.

13

### 14 **3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

15

16 Os dados foram analisados estatisticamente, através do programa SPSS®,  
17 versão 18, com auxílio do Laboratório de Estatística Aplicada da Universidade  
18 Federal Fluminense. Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, para comparação entre  
19 os 6 grupos, e, quando surgisse algum dado com diferença estatisticamente  
20 significativa ( $p < 0,05$ ), aplicava-se o teste de Mann-Whitney, para a comparação  
21 dos grupos em pares (2 a 2), identificando a comparação onde se encontra esta  
22 significância estatística. Os resultados das análises estatísticas, de acordo com o  
23 objeto em estudo, estão apresentados a seguir.

24

25

26

27

28

29

## 4. RESULTADOS

Os resultados, obtidos a partir da metodologia descrita, estão distribuídos de acordo com o material coletado durante o experimento e divididos aqui de acordo com o objeto de análise de cada variável. Para facilitar a interpretação dos resultados, segue abaixo novamente a descrição de cada grupo do experimento, na tabela 1 abaixo.

**Tabela 1: Distribuição dos animais nos grupos de controle e tratamento**

GRUPO 1	CONTROLE
GRUPO 2	SHAM
GRUPO 3	SEPSE
GRUPO 4	SEPSE + VITAMINA C
GRUPO 5	SEPSE + DEXMEDETOMIDINA
GRUPO 6	SEPSE + ERITROPOETINA

### 4.1 HEMOGRAMAS

Para a análise dos hemogramas coletados durante o experimento, foram considerados, para o estudo da sepse, os parâmetros de leucometria global (contagem total de leucócitos, expressa em número absoluto), teor de hemoglobina (expresso em gramas por decilitro) e contagem de plaquetas (expressa em número absoluto vezes mil).

Na análise dos valores de leucometria global, houve significância estatística ( $p < 0,003$ ) pelo teste de Mann-Whitney, na comparação do grupo 1 com os grupos 3 e 6; do grupo 2 com os grupos 3 e 6; do grupo 3 com os grupos 4 e 5; do grupo 4 com o grupo 6; do grupo 5 com o grupo 6. Os valores de hemoglobina apresentaram diferença significativa na comparação do grupo 1 com os grupos 3, 5 e 6; do grupo 2

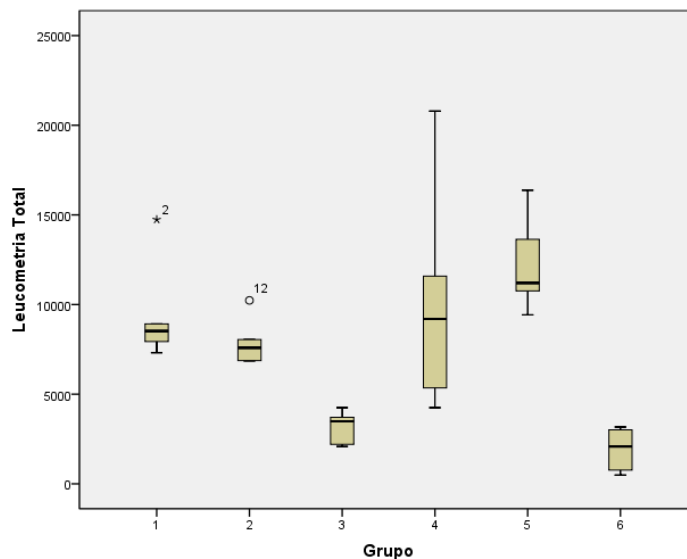
1 com o grupo 3. Na análise dos valores de contagem de plaquetas. não foi observada  
2 diferença estatística. As diferenças podem ser observadas na tabela 2 abaixo.

3 **Tabela 2: Médias com desvio padrão dos valores de leucometria global (absoluto),**  
4 **hemoglobina (g/dl) e contagem de plaquetas ( $\times 10^3$ ).**

Análise	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
Leucometria	9325	7863,33	3201,67	10061,67	12101,66	1933,33
	± 2718,56 <sup>c,f</sup>	± 1250,24 <sup>c,f</sup>	± 574,24 <sup>a,b,d,e</sup>	± 6012,97 <sup>c,f</sup>	± 2504,29 <sup>c,f</sup>	± 1158,35 <sup>a,b,d,e</sup>
Hemoglobina	10,81	14,83	15,53	14,65	16,45	17,81
	± 1,47 <sup>c,e,f</sup>	± 2,47 <sup>c</sup>	± 1,62 <sup>a,b</sup>	± 4,20	± 1,54 <sup>a</sup>	± 2,58 <sup>a</sup>
Plaquetas	499,83	760,67	576	631,17	625,50	713,17
	± 205,76	± 224	± 185,73	± 140,09	± 79,66	± 125,42

5 **Em a: diferença estatística com o grupo 1; b: diferença estatística com o grupo 2; c: diferença**  
6 **estatística com o grupo 3; d: diferença estatística com o grupo 4; e: diferença estatística com o**  
7 **grupo 5; f: diferença estatística com o grupo 6 ( $p < 0,003$ ) com teste de Mann-Whitney.**

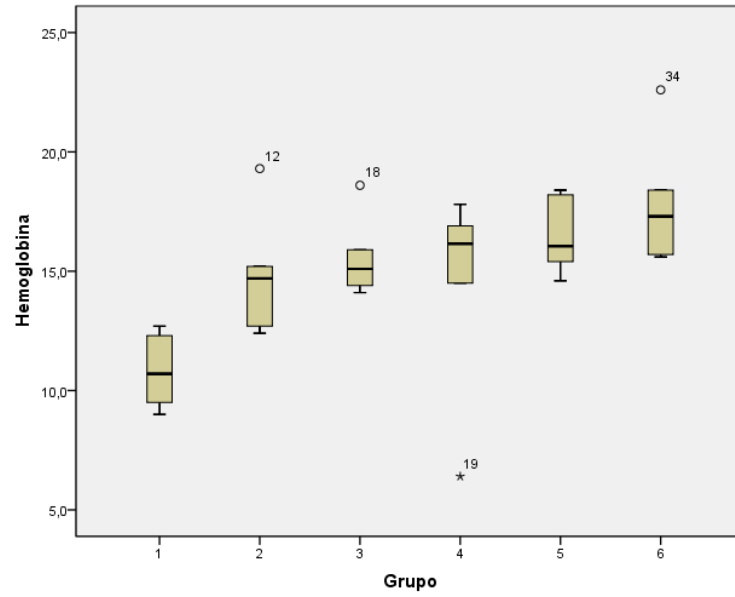
8 A representação gráfica das diferenças estatísticas dos valores de  
9 leucometria global, teor de hemoglobina e contagem de plaquetas entre os grupos  
10 testados aparecem nas figuras 14, 15 e 16 abaixo.



11

12 **Figura 14: Representação gráfica por boxplot dos valores de leucometria global entre os**  
13 **grupos testados.**

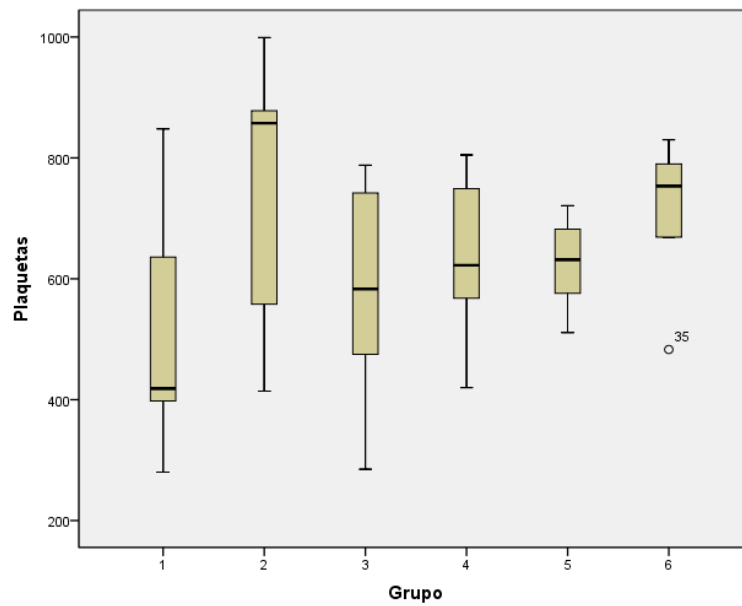
14



1

2 **Figura 15: Representação gráfica por boxplot dos valores de teor de hemoglobina entre os**  
 3 **grupos testados.**

4



5

6 **Figura 16: Representação gráfica por boxplot dos valores de contagem de plaquetas entre os**  
 7 **grupos testados.**

8

9

10

11



## 4.2 PRESSÃO ARTERIAL

Para análise dos dados obtidos de pressão arterial invasiva, foram considerados os seguintes parâmetros: pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, pressão arterial média e pressão de pulso, todas expressas em milímetros de mercúrio (mmHg). Foram considerados os valores médios obtidos em todo o período de monitoração (5 minutos), de acordo com o programa Labchart, da AD INSTRUMENTS LTD®.

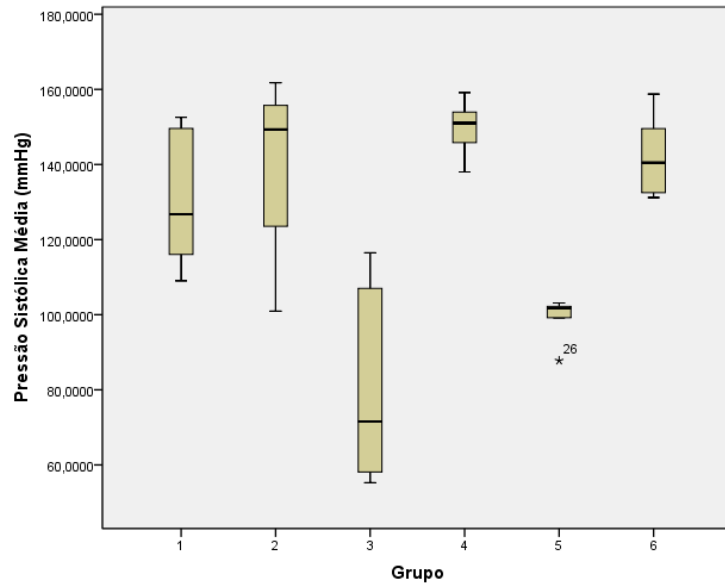
Na análise dos valores de pressão arterial sistólica, houve significância estatística ( $p < 0,003$ ) pelo teste de Mann-Whitney, na comparação do grupo 1 com o grupo 5; do grupo 3 com os grupos 4 e 6; do grupo 4 com o grupo 5; do grupo 5 com o grupo 6. Na análise dos valores de pressão arterial diastólica, houve significância estatística na comparação do grupo 3 com os grupos 4 e 6; do grupo 4 com o grupo 5; do grupo 5 com o grupo 6. Na análise dos valores de pressão arterial média, houve diferença estatística na comparação do grupo 1 com o grupo 5; do grupo 3 com os grupos 4 e 6; do grupo 4 com o grupo 5; do grupo 5 com o grupo 6. Na análise dos valores de pressão de pulso, houve significância estatística na comparação do grupo 1 com o grupo 3; do grupo 2 com os grupos 3 e 5; do grupo 3 com os grupos 4, 5 e 6. Entre os demais grupos, não foi observada diferença estatística. As diferenças podem ser observadas na tabela 3 abaixo.

**Tabela 3: Médias com desvio padrão dos valores de pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e pressão de pulso (PP) em mmHg.**

PRESSÕES	PAS	PAD	PAM	PP
GRUPO 1	130,12 ± 18,38 <sup>e</sup>	99,85 ± 23,12	115,47 ± 20,71 <sup>e</sup>	30,27 ± 6,85 <sup>c</sup>
GRUPO 2	140,09 ± 23,21	115,70 ± 21,69	128,10 ± 21,78	29,08 ± 0,88 <sup>c,e</sup>
GRUPO 3	77,99 ± 25,92 <sup>d,f</sup>	65,58 ± 25,50 <sup>d,f</sup>	71,42 ± 24,78 <sup>d,f</sup>	13,57 ± 1,27 <sup>a,b,d,e,f</sup>
GRUPO 4	149,83 ± 7,44 <sup>c,e</sup>	129,02 ± 5,40 <sup>c,e</sup>	140,82 ± 5,76 <sup>c,e</sup>	20,81 ± 5,41 <sup>c</sup>
GRUPO 5	99,28 ± 5,79 <sup>a,d,f</sup>	76,02 ± 5,65 <sup>d,f</sup>	87,36 ± 5,45 <sup>a,d,f</sup>	23,26 ± 3,91 <sup>b,c</sup>
GRUPO 6	142,16 ± 10,98 <sup>c,e</sup>	111,89 ± 12,31 <sup>c,e</sup>	126,19 ± 11,11 <sup>c,e</sup>	30,26 ± 1,94 <sup>c</sup>

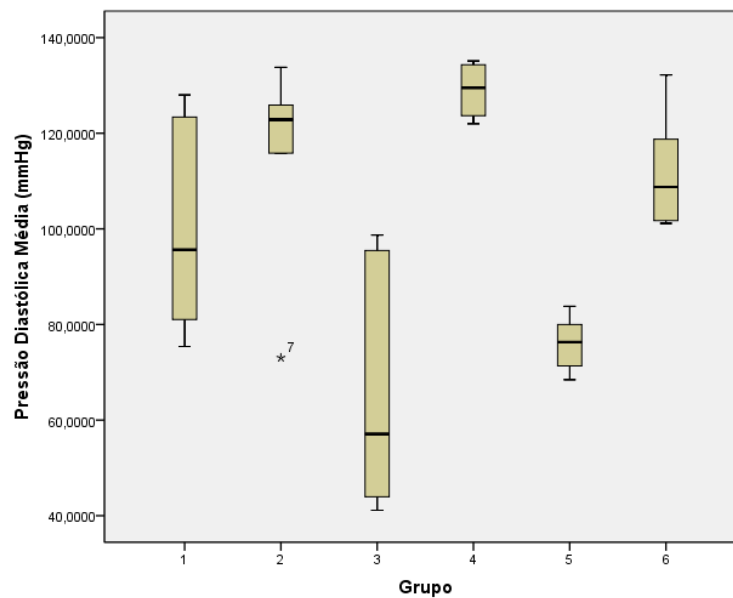
Em a: diferença estatística com o grupo 1; b: diferença estatística com o grupo 2; c: diferença estatística com o grupo 3; d: diferença estatística com o grupo 4; e: diferença estatística com o grupo 5; f: diferença estatística com o grupo 6 ( $p < 0,003$ ) com teste de Mann-Whitney.

1 A representação gráfica das diferenças estatísticas dos valores de pressão  
 2 arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média  
 3 (PAM) e pressão de pulso (PP) entre os grupos testados aparecem nas figuras 17,  
 4 18, 19 e 20 abaixo.



5

6 **Figura 17: Representação gráfica por boxplot dos valores de PAS entre**  
 7 **os grupos testados.**

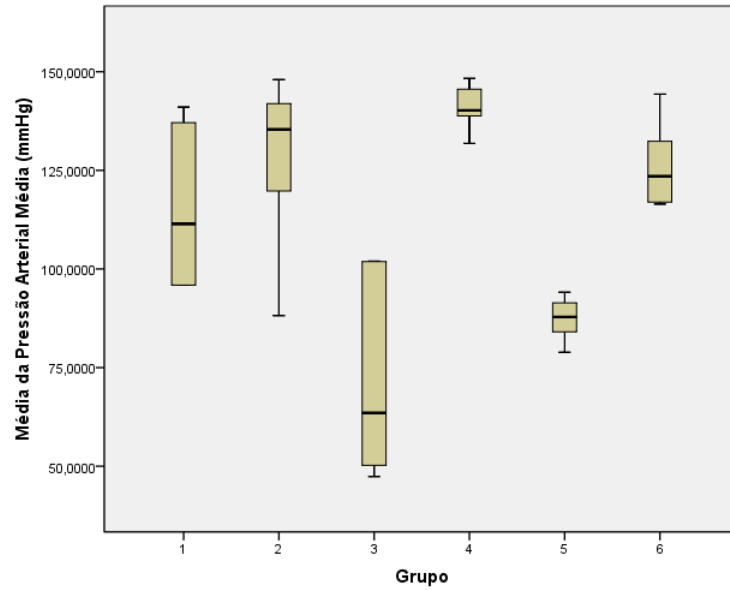


8

9 **Figura 18: Representação gráfica por boxplot dos valores de PAD**  
 10 **entre os grupos testados.**

11

12



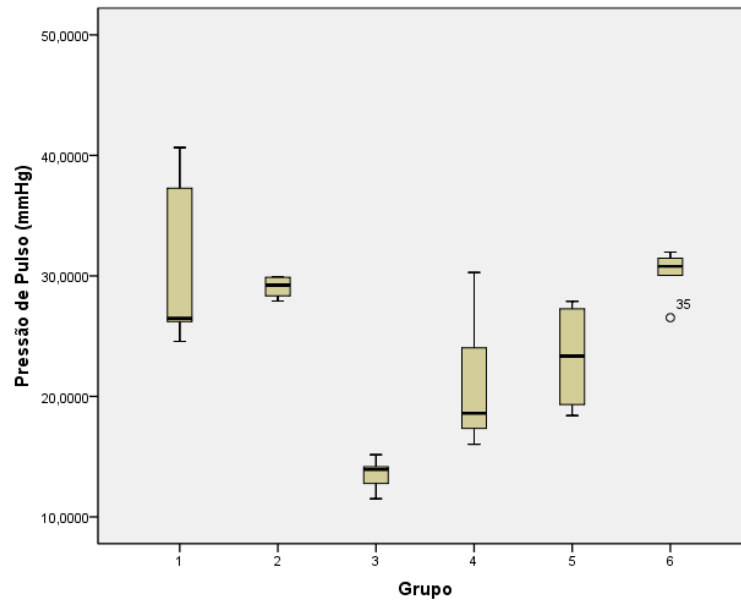
1

2

3

4

**Figura 19: Representação gráfica por boxplot dos valores de PAM entre os grupos testados.**



5

6

7

8

9

10

11

**Figura 20: Representação gráfica por boxplot dos valores de PP entre os grupos testados.**

### 4.3 ECOCARDIOGRAMAS

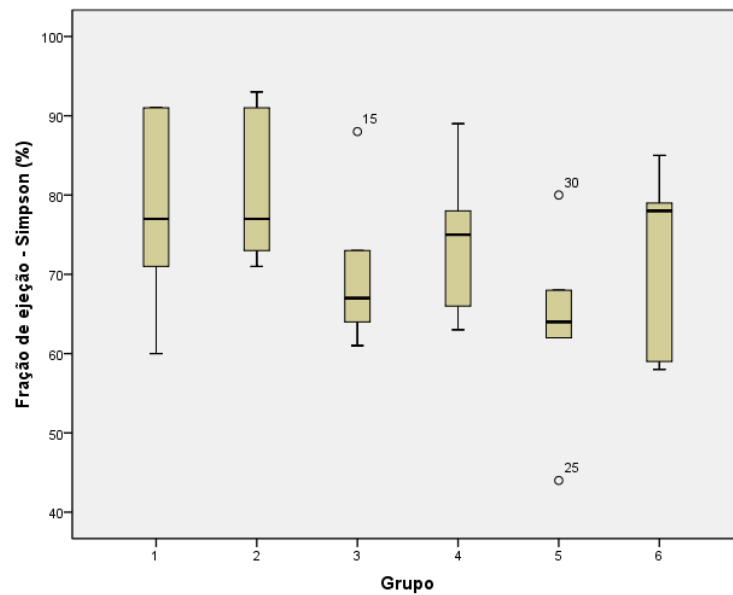
Para a análise dos dados obtidos com os exames de ecocardiograma, foram considerados os seguintes parâmetros: fração de ejeção calculada pelo método de Simpson, expressa em percentual (Fes%), fração de ejeção calculada pelo método de Teicholz, expressa em percentual (Fet%), fração de encurtamento calculada pelo método de Teicholz, expressa em percentual (FS%), medida da câmara ventricular esquerda em diástole, expressa em milímetros (CvEd), medida da câmara ventricular esquerda em sístole, expressa em milímetros (CvEs) e tempo de relaxamento isovolumétrico, expresso em milissegundos (TRIV). Na análise dos valores de mensuração da câmara ventricular esquerda em sístole (CvEs), houve significância estatística ( $p < 0,003$ ), pelo teste de Mann-Whitney, na comparação do grupo 1 com o grupo 5; do grupo 2 com o grupo 5; na análise dos valores de tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV), houve diferença significativa na comparação do grupo 1 com o grupo 3; do grupo 2 com os grupos 3 e 4; do grupo 3 com o grupo 5. Na análise dos valores de fração de ejeção por Simpson (Fes%), fração de ejeção por Teicholz (Fet%), fração de encurtamento por Simpson (FS%) e mensuração da câmara ventricular esquerda em diástole, não foram observadas diferenças estatísticas. As diferenças podem ser observadas na tabela 4 abaixo.

**Tabela 4: Médias com desvio padrão dos valores de fração de ejeção Simpson (Fes%), fração de ejeção Teicholz (Fet%), fração de encurtamento (FS%), câmara ventricular esquerda em sístole (CvEs), câmara ventricular esquerda em diástole (CvEd) e tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV).**

Análise	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
Fes%	77,83 ± 12,09	80,33 ± 9,54	70 ± 9,85	74,33 ± 9,33	63,67 ± 11,63	72,83 ± 11,42
Fet%	85,50 ± 17,14	86,17 ± 17,38	87,17 ± 6,3	88,83 ± 11,47	73 ± 7,04	85,33 ± 8,71
FS%	54 ± 16,33	54,67 ± 16,35	52,50 ± 8,55	57,17 ± 13,37	37,17 ± 6,94	50,50 ± 10,78
CvEs	2,21 ± 0,40 <sup>e</sup>	2,15 ± 0,49 <sup>e</sup>	2,67 ± 0,69	2,41 ± 1,02	3,75 ± 0,67 <sup>a,b</sup>	2,52 ± 1,09
CvEd	5,01 ± 0,96	4,93 ± 0,99	5,57 ± 0,64	5,17 ± 0,74	5,97 ± 1,18	5,02 ± 1,30
TRIV	28 ± 3,89 <sup>c</sup>	33,67 ± 3,93 <sup>c,d</sup>	13 ± 2,19 <sup>a,b,e</sup>	20,5 ± 3,93 <sup>b</sup>	33,33 ± 5,16 <sup>c</sup>	20,33 ± 7,25

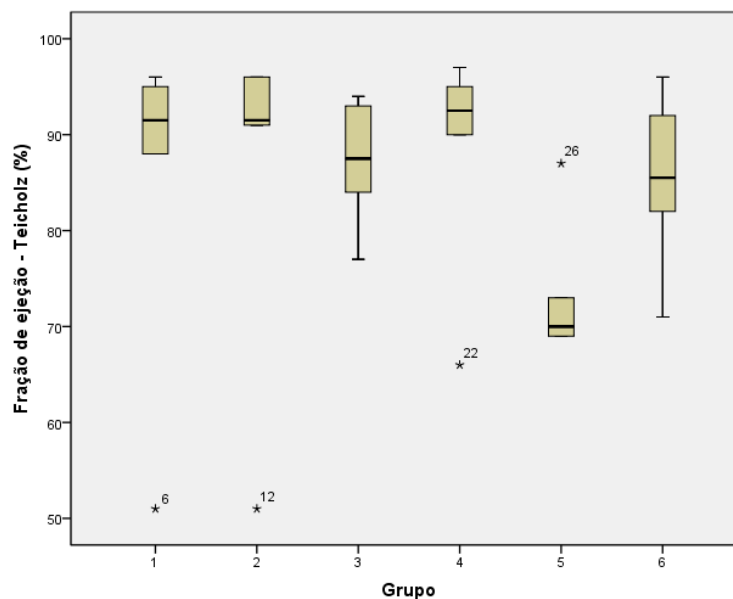
Em a: diferença estatística com o grupo 1; b: diferença estatística com o grupo 2; c: diferença estatística com o grupo 3; d: diferença estatística com o grupo 4; e: diferença estatística com o grupo 5 ( $p < 0,003$ ) com teste de Mann-Whitney.

1 A representação gráfica das diferenças estatísticas dos valores de fração de  
 2 ejeção calculada pelo método de Simpson (Fes%), fração de ejeção calculada pelo  
 3 método de Teicholz (Fet%), fração de encurtamento calculada pelo método de  
 4 Teicholz (FS%), medida da câmara ventricular esquerda em diástole (CvEd), medida  
 5 da câmara ventricular esquerda em sístole (CvEs) e tempo de relaxamento  
 6 isovolumétrico (TRIV) entre os grupos testados aparecem nas figuras 21, 22, 23, 24,  
 7 25 e 26 abaixo.



8

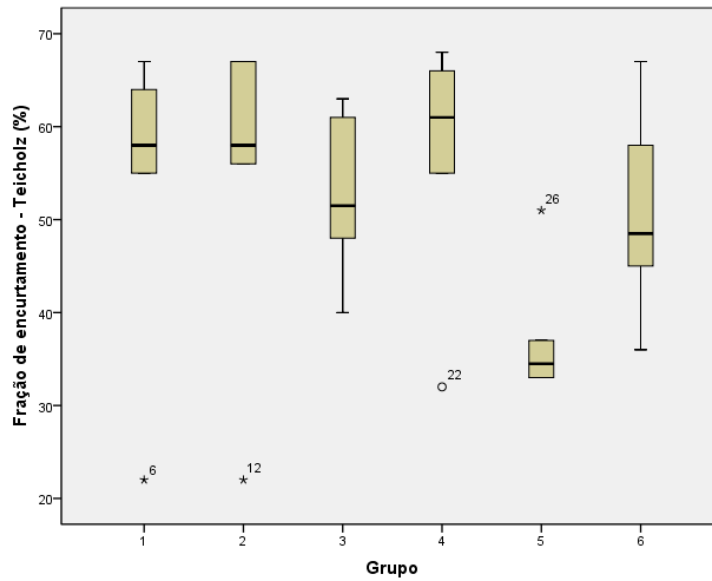
9 **Figura 21: Representação gráfica por boxplot dos valores de fração de ejeção por Simpson**  
 10 **entre os grupos testados.**



11

12 **Figura 22: Representação gráfica por boxplot dos valores de fração de ejeção por Teicholz**  
 13 **entre os grupos testados.**

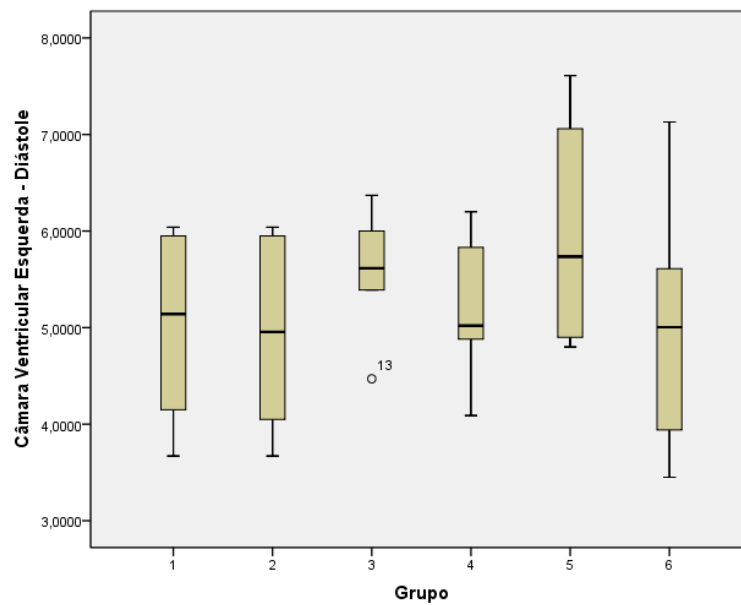
1



2

3 **Figura 23: Representação gráfica por boxplot dos valores de fração de encurtamento por**  
 4 **Simpson entre os grupos testados.**

5

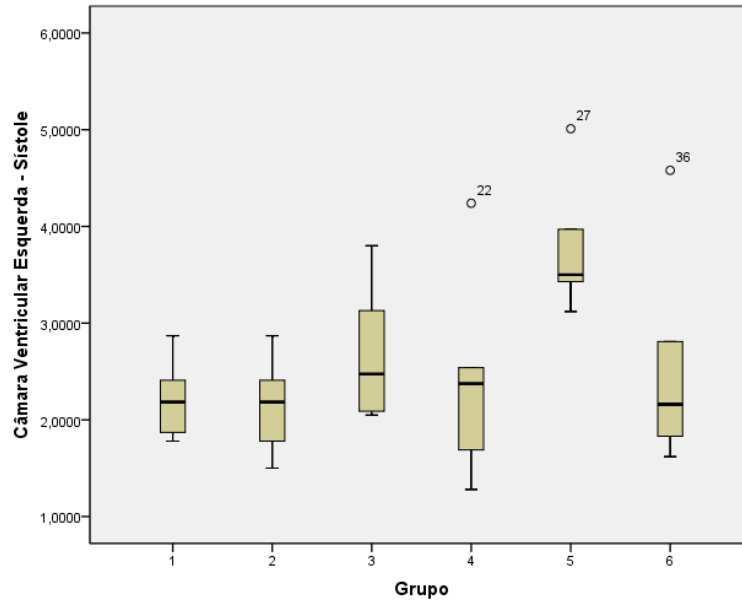


6

7 **Figura 24: Representação gráfica por boxplot dos valores de mensuração da câmara**  
 8 **ventricular esquerda em diástole entre os grupos testados.**

9

10

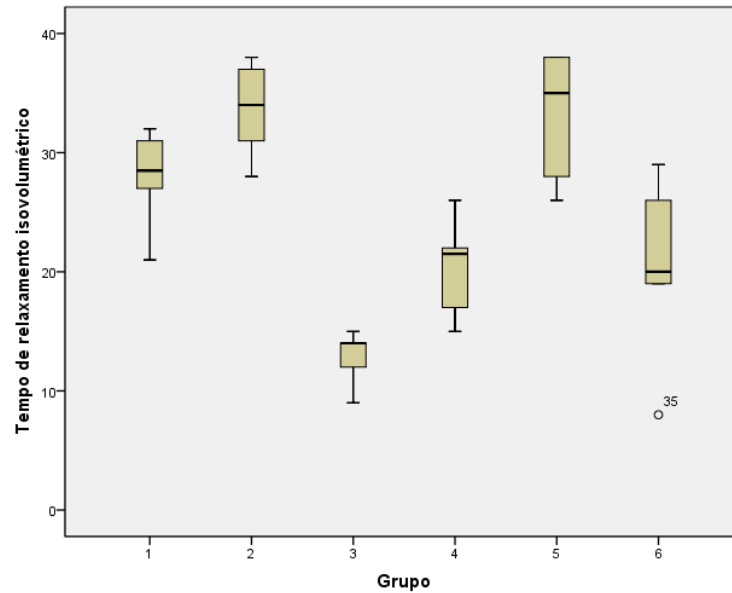


1

2 **Figura 25: Representação gráfica por boxplot dos valores de mensuração da câmara**  
 3 **ventricular esquerda em sistole entre os grupos testados.**

4

5



6

7 **Figura 26: Representação gráfica por boxplot em boxplot dos valores de tempo de relaxamento**  
 8 **isovolumétrico entre os grupos testados.**

9

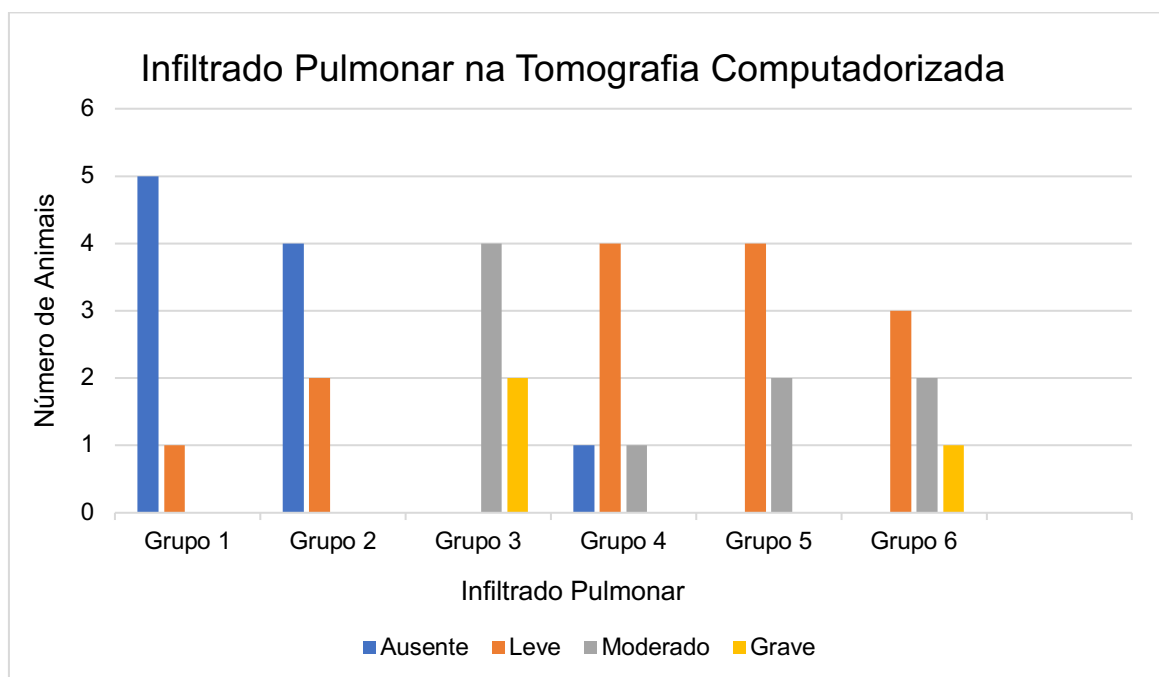
10

11

#### 4.4 TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA

As imagens coletadas pelo aparelho de tomografia computadorizada foram analisadas por um observador independente com larga experiência na área de diagnóstico por imagem. Como já detalhado na metodologia, os padrões de imagem, em relação aos infiltrados pulmonares, foram divididos em: ausente, infiltração leve, infiltração moderada e infiltração grave.

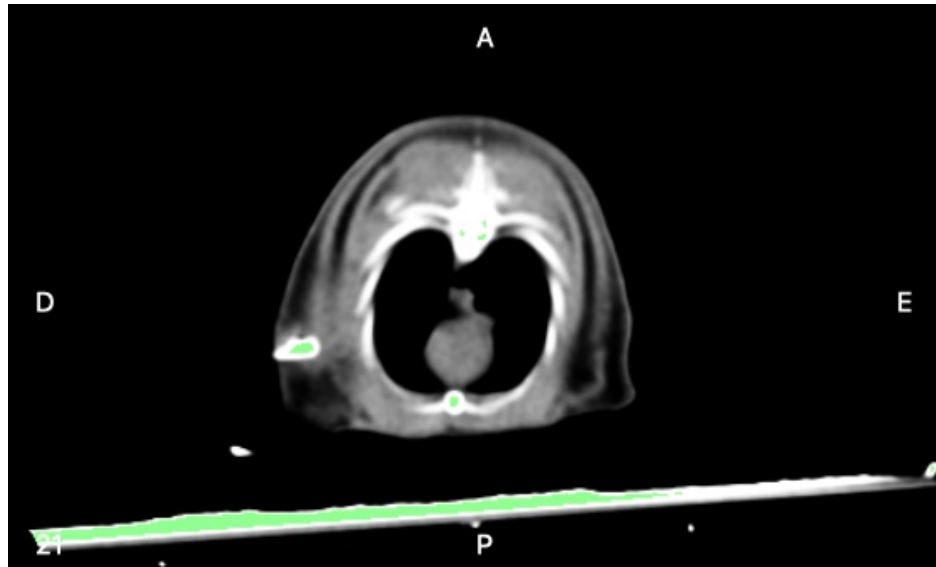
Na análise estatística dos dados de infiltrados pulmonares, foi observada significância estatística ( $p < 0,003$ ), pelo teste de Mann-Whitney, na comparação entre os grupos 1 e 3 e entre os grupos 2 e 3. Nos demais grupos, não se observou diferença estatística na observação dos dados.



**Figura 27: Descrição das alterações no parênquima pulmonar entre os grupos testados.**

Como referência, as imagens dos padrões de infiltrados pulmonares presente nos animais testados, está exemplificada nas figuras 28 a 31, exibidas abaixo.



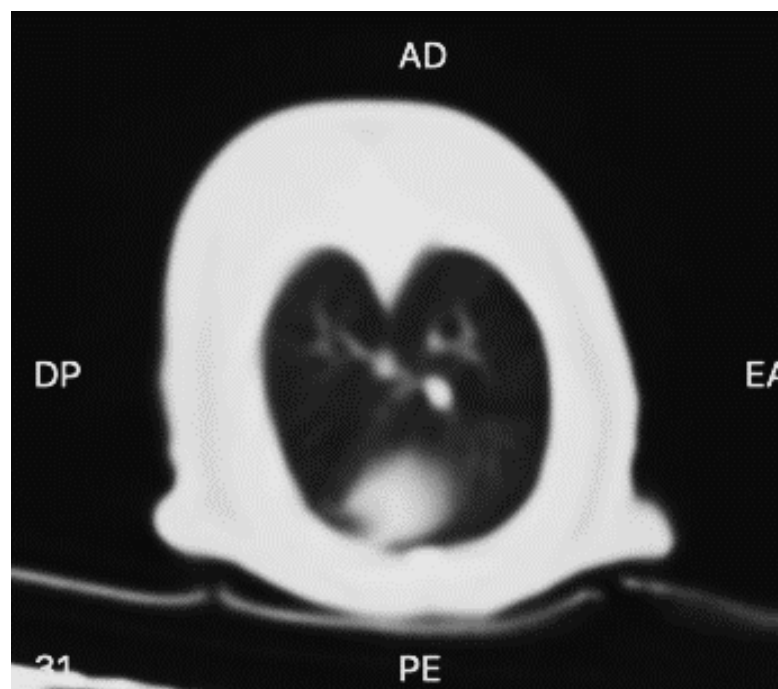


1

2 **Figura 28: Corte axial reconstituído do animal 2 do grupo 1 pelo programa InVesalius. Ausência de infiltrado pulmonar.**

3

4

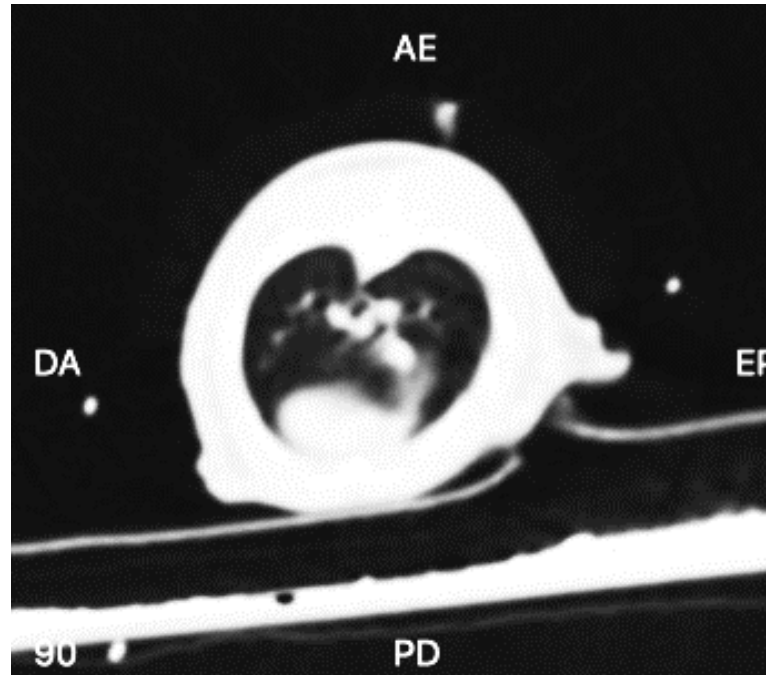


5

6 **Figura 29: Corte axial reconstituído do animal 3 do grupo 2 pelo programa InVesalius. Infiltrado pulmonar leve.**

7

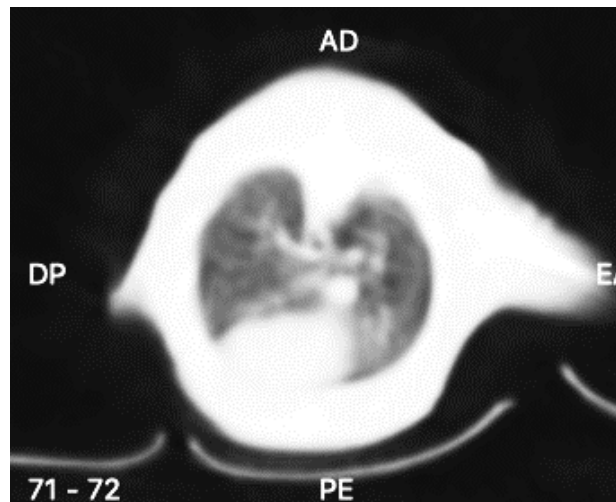
8



1

2 **Figura 30: Corte axial reconstituído do animal 2 do grupo 5 pelo programa InVesalius. Infiltrado**  
 3 **pulmonar moderado.**

4



5

6 **Figura 31: Corte axial reconstituído do animal 6 do grupo 3 pelo programa InVesalius. Infiltrado**  
 7 **pulmonar grave.**

8

#### 9 **4.5 TNF-ALFA**

10

11 Os dados para análise do mediador inflamatório fator de necrose tumoral alfa  
 12 (TNF-alfa) foram coletados após a realização dos protocolos instruídos pela  
 13 empresa WUHAN FINE BIOTECH CO LTD®, e analisados pelo equipamento de  
 14 leitura automática de microplacas em absorvância BIOTEK 800 TS®. Os valores

1 obtidos pelo equipamento foram expressos em picogramas por mililitro (pg/ml),  
2 tabulados e distribuídos e as médias distribuídas na tabela 5.

3 Na análise dos valores de TNF-alfa houve significância estatística ( $p < 0,003$ )  
4 na comparação do grupo 1 com os grupos 3, 4, 5 e 6; do grupo 2 (sham) com os  
5 grupos 3, 4, 5 e 6; do grupo 3 com o grupo 4 e com o grupo 5. As diferenças podem  
6 ser observadas na tabela 5 abaixo.

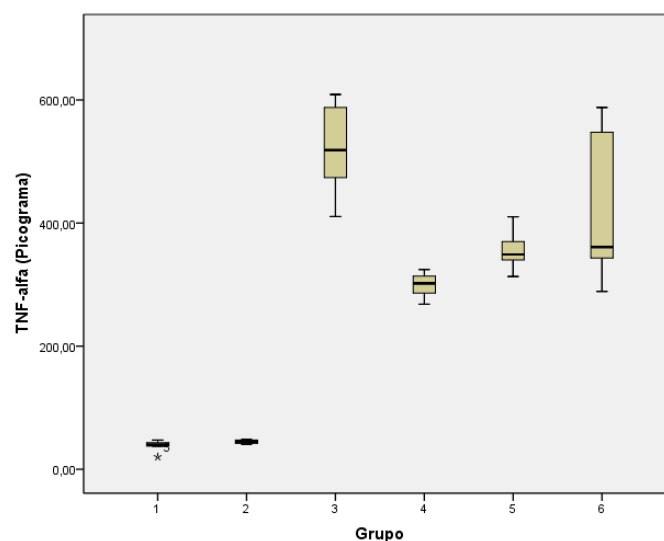
7 **Tabela 5: Médias com desvio padrão dos valores de picogramas por ml de TNF alfa.**

GRUPO	MÉDIA
1	38,08 ± 9,40 <sup>c,d,e,f</sup>
2	44,83 ± 2,80 <sup>c,d,e,f</sup>
3	519,69 ± 72,90 <sup>a,b,d,e</sup>
4	299,48 ± 20,28 <sup>a,b,c</sup>
5	355,25 ± 32,88 <sup>a,b,c</sup>
6	414,89 ± 121,85 <sup>a,b</sup>

8 Em a: diferença estatística com o grupo 1; b: diferença estatística com o  
9 grupo 2; c: diferença estatística com o grupo 3; d: diferença estatística  
10 com o grupo 4; e: diferença estatística com o grupo 5; f: diferença  
11 estatística com o grupo 6 ( $p < 0,003$ ) com teste de Mann-Whitney.

12

13 A representação gráfica das diferenças estatísticas dos valores de TNF-alfa  
14 entre os grupos testados aparece na figura 32 abaixo.



15

16 **Figura 32: Representação gráfica por boxplot dos valores de TNF-alfa entre os grupos**  
17 **testados.**

18

## 5. DISCUSSÃO

A sepse continua sendo um enorme desafio clínico e o bom entendimento de sua fisiopatologia e progressão é fundamental para a investigação da doença. Para a investigação dos eventos relacionados à sepse, vários modelos experimentais têm sido desenvolvidos, sendo o mais frequentemente utilizado o modelo de ligadura e perfuração (punção) cecal (CLP) em roedores. Neste modelo, a indução da sepse acontece através de um foco infeccioso polimicrobiano formado dentro da cavidade abdominal, seguido de translocação bacteriana para a circulação sanguínea e posterior resposta inflamatória sistêmica. Evidências consistentes demonstram que a gravidade da sepse induzida tem relação direta com a extensão da ligação cecal (RITTIRSCH et al., 2008). Nosso experimento seguiu fielmente todo o protocolo descrito por RITTIRSCH e seus colaboradores, para a realização da ligadura e punção cecal em ratos, com o objetivo de não haver diferenças importantes no estabelecimento da condição séptica nos ratos, mesmo com maior risco de óbito nos animais testados, dentro das primeiras 24 horas de indução da sepse.

Um estudo de SINGLETON e WISCHMEYER, em 2003, demonstrou que a posição da ligadura cecal era um fator determinante sobre a inflamação sistêmica e, conseqüentemente, sobre os níveis de TNF-alfa e IL-6, em ratos submetidos à CLP. Este estudo mostrou que animais que eram submetidos à CLP onde mais de 35% da área do ceco era ligada desenvolviam sepse em curto espaço de tempo, podendo levar ao óbito em poucos dias. Ainda assim, já nas primeiras 24 a 48 horas, o rato já se apresentava com os sinais clínicos da sepse, como pelos arrepiados, taquicardia, taquipneia, febre e prostração. O calibre da agulha usada na punção cecal também parecia ter influenciado no resultado, sendo indicada a punção com agulha calibre 20. Nosso experimento seguiu rigorosamente estes protocolos, também corroborado por outros estudos, inclusive o de RITTIRSCH e colaboradores, com o objetivo de mimetizar os resultados alcançados, dando padrão confiável aos resultados obtidos.

Os resultados obtidos com a análise dos níveis de fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) indicam claramente a importância que esta citocina tem na modulação da resposta inflamatória nos eventos da sepse. Em nosso experimento, os animais submetidos à sepse, tanto os que receberam tratamento quanto os que não receberam (grupos 3 a 6), apresentaram índices de TNF-alfa muito mais

1 elevados que os grupos usados como controle (1 e 2). Este resultado vai de acordo  
2 com os resultados indicados em vários modelos experimentais para indução da  
3 sepse, como publicado por SINGLETON e WISCHMEYER em 2003. Outro estudo  
4 de SMITH III e colaboradores em 1993 demonstrou que, mesmo quando a sepse é  
5 induzida por lipopolissacarídeos, os valores de TNF-alfa aumentam sensivelmente  
6 em curto espaço de tempo, comprovando a participação fundamental desta citocina  
7 inflamatória nos eventos que desencadeiam a sepse.

8 Ainda em relação aos mediadores inflamatórios, o grupo séptico apresentou  
9 diferenças estatísticas significantes também com os grupos 4 e 5. Isto indica que a  
10 vitamina C e a dexmedetomidina foram eficientes em modular a resposta  
11 inflamatória e reduzir os índices da citocina inflamatória TNF-alfa nos animais  
12 tratados destes grupos. Porém não houve este mesmo resultado de melhora quando  
13 se comparou o grupo séptico com o grupo tratado com eritropoetina.

14 Estes resultados estão de acordo com os achados encontrados por diversos  
15 autores. KAWADE e colaboradores (2018) demonstraram que a ingestão diária de  
16 ácido ascórbico (vitamina C) atenuou os efeitos inflamatórios em ratos com sepse  
17 induzida por lipopolissacarídeos, utilizando 3000 mg/Kg por via oral. KIM e LEE  
18 (2004) também demonstraram que os níveis de TNF-alfa e cicloxigenase-2 (COX-2)  
19 reduziram após administração de vitamina C em ratos sépticos submetidos à CLP,  
20 através da redução do estresse oxidativo e da peroxidação lipídica. Estes mesmos  
21 pesquisadores publicaram outro estudo em 2006 que demonstrou a eficiência da  
22 vitamina C e da vitamina E em melhorar o metabolismo hepático em função das  
23 desordens causadas sobre o citocromo microssomal hepático P450 que ocorrem  
24 durante a sepse. Neste estudo, a expressão do TNF-alfa também foi reduzida no  
25 grupo que recebeu vitamina C e vitamina E.

26 Vários estudos demonstraram a eficiência da dexmedetomidina em reduzir a  
27 mediação inflamatória causada por citocinas e outros mediadores, especialmente o  
28 TNF-alfa. Um estudo de XU e colaboradores (2013) mostrou que a  
29 dexmedetomidina foi eficiente em reduzir os níveis de IL-6 e TNF-alfa em ratos  
30 submetidos à sepse por CLP, bem como reduziu a expressão da proteína B1 do  
31 grupo de alta mobilidade (HMGB1) que se liga a receptores TLR2 e TLR4,  
32 contribuindo para o aumento de mortalidade. Outros estudos obtiveram resultados  
33 semelhantes (DHAMANI et al., 2005; GU et al., 2011). Em 2016, LIU e

1 colaboradores demonstraram que a dexmedetomidina foi capaz de reduzir os níveis  
2 de IL-6 e TNF-alfa em ratos sépticos por lipopolissacarídeos, tanto em níveis séricos  
3 como na expressão de mRNA, através da ativação da via anti-inflamatória  
4 colinérgica, através do bloqueio do receptor acetilcolina alfa-7 nicotínica (alfa  
5 7nAChR). CHANG e colaboradores, em 2013, também obtiveram os mesmos  
6 resultados. Uma pesquisa de ZHANG e colaboradores (2015) demonstrou que a  
7 dexmedetomidina reduziu os níveis de TNF-alfa e IL-6 tanto no plasma como na  
8 secreção alveolar de ratos submetidos à sepse por CLP, em grupos recebendo 5  
9 mcg/kg, 10 mcg/kg e outro grupo recebendo 10 mcg/kg de dexmedetomidina  
10 associada à iombina, para comprovar a eficácia da ação anti-inflamatória da  
11 dexmedetomidina. Todos estes estudos corroboram os achados em nosso  
12 experimento.

13 O único grupo de tratamento que não obteve resultados superiores ao grupo  
14 séptico foi o grupo tratado com eritropoetina. Não houve redução significativa nos  
15 níveis de TNF-alfa nos ratos tratados com EPO. Esse achado pode ser explicado por  
16 estudos anteriores. Já em 1991, FANDREY e JELKMANN produziram um  
17 experimento onde demonstraram que a interleucina 1 (IL-1) e o TNF-alfa reduziram  
18 a produção *in vitro* de EPO, suspeitando que a modulação inflamatória das citocinas,  
19 *in vivo*, seja responsável pela baixa produção de eritropoetina.

20 Outro estudo de NAGAYA e colaboradores (2014) demonstrou que o TNF-alfa  
21 bloqueou os efeitos neuroprotetores da EPO através do fator induzido por hipoxia 2-  
22 alfa (HIF 2-alfa), onde os efeitos negativos do TNF-alfa sobre a EPO se daria pela  
23 desestabilização da HIF 2-alfa através da via de sinalização do fator nuclear (NF)  $\kappa$ -  
24 B. Outro estudo de KALYANI e JAMIL (2015) que avaliou a resposta da anemia em  
25 pacientes com câncer, demonstrou que não foram os baixos níveis de EPO e de  
26 ferro que causaram a anemia e sim a baixa resposta da EPO na presença de níveis  
27 elevados de TNF-alfa e que esta interação deveria ser melhor estudada. Outro  
28 estudo de CLUZEAU e colaboradores, em 2017, demonstrou resultados  
29 semelhantes em pacientes com síndrome mielodisplásica, onde a expressão da  
30 proteína inflamatória S100A9 atua regulando a ação do TNF-alfa e da IL-1,  
31 prejudicando sensivelmente a eritropoiese em pacientes acometidos pela síndrome.

32 Em nosso experimento, acreditamos que a EPO não foi capaz de produzir  
33 seus desejados efeitos protetores do endotélio vascular, da mesma maneira que a

1 vitamina C e a dexmedetomidina, justamente pelos elevados níveis de TNF-alfa que  
2 podem começar a aparecer em até 6 horas após a indução da sepse em ratos, seja  
3 pelo modelo CLP ou pelo modelo induzido com lipopolissacarídeos.

4 Em relação à parte hematológica, é conhecido que a sepse é capaz de gerar  
5 mobilização leucocitária de forma aguda e abrangente, bem como propiciar  
6 agregação plaquetária intravascular, contribuindo para a redução dos valores destes  
7 componentes em pacientes acometidos pela síndrome. Tanto os critérios de  
8 definição da SIRS, utilizados até 2016, como os critérios de definição da sepse,  
9 adotados depois deste ano, envolvem a avaliação clínica para a suspeição da  
10 sepse, mas também a contagem de leucócitos e plaquetas nos pacientes triados  
11 para a doença (SINGER et al., 2016; RELLO et al., 2017). Estudos conduzidos por  
12 OGURA e colaboradores (2007) e SAKURAI e colaboradores (2017) evidenciaram  
13 processos de trombocitopenia em pacientes sépticos, bem como a mobilização  
14 leucocitária na fase inicial da síndrome.

15 Com os resultados obtidos, não foi possível observar diferença estatísticas na  
16 contagem de plaquetas entre os grupos de controle e os grupos onde a sepse foi  
17 induzida, com ou sem tratamento posterior. Porém, em alguns ratos dos grupos  
18 onde a sepse foi induzida, percebeu-se uma alteração nos valores de plaquetas,  
19 podendo sugerir uma mobilização precoce deste componente, resultado da  
20 inflamação endotelial, mas ainda sem formar trombos significativos que reduzissem  
21 a contagem global de plaquetas nos animais testados, como sugerido por alguns  
22 autores (ANGUS et al., 2013; SALOMÃO et al., 2019).

23 Em relação à hemoglobina, vários autores citaram que os níveis séricos deste  
24 componente celular podem estar elevados em pacientes sépticos, principalmente na  
25 fase inicial da doença. A deformação de eritrócitos causadas pela sepse pode  
26 acarretar hemólise subsequente e, desta forma, liberar mais hemoglobina livre da  
27 célula no plasma circulante. Com a sepse em estágios mais avançados, é comum  
28 observar anemia nos doentes através da continuidade do processo de deformação e  
29 hemólise. Estes níveis de hemoglobina livre da célula potencializam o dano  
30 endotelial, contribuindo para o aumento de mortalidade (JANZ et al., 2015; KUCK et  
31 al., 2018; EFFENBERGER-NEIDNICH et al., 2018;).

1           Nós não observamos alteração significativa entre os níveis de hemoglobina  
2 nos grupos onde a sepse foi induzida e nos grupos de tratamento, quando  
3 comparados ao grupo de controle e ao grupo sham. Apenas o grupo tratado com  
4 vitamina C não apresentou diferenças significativas quando comparado aos grupos 1  
5 e 2 (controle e sham) e isso pode sugerir que a vitamina C, mesmo no curto intervalo  
6 de 24 horas, foi capaz de manter os níveis de hemoglobina mais próximos da faixa  
7 de normalidade, indicando menor deformação eritrocitária e, conseqüentemente,  
8 menor aumento de permeabilidade endotelial. Isso ocorre pela ação antioxidante da  
9 vitamina C, causando melhor proteção ao endotélio. Este achado corrobora o estudo  
10 de KUCK e colaboradores em 2018, já associado à outros estudos que endossam a  
11 ação de proteção ao endotélio proporcionada pela vitamina C (BIELSALSKI et al.,  
12 2007; WU et al., 2008; FREY et al., 2009; HERNANDEZ et al., 2013; MORTENSEN  
13 et al., 2014).

14           A imunossupressão causada pela sepse é capaz de promover leucopenia  
15 importante nos doentes, embora a mobilização leucocitária também pode aparecer  
16 na forma de aumento do número de leucócitos, dependendo do potencial  
17 agravamento da lesão endotelial. Vários estudos demonstraram que a variação na  
18 leucometria global, seja a contagem para cima ou para baixo, tem relação com o  
19 aumento de mortalidade em pacientes sépticos. Inclusive, a presença de leucocitose  
20 ou leucopenia caracterizam, juntamente com outros sinais, a inflamação sistêmica  
21 endotelial (ANGUS et al., 2012; SINGER et al., 2016; SALOMÃO et al., 2019).

22           Em relação à contagem global de leucócitos, diferenças significativas foram  
23 encontradas entre os grupos de controle (1 e 2) com os grupos 3 e 6 (sepse e sepse  
24 + eritropoetina, respectivamente). Os animais desses grupos apresentaram uma  
25 importante leucopenia causada pela imunossupressão, indicando que a eritropoetina  
26 não foi capaz, isoladamente, de modular esta mobilização leucocitária,  
27 apresentando-se, inclusive em números absolutos, ainda pior do que o grupo onde  
28 apenas a sepse foi induzida. Os grupos de tratamento com vitamina C e com a  
29 dexmedetomidina também apresentaram diferenças significativas, quando  
30 comparados aos grupos onde a sepse foi apenas induzida e o grupo onde a  
31 eritropoetina foi aplicada como tratamento. Esses resultados vêm de encontro ao  
32 citado por alguns autores como SALOMÃO e colaboradores (2019), ANGUS e  
33 colaboradores (2013) e MARSHALL e colaboradores (2003), que relataram a



1 mobilização dos receptores endoteliais quando ocorre a identificação de um  
2 patógeno, ativando a cascata de coagulação e liberação de mediadores  
3 inflamatórios como TNF-alfa e IL-6 e este processo contribui de maneira efetiva  
4 sobre a mobilização de neutrófilos e proteínas inflamatórias para o espaço extra  
5 vascular.

6 Estes achados suportam a ideia que a vitamina C e a dexmedetomidina têm  
7 potencial elevado na proteção do endotélio, no que diz respeito à mobilização de  
8 leucócitos, bem como na inibição do processo de imunossupressão, também  
9 descrito por diversos autores (LEVINE et al., 2009; MAY et al., 2013; CAI et al.,  
10 2014; GAO et al., 2017). Outros autores como MARIK (2008 e 2017) e ZHOU (2012)  
11 sugeriram que o uso de hidrocortisona associada à vitamina C e à tiamina seria  
12 capaz de conferir mais proteção ao endotélio e menor extravasamento de conteúdo  
13 celular para o interstício.

14 Porém, em nosso estudo, a vitamina C aplicada isoladamente, foi capaz de  
15 reduzir a leucopenia, quando comparada ao grupo onde apenas a sepse foi  
16 induzida. A eritropoetina não mostrou esta capacidade de reduzir a mobilização  
17 leucocitária, quando comparada aos grupos de controle e aos grupos tratados com  
18 vitamina C e dexmedetomidina. Este achado pode ser considerado consistente com  
19 outros autores que pesquisaram a EPO em pacientes sépticos. Estes autores  
20 relataram que, em doses mais baixas, o efeito da EPO na resposta inflamatória é  
21 deletérios aos pacientes sépticos, mas, em doses mais elevadas, seu efeito  
22 aparenta ser de proteção do endotélio. Porém, no que diz respeito à mobilização  
23 leucocitária, a EPO não foi capaz de produzir efeitos benéficos nos animais testados  
24 (MORI et al., 2008; AOSHIBA et al., 2009; WU et al, 2010; ATES et al., 2015). Um  
25 estudo feito por EREN e colaboradores em 2012 também demonstrou que a  
26 eritropoetina é capaz de reduzir sensivelmente a contagem de células brancas na  
27 circulação, concordando com o que foi encontrado em nosso experimento.

28 Na análise comparativa dos valores obtidos com as pressões arteriais  
29 (sistólica, diastólica e média) e a pressão de pulso, é possível observar importantes  
30 variações em todas as variáveis citadas entre os grupos de controle e o grupo onde  
31 apenas a sepse foi induzida. Conforme relatado por diversos autores, a sepse é  
32 capaz de induzir uma vasodilatação importante nos pacientes acometidos pela  
33 doença, potencializada pela ação das espécies reativas de oxigênio (ROS) e do

1 óxido nítrico (NO) no endotélio dos pacientes sépticos. Estes eventos seriam  
2 responsáveis pela redução significativa da pressão arterial, especialmente sistólica e  
3 média, bem como na pressão de pulso, responsável pela perfusão dos tecidos mais  
4 distantes (ANGUS et al., 2013; LARSEN et al., 2017; SALOMÃO et al., 2019).

5 Segundo alguns pesquisadores (JACKSON et al., 1998; WU et al., 2002;  
6 MORTENSEN et al., 2014), a vitamina C, quando administrada em doses elevadas,  
7 inibe a expressão de iNOS e, com isso, reduz a inflamação do endotélio e,  
8 conseqüentemente a vasodilatação. Isso contribui de forma positiva para a melhora  
9 da perfusão tecidual e da pressão arterial em pacientes sépticos. Nós não  
10 percebemos uma sensível melhora nos valores de pressão arterial e de pressão de  
11 pulso no grupo que recebeu vitamina C após a indução da sepse, quando  
12 comparado ao grupo onde não houve nenhum tratamento.

13 Observamos que a dexmedetomidina não foi capaz de apresentar resultados  
14 superiores em relação às pressões arteriais, quando comparada com o grupo  
15 séptico sem tratamento. A ação da dexmedetomidina só mostrou melhora estatística  
16 em relação ao grupo séptico na avaliação da pressão de pulso. Da mesma forma,  
17 quando comparamos os efeitos pressóricos da dexmedetomidina com o grupo  
18 controle, com o grupo da vitamina C e com o grupo da eritropoetina, percebemos  
19 uma redução significativa dos níveis de pressão arterial. Este resultado contraria  
20 informações anteriores, onde alguns autores afirmam que a dexmedetomidina tem  
21 pouco efeito sobre a hemodinâmica. Porém estes mesmos autores trabalharam com  
22 a indução da sepse com ressuscitação volêmica ou com o uso concomitante com  
23 drogas vasopressoras, o que também pode ter contribuído para um resultado mais  
24 favorável (MEMIS et al., 2009; ZHANG et al., 2015; GÉLOEN et al., 2015;  
25 HERNÁNDEZ et al., 2016). Em nosso experimento, o grupo que recebeu  
26 dexmedetomidina não recebeu nenhum outro tipo de suporte hemodinâmico,  
27 podendo então explicar estas diferenças.

28 Em relação à eritropoetina, os valores de pressões artérias e pressão de  
29 pulso não mostraram diferença estatística significativa quando comparados aos  
30 valores dos grupos controle e *sham* e quando comparado ao grupo com  
31 dexmedetomidina. De outro modo, a eritropoetina apresentou diferenças  
32 significativas quando comparada à dexmedetomidina e ao grupo onde apenas a  
33 sepse foi induzida. Isso comprova o efeito protetor da eritropoetina, que atua

1 inibindo os processos de liberação de ROS, proteases e citocinas, inibindo o efeito  
2 de hipotensão arterial associada, segundo os estudos de SCHRIER e colaboradores  
3 em 2004, JHOANNES e colaboradores em 2009 e WANG e colaboradores em 2005.  
4 Outro fator importante está relacionado à dose de eritropoetina administrada aos  
5 pacientes sépticos. Nós optamos por utilizar a dose elevada de eritropoetina (3000  
6 U/Kg) e esta alta concentração está associada às propriedades antioxidantes e anti-  
7 inflamatórias da EPO em pacientes sépticos, bem como na redução das citocinas  
8 inflamatórias, já demonstrado por AOSHIBA e colaboradores em 2009 e WU e  
9 colaboradores em 2009 e 2010.

10 A presença da síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) em  
11 pacientes sépticos já foi amplamente descrita por vários autores. Mesmo sem se ter  
12 total conhecimento dos processos que levam à formação do edema pulmonar em  
13 pacientes sépticos, é sabido que o aumento da permeabilidade dos capilares  
14 pulmonares é uma etapa importante deste processo, contribuindo para a formação  
15 do infiltrado pulmonar que, quando em quantidade significativa, é percebido pela  
16 tomografia computadorizada (CHANG et al., 2016; ALYESIL et al., 2017). Ao  
17 utilizarmos a tomografia computadorizada, percebemos a presença do infiltrado  
18 pulmonar através da tomografia computadorizada, mas também percebida através  
19 da ausculta pulmonar e do padrão respiratório dos animais acometidos.

20 Em relação à presença de infiltrado pulmonar na avaliação das imagens  
21 obtidas com a tomografia computadorizada, nosso estudo percebeu uma significativa  
22 diferença entre os grupos de controle (1 e 2) e o grupo 3, onde apenas a sepse foi  
23 induzida pela CLP. Embora não tenha havido diferença estatística entre o grupo 3 e  
24 os grupos de tratamento com vitamina C, dexmedetomidina e eritropoetina (4,5 e 6,  
25 respectivamente), é possível perceber uma evidente melhora no padrão inflamatório  
26 do parênquima pulmonar em todos estes grupos tratados.

27 O grupo de tratamento que apresentou melhor resultado foi o grupo da  
28 vitamina C. Neste grupo apenas um animal apresentou infiltrado pulmonar  
29 moderado, um outro animal sem presença de infiltrado pulmonar e os outros 4  
30 animais apresentaram infiltração leve no parênquima pulmonar. Esta observação vai  
31 de acordo com vários estudos sobre a atuação da vitamina C em pacientes com a  
32 síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA). Um estudo de EROL e  
33 colaboradores publicado em 2019 reforçou o efeito de vitaminas antioxidantes sobre

1 a SDRA de pacientes sépticos e não sépticos. Segundo estes autores, o processo  
2 de liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS) nestes pacientes foi  
3 significativamente suprimido nos grupos que receberam vitamina C, vitamina E e  
4 ácido alfa-lipóico, como antioxidantes. Neste mesmo estudo, outros grupos  
5 receberam altas e baixas doses de metilprednisolona, mas não demonstrou  
6 resultados que demonstrassem a eficiência dessa droga na terapia da SDRA. Em  
7 contrapartida, MARIK (2018) publicou um estudo onde aplicou o protocolo HAT  
8 (hidrocortisona, vitamina C e tiamina) e mostrou resultados positivos quanto à ação  
9 anti-inflamatória em pacientes sépticos portadores de SDRA, através da modulação  
10 endotelial da hidrocortisona e efeitos similares de proteção relacionados à tiamina.

11 Alguns relatos de caso sobre a aplicação de vitamina C em pacientes  
12 portadores de SDRA causada pela sepse mostraram os efeitos benéficos desta  
13 substância como adjuvante no tratamento destes doentes (BHARARA et al., 2016;  
14 FOWLER et al., 2017). Um outro estudo de FOWLER e colaboradores, realizado em  
15 2014, já havia demonstrado a segurança e os benefícios da utilização da vitamina C  
16 em pacientes sépticos, através da redução de biomarcadores inflamatórios como a  
17 proteína C reativa e procalcitonina, em pacientes que recebiam doses acima de 50  
18 mg/kg por via intravenosa. Resultados semelhantes foram encontrados em outros  
19 experimentos envolvendo SDRA e o uso de vitamina C como antioxidante na sepse  
20 (FISCHER et al., 2011; NANCHAL et al., 2018). Em nosso experimento, trabalhamos  
21 com doses elevadas de vitamina C (100 mg/kg) e observamos efeitos semelhantes  
22 na inflamação pulmonar, quando comparamos com estes autores.

23 No grupo tratado com dexmedetomidina também foi observada uma melhora  
24 no padrão inflamatório do parênquima pulmonar, mesmo sem haver relevância  
25 estatística. Quatro animais tiveram presença leve de infiltrado pulmonar, enquanto  
26 outros dois mostraram a presença moderada desta mesma alteração. Segundo  
27 estudo publicado por CAI e colaboradores em 2014, a dexmedetomidina é capaz de  
28 modular a resposta inflamatória, inibindo a apoptose celular, que é responsável pela  
29 quebra da barreira epitélio-alveolar, liberando os mediadores inflamatórios durante a  
30 SDRA. Este achado também foi relatado por SUN e colaboradores em 2019, que  
31 demonstraram que a dexmedetomidina foi capaz de produzir um efeito anti  
32 apoptótico e anti-inflamatório sobre as células do epitélio alveolar, através da  
33 inibição da ativação da caspase e diminuição da expressão da cicloxigenase-2

1 (COX-2). GU e colaboradores (2011) e DHAMANI e colaboradores (2005) também  
2 encontraram resultados semelhantes.

3 Através da avaliação de um observador experiente, o grupo que recebeu  
4 aplicação de dexmedetomidina apresentou uma vantagem discreta em relação ao  
5 grupo onde apenas a sepse foi induzida. Porém utilizamos apenas uma dose de  
6 dexmedetomidina por via intraperitoneal, enquanto muitos destes outros estudos  
7 apontavam doses repetidas de dexmedetomidina e os pacientes eram avaliados em  
8 maior tempo, quando comparado ao nosso experimento onde a avaliação ocorria  
9 unicamente após 24 horas de indução da sepse.

10 O grupo que recebeu tratamento com eritropoetina (EPO) apresentou 3  
11 animais com infiltrado pulmonar leve, dois animais com infiltrado pulmonar moderado  
12 e um animal com infiltrado pulmonar grave. Mesmo não havendo significância  
13 estatística, é possível perceber uma melhora em relação ao grupo séptico, embora  
14 mais discreta do que as percebidas nos grupos de vitamina C e dexmedetomidina.

15 Alguns estudos recentes correlacionaram o uso da EPO em pacientes com  
16 SDRA. Um estudo publicado por KAKAVAS e colaboradores em 2010 mostrou que a  
17 EPO apresenta um efeito protetor sobre o endotélio vascular, bem como possui ação  
18 antiapoptótica e angiogênica em pacientes com SDRA ou lesão pulmonar aguda  
19 (LPA). Já é sabido que pacientes sépticos apresentam níveis reduzidos de EPO e  
20 isso ajuda a explicar as alterações endoteliais encontrada nestes doentes (KRANTZ,  
21 1994; ROGIERS et al., 1997; VAN IPEREN et al., 2001). Um estudo de ATES e  
22 colaboradores em 2015 corrobora a importância da EPO na prevenção dos danos  
23 celulares, através da inibição da produção de óxido nítrico.

24 Nos estudos onde a EPO foi utilizada como parte do tratamento em pacientes  
25 sépticos, a dosagem utilizada teve importante papel no prognóstico dos doentes.  
26 Doses baixas como 300 U/Kg não foram suficientes para melhorar as funções  
27 orgânicas de pacientes sépticos. Porém, em doses bem elevadas, que chegam até  
28 5000 U/Kg, têm-se demonstrado resultados superiores tanto na prevenção das  
29 lesões endoteliais, como na melhora das funções orgânicas (AOSHIBA et al., 2009;  
30 WU et al., 2010). Um outro estudo conduzido por JUNGEBLUTH e colaboradores  
31 (2015) demonstrou que a EPO, quando aplicada diretamente por via endotraqueal  
32 em doses muito elevadas (30000 U/Kg), em conjunto com células mononucleares

1 autólogas, foi capaz de melhorar a função respiratória de pacientes sépticos,  
2 inclusive aqueles que já se encontravam em oxigenação por membrana  
3 extracorpórea (ECMO).

4 Nossos animais testados receberam doses elevadas de EPO (3000 U/Kg) e  
5 os resultados obtidos após 24 horas da indução da sepse foram positivos, no que diz  
6 respeito ao infiltrado pulmonar, embora um dos animais tenha apresentado presença  
7 de infiltrado pulmonar grave. Este evento pode ter ocorrido por não termos optado  
8 por uma dose ainda mais elevada, bem como pelo período de avaliação escolhido  
9 para aplicação neste experimento. Ainda assim, mesmo sem significância estatística,  
10 o grupo tratado com EPO apresentou padrão pulmonar melhor do que o grupo onde  
11 apenas a sepse foi induzida.

12 Ao observarmos os valores obtidos com o exame de ecocardiografia,  
13 percebemos diferença estatística entre os valores obtidos com a mensuração da  
14 câmara ventricular esquerda em sístole (CVEs) quando comparamos os grupos de  
15 controle (1 e 2) com o grupo 5, tratado com dexmedetomidina. Também foi  
16 encontrada diferença estatística nos valores de tempo de relaxamento  
17 isovolumétrico (TRIV) quando comparados os grupos 1, 2 e 5 com o grupo 3 (sepse)  
18 e do grupo 2 com o grupo 4 (vitamina C). Os resultados da mensuração da CVEs  
19 aparentemente tem relação com a ação alfa-2 agonista desempenhada pela  
20 dexmedetomidina. A atuação da dexmedetomidina sobre os receptores alfa-2  
21 adrenérgicos promove ações periféricas e centrais. Através dos adrenorreceptores  
22 alfa-2 pré-sinápticos, ocorre a inibição da exocitose da noradrenalina, determinando  
23 os efeitos de hipotensão e bradicardia causados por estes receptores (BAGATINI et  
24 al., 2002; VILLELA et al., 2003). Embora a bradicardia não tenha se manifestado  
25 significativamente no grupo que recebeu a dexmedetomidina, a modulação da  
26 frequência cardíaca parece ter sido suficiente para remodelar o tamanho da câmara  
27 ventricular esquerda durante a sístole, permitindo maior recepção de volume neste  
28 compartimento e, conseqüentemente, aumentando o tamanho da CVEs.

29 Em relação ao TRIV, nosso experimento demonstrou um tempo de  
30 relaxamento menor no grupo 3 em relação aos grupos de controle e ao grupo da  
31 dexmedetomidina. Um TRIV menor significa menor relaxamento das câmaras  
32 ventriculares, o que compromete diretamente o movimento diastólico do coração.  
33 Vários autores já citaram a disfunção diastólica como uma das mais evidentes em

1 pacientes sépticos, que comumente apresentam disfunção miocárdica causada por  
2 mecanismos ainda não totalmente conhecidos. Um estudo de POELAERT em 2017  
3 demonstrou a disfunção diastólica é consequência do relaxamento ventricular  
4 deficiente, bem como da redução da complacência pulmonar e do recolhimento  
5 ventricular.

6 Embora a disfunção diastólica seja normalmente despercebida em muitos  
7 exames ecocardiográficos em pacientes sépticos, muitos autores começaram a dar  
8 mais importância a este parâmetro, sendo inclusive colocado como um dos fatores  
9 de correlação com mortalidade em pacientes gravemente enfermos. Alguns estudos  
10 apontam a correlação entre a velocidade de pico diastólico anular mitral (conhecida  
11 como onda e') e a velocidade de influxo mitral precoce (E) como um importante  
12 marcador de disfunção diastólica em pacientes sépticos. Uma elevada relação E/e'  
13 representa uma complacência ventricular esquerda baixa, aparecendo em  
14 numerosas condições cardíacas (HOCHSTADT et al., 2011; SAINI et al., 2014; LV et  
15 al., 2016; POELAERT, 2017).

16 No estudo que realizamos, a avaliação das ondas de fluxo mitral e pico  
17 diastólico não puderam ser observadas em muitos animais, devido à elevada  
18 frequência cardíaca dos ratos, especialmente aqueles induzidos à sepse que não  
19 receberam nenhum tratamento. Dessa forma, a avaliação do TRIV serviu como  
20 marcador da função diastólica, mostrando comprometimento do enchimento  
21 ventricular nos pacientes sépticos sem tratamento, o que acaba comprometendo a  
22 oxigenação e função do próprio miocárdio. Este dado vai de encontro ao descrito por  
23 NADER e colaboradores em 2015, que demonstraram estas alterações em coelhos  
24 submetidos à indução da sepse por lipopolissacarídeos, quando administrados em  
25 doses elevadas.

26 Os outros valores obtidos com a ecocardiografia não apresentaram diferenças  
27 estatísticas. Acreditamos que o tempo de avaliação curto, após a indução da sepse,  
28 não foi suficiente para manifestar a disfunção sistólica de maneira mais evidente,  
29 tanto pela compensação cardíaca em resposta ao choque como, em parte, pela  
30 ação da cetamina na indução anestésica prévia à avaliação após 24 horas de  
31 indução da sepse. Estes eventos são explicados pelos achados de NADER e  
32 colaboradores (2015) e por SAINI e colaboradores (2014), que indicaram que na

1 fase inicial do choque séptico é possível não se encontrar alterações significativas  
2 nas frações de encurtamento e frações de ejeção em pacientes sépticos.

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25



## 6. CONCLUSÃO

Foi possível concluir que todos os tratamentos foram eficientes em reduzir o potencial inflamatório causado pela sepse. Porém a vitamina C obteve um desempenho melhor como agente anti-inflamatório do endotélio vascular, bem como na ação sobre a hemodinâmica e na infiltração pulmonar, quando comparada à dexmedetomidina e à eritropoetina agindo também como moduladores inflamatórios. Isso sugere que o uso da vitamina C pode ser incorporado ao protocolo inicial de pacientes sépticos, com potencial vantagem para sua utilização. Outros estudos devem ser conduzidos no sentido de se aprimorar a dosagem necessária de cada substância para obter o resultado de modulação inflamatória desejada.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES-FILHO JC; SPILLER F; CUNHA FQ. Neutrophyl Paralysis in Sepsis. **Shock**, v. 34, n. 1, p. 15-21, 2010.

ALYESIL, C; DOGAN, NO; ÖSTURAN, IU; GÜNEY, S. Distributive Shock in the Emergency Department: Sepsis, Anaphylaxis, or Capillary Leak Syndrome? **Journal of Emergency Medicine**, v. 52, n. 6, p. 1-3, 2017.

ANGUS DC; VAN DER POLL T. Severe Sepsis and Septic Shock. **The New England Journal of Medicine**, v.369, n. 9, p. 840-851, 2013.

ANTONUCCI, E; FIACCADORI, E; DONADELLO, K; TACCONE, FS; FRANCHI, F; SCOLLETTA, S. Myocardial Depression in Sepsis: From Pathogenesis to Clinical Manifestations and Treatment. **Journal of Critical Care**, v. 29, p. 500-511, 2014.

AOSHIBA, K; ONIZAWA, S; TSUJI, T; NAGAI, A. Therapeutic Effects of Erythropoietin in Murine Models of Endotoxin Shock. **Critical Care Medicine**, v. 37, n. 3, p. 889-898, 2009.

ATES, I; DOGAN, N; AKSOY, M; HALICI, Z; GÜNDOĞDU, C; KELES, MS. The Protective Effects of IgM-Enriched Immunoglobulin and Erythropoietin on the Lung and Small Intestine Tissues of Rats with Induced Sepsis: Biochemical and Histopathological Evaluation. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 1, p. 78-84, 2015.

AZEVEDO, LCP; CAVALCANTI, AB; LISBOA, T; DAL PIZZOL, F; MACHADO, FR. A Sepse é um Grave Problema de Saúde na América Latina: uma chamada à ação. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 30, n.4, p. 402-404, 2018.

BAGATINI, A; GOMES, CR; MASELLA, MZ; REZER, G. Dexmedetomidina: Farmacologia e Uso Clínico. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 5, p. 606-617, 2002.

- 1 BEDARD, K; KRAUSE, KH. The NOX Family of ROS-Generating NADPH Oxidases:  
2 Physiology and Pathophysiology. **Physiological Reviews**, v. 87, p. 245-313, 2007.  
3
- 4 BERNARD, GR; VINCENT, JL; LATERRE, PF; LaROSA, SP; DHAINAUT, JF;  
5 LOPEZ-RODRIGUEZ, A et al. Efficacy and Safety of Recombinant Human Activated  
6 Protein C for Severe Sepsis. **The New England Journal of Medicine**, v. 344, n. 10,  
7 p. 699-709, 2001.  
8
- 9 BHARARA, A; GROSSMAN, C; GRINNAN, D; SYED, A; FISHER, B; DeWILDE, C et  
10 al. Intravenous Vitamin C Administered as Adjunctive Therapy for Recurrent Acute  
11 Respiratory Distress Syndrome. **Case Reports in Critical Care**, v. 2016, p. 1-4,  
12 2016.  
13
- 14 BIELSASKI, HK; Mc GREGOR, GP. Antioxidant Therapy in Critical Care: Is the  
15 Microcirculation the Primary Target? **Critical Care Medicine**, v. 35, n. 9 (suppl.), p.  
16 577-583, 2007.  
17
- 18 BOUHEMAD, B; NICOLAS-ROBIN, A; ARBELOT, C; ARTHAUD, M; FÉGER, F;  
19 ROUBY, JJ. Acute Left Ventricular Dilatation and Shock-Induced Myocardial  
20 Dysfunction. **Critical Care Medicine**, v. 37, n. 2, p. 441-447, 2009.  
21
- 22 BURKE-GAFFNEY, A; EVANS, TW. Lest We Forget the Endothelial Glycocalyx in  
23 Sepsis. **Critical Care**, v. 16, n. 121, p. 1-2, 2012.  
24
- 25 BONE, RC. The Sepsis Syndrome: Definition and General Approach to  
26 Management. **Clinics in Chest Medicine**, v. 17, n. 2, 1996.  
27
- 28 BONE, RC; GRODZIN, CJ; BALK, RA. Sepsis: A New Hypothesis for Pathogenesis  
29 of the Disease Process. **Chest**, v. 112, n.1, p. 2035-2043, 1997.  
30
- 31 BRINES, M. The Therapeutic Potential of Erythropoiesis-Stimulating Agents for  
32 Tissue Protection: A Tale of Two Receptors. **Blood Purification**, v. 29, p. 86-92,  
33 2010.  
34

- 1 CAI, Y; XU, H; YAN, J; ZHANG, L; LU, Y. Molecular Targets and Mechanism of  
2 Action of Dexmedetomidine in Treatment of Ischemia/Reperfusion Injury (Review).  
3 **Molecular Medicine Reports**, v. 9, p. 1542-1550, 2014.
- 4
- 5 CEREDA, M; XIN, Y; HAMEDANI, H; BELLANI, G; KADLECEK, S; CLAPP, J;  
6 GUERRA, L et al. Tidal Changes on CT and Progression of ARDS. **Thorax**, v. 72, p.  
7 981-989, 2017.
- 8
- 9 CERRA, FB. The Systemic Septic Response: Multiple Systems Organ Failure.  
10 **Critical Care Clinics**, v. 1, n. 3, p. 591-607, 1985.
- 11
- 12 CIMOLAI, MC; ALVAREZ, S; BODE, C; BUGGER, H. Mitochondrial Mechanisms in  
13 Septic Cardiomyopathy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p.  
14 17763-17778, 2015.
- 15
- 16 CHANG, Y; HUANG, X; LIU, Z; HAN, G; HUANG, L; XIONG, YC et al.  
17 Dexmedetomidine Inhibits the Secretion of High Mobility Group Box 1 from  
18 Lipopolysaccharide-Activated Macrophages In Vitro. **Journal of Surgical Research**,  
19 v. 181, p.308-314, 2013.
- 20
- 21 CHANG, Z; GONG, Z; ZHENG, J; MA, Y; LIU, Z. Computed Tomography Features of  
22 Septic Pulmonary Embolism Caused by Klebsiella pneumoniae Liver Abscess  
23 Associated with Extrapulmonary Metastatic Infection. **Journal of Computer**  
24 **Assisted Tomography**, v. 40, n. 3, p. 364-369, 2016.
- 25
- 26 CHEN, JH; YU, GF; JIN, SY; ZHANG, WH; LEI, DX; ZHOU, SL et al. Activation of  
27 Alfa-2 Adrenoceptor Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Hepatic Injury.  
28 **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 8, n. 9, p.  
29 10752-10759, 2015.
- 30
- 31 CHENG, M; GAO, T; XI, F; CAO, C; CHEN, Y; ZHAO, C et al. Dexmedetomidine  
32 Ameliorates Muscle Wasting and Attenuates the Alteration of Hypothalamic  
33 Neuropeptides and Inflammation in Endotoxemic Rats. **Plos One**, disponível em:  
34 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174894> , 2017. Acesso em: 06/2019.

- 1  
2 CHIUMELLO, D; FORMENTI, P; COPPOLA, S. Lung Recruitment: What Has  
3 Computed Tomography Taught Us in the Last Decade? **Annals of Intensive Care**,  
4 v. 9, n. 12, p. 1-3, 2019.  
5
- 6 CLUZEAU, T; MCGRAW, KL; IRVINE, B; MASALA, E; ADES, L; BASIORKA, AA et  
7 al. Pro-Inflammatory Proteins S100A9 and Tumor Necrosis Factor-Alpha Suppress  
8 Erythropoietin Elaboration in Myelodysplastic Syndromes. **Haematologica**, v. 102, n.  
9 12, p. 2015-2020, 2017.  
10
- 11 Da SILVA, LM; Da Silva, RCMVAF; MARIA-FERREIRA, D; BELTRAME, OC; Da  
12 SILVA-SANTOS JE; WERNER, MFP. Vitamin C Improves Gastroparesis in Diabetic  
13 Rats: Effects on Gastric Contractile Responses and Oxidative Stress. **Digestive**  
14 **Diseases and Science**, v. 62, n. 9, p. 2338-2347, 2017.  
15
- 16 De BACKER, D; CORTES, DO; DONADELLO, K; VINCENT, JL. Pathophysiology of  
17 Microcirculatory Dysfunction and the Pathogenesis of Septic Shock. **Virulence**, v. 5,  
18 n. 1, p. 73-79, 2013.  
19
- 20 DHAMANI, S; ROUELLE, D; GRESSENS, P; MANTZ, J. Effects of Dexmedetomidine  
21 on Hippocampal Focal Adhesion Kinase Tyrosine Phosphorylation in Physiologic and  
22 Ichemic Conditions. **Anesthesiology**, v. 103, p. 969-977, 2005.  
23
- 24 DOS SANTOS, CC; GATTAS, DJ; TSOPORIS, JN; SMEDING, L; KABIR, G;  
25 MASOOM, H et al. Sepsis-induced myocardial depression is associated with  
26 transcriptional changes in energy metabolism and contractile related genes: A  
27 physiological and gene expression-based approach. **Critical Care Medicine**, v. 38,  
28 n. 3, p. 894-903, 2010.  
29
- 30 EFFENBERGER-NEIDNIGHT, K; HARTMANN, M. Mechanisms of Hemolysis During  
31 Sepsis. **Inflammation**, v. 41, n. 5, p. 1569-1581, 2018.  
32
- 33 EREN, Z; ÇOBAN, J; EKINCI, ID; KASPAR, C; KANTARCI, G. Evaluation of the  
34 Effects of a High Dose of Erythropoietin-beta on Early Endotoxemia Using a Rat

- 1 Model. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, v. 21, n. 3, p. 321-329,  
2 2012.
- 3
- 4 EROL, N; SAGLAM, L; SAGLAM, YS; EROL, HS; ALTUN, S; AKTAS, MS et al. The  
5 Protection Potential of Antioxidant Vitamins Against Acute Respiratory Distress  
6 Syndrome: a Rat Trial. **Inflammation**, 2019. Disponível em:  
7 <https://doi.org/10.1007/s10753-019-01020-2>. Acesso em 06/2019.
- 8
- 9 FANDREY, J; JELKMANN, WEB. Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor-Alpha  
10 Inhibit Erythropoietin Production in Vitro. **Annals of the New York Academy of  
11 Sciences**, v. 628, n. 1, p. 250-255, 1991.
- 12
- 13 FENTON, KE; PARKER, MM. Cardiac Function and Dysfunction in Sepsis. **Clinics in  
14 Chest Medicine**, v. 37, n. 2, p. 289-298, 2016.
- 15
- 16 FISHER, CJ; AGOSTI, JM; OPAL, SM; LOWRY, SF; BLAK, RA; SADOFF, JC et al.  
17 Treatment of Septic Shock with Tumor Necrosis Factor Receptor: Fc Fusion Protein.  
18 **The New England Journal of Medicine**, v. 334, n. 26, p. 1697-1702, 1996.
- 19
- 20 FISHER, BJ; SEROPIAN, IM; KRASKAUSKAS, D; THAKKAR, JN; VOELKEL, NF;  
21 FOWLER III, AA et al. Ascorbic Acid Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Acute  
22 Lung Injury. **Critical Care Medicine**, v. 39, n. 6, p. 1454-1460, 2011.
- 23
- 24 FISHER, BJ; KRASKAUSKAS, D; MARTIN, EJ; FARKAS, D; PURI, P; MASSEY, D.  
25 et al. Attenuation of Sepsis-Induced Organ Injury in Mice by Vitamin C. **Journal of  
26 Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 38, n. 7, p. 825-839, 2013.
- 27
- 28 FOWLER III, AA; SYED, AA; KNOWLSON, S; SCULTHORPE, R; FARTHING, D;  
29 DeWILDE, C et al. Phase I Safety Trial of Intravenous Ascorbic Acid in Patients with  
30 Severe Sepsis. **Journal of Translational Medicine**, v. 12, n. 32, 2014.
- 31
- 32 FOWLER III, AA; KIM, C; LEPLER, L; MALHOTRA, L; DEBESA, O; NATARAJAN, R  
33 et al. Intravenous Vitamin C as Adjunctive Therapy for Enterovirus/Rhinovirus

- 1 Induced Acute Respiratory Distress Syndrome. **World Journal of Critical Care**  
2 **Medicine**, v. 6, n. 1, p. 85-90, 2017.
- 3
- 4 FREUDENBERG, MA; KEPPLER, D; GALANOS, C. Requirement for  
5 Lipopolysaccharide-Responsive Macrophages in Galactosamine-Induced  
6 Sensitization to Endotoxin. **Infection and Immunity**, v. 51, n. 3, p. 891-895, 1986.
- 7
- 8 FREY, RS; USHIO-FUKAI, M; MALIK, AB. NADPH Oxidase-Dependent Signaling in  
9 Endothelial Cells: Role in Physiology and Pathophysiology. **Antioxidants and Redox**  
10 **Signaling**, v. 11, n. 4, p. 791-809, 2009.
- 11
- 12 FUENTES, VL. Diastolic Function-is this the Key to Successful Management of Many  
13 Feline Cardiomyopathies? **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 5, p. 51-56,  
14 2003.
- 15
- 16 GAO, YL; LU, B; ZHAI, JH; LIU, YC; QI, HX; YAO, Y. et al. The Parenteral Vitamin C  
17 Improves Sepsis and Sepsis-Induced Multiple Organ Dysfunction Syndrome via  
18 Preventing Cellular Immunosuppression. **Mediators of Inflammation**, v. 2017, p. 1-  
19 12, 2017.
- 20
- 21 GÉLÖEN, A; PICHOT, C; LEROY, S; JULIEN, C; GHIGNONE, M; MAY, CN et al.  
22 Pressor Response to Noradrenaline in the Setting of Septic Shock: Anything Under  
23 the Sun- Dexmedetomidine, Clonidine? A Minireview. **Biomed Research**  
24 **International**, v. 2015, p. 1-7, 2015.
- 25
- 26 GU, J; SUN, P; ZHAO, H; WATTS, HR; SANDRES, RD; TERRANDO, N et al.  
27 Dexmedetomidine Provides Renoprotection Against Ischemia-Reperfusion Injury in  
28 Mice. **Critical Care**, v. 15, n. 153, p. 1-11, 2011.
- 29
- 30 GUERRA, VC; LEAL, SMB; ANDRADE, JL. Função Ventricular Sistólica Esquerda  
31 nas Cardiopatias Congênitas. **Revista Brasileira de Ecocardiografia**, v. 3, p. 11-21,  
32 2002.
- 33

- 1 HAENDELER, J; ZEIHNER, AM; DIMMELER, S. Vitamin C and E Prevent  
2 Lipopolysaccharide-Induced Apoptosis in Human Endothelial Cells by Modulation of  
3 Bcl-2 and Bax. **European Journal of Pharmacology**, v. 317, p. 407-411, 1996.  
4
- 5 HERNÁNDEZ, G; BRUHN, A; INCE, C. Microcirculation in Sepsis: New Perspectives.  
6 **Current Vascular Pharmacology**, v. 11, p. 161-169, 2013.  
7
- 8 HERNÁNDEZ, G; TAPIA, P; ALEGRÍA, L; SOTO, D; LUENGO, C; GOMEZ, J et al.  
9 Effects of Dexmedetomidine and Esmolol on Systemic Hemodynamics and  
10 Exogenous Lactate Clearance in Early Experimental Septic Shock. **Critical Care**, v.  
11 234, n. 20, p. 1-10, 2016.  
12
- 13 HOCHSTADT, A; MEROZ, Y; LANDESBURG, G. Myocardial Dysfunction in Severe  
14 Sepsis and Septic Shock: More Questions Than Answers? **Journal of**  
15 **Cardiothoracic and Vascular Anesthesia**, v. 25, n. 3, p. 526-535, 2011.  
16
- 17 HOTCHKISS, RS; KARL, IE. The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. **The**  
18 **New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 2, p. 138-150, 2003.  
19
- 20 HOTCHKISS, RS; MONNERET, G; PAYEN, D. Sepsis-Induced Immunosuppression:  
21 from Cellular Dysfunction to Immunotherapy. **Nature**, v. 13, p. 862-874, 2013.  
22
- 23 HSING, CH; LIN, CF; SO, E; SUN, DP; CHEN, TC; LI, CF et al. Alfa-2 Adrenoceptor  
24 Agonist Dexmedetomidine Protects Septic Acute Kidney Injury Through Increasing  
25 BMP-7 and Inhibiting HDAC2 and HDAC5. **American Journal of Physiology-Renal**  
26 **Physiology**, v. 303, p. 1443-1453, 2012.  
27
- 28 JACKSON, TS; XU, A; VITA, JA; KEANEY JR, JF. Ascorbate Prevents the  
29 Interaction of Superoxide and Nitric Oxide only at Very High Physiological  
30 Concentrations. **Circulation Research**, v. 83, p. 916-922, 1998.  
31
- 32 JANEWAY, CA. Approaching the Asymptote? Evolution and Revolution in  
33 Immunology. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, v. 54, p. 1-13, 1989.  
34



- 1 JANZ, DR; WARE, LB. The Role of Red Blood Cells and Cell-Free Hemoglobin in the  
2 Pathogenesis of ARDS. **Journal of Intensive Care**, v. 3, n. 20, p. 1-7, 2015.
- 3
- 4 JARDIN, F; FOURME, T; PAGE, B; LOUBIERES, Y; VIEILLARD-BARON, A;  
5 BEAUCHET, A et al. Persistent Preload Defect in Severe Sepsis Despite Fluid  
6 Loading: A Longitudinal Echocardiographic Study in Patients with Septic Shock.  
7 **Chest**, v. 116, n. 5, p. 1354-1359, 1999.
- 8
- 9 JHOANNES, T; INCE, C; KLINGEL, K; UNERTL, KE; MIK, EG. Iloprost Preserves  
10 Renal Oxygenation and Restores Kidney Function in Endotoxemia-Related Acute  
11 Renal Failure in the Rat. **Critical Care Medicine**, v. 37, n. 3, p. 889-898, 2009.
- 12
- 13 JHONSON, ER; MATTHAY, MA. Acute Lung Injury: Epidemiology, Pathogenesis,  
14 and Treatment. **Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery**, v. 23,  
15 n. 4, p. 243-252, 2010.
- 16
- 17 JUNGEBLUTH, P; HOLZGRAEFE, B; LIM, ML; DURU, AD; LUNDIM, V; HELDRING,  
18 N et al. Autologous Peripheral Blood Mononuclear Cells as Treatment in Refractory  
19 Acute Respiratory Distress Syndrome. **Respiration**, v. 90, 481-492, 2015.
- 20
- 21 KAKAVAS, S; DEMESTIHA, T; VASILEIOU, P; XANTHOS, T. Erythropoietin as a  
22 Agent with Pleiotropic Effects Against Acute Lung Injury. **European Journal of**  
23 **Clinical Pharmacology**, v. 67, p. 1-9, 2010.
- 24
- 25 KALIL, AC; FLORESCU, DF. Prevalence and Mortality Associated with  
26 Cytomegalovirus infection on Nonimmunossupressed Patients in the Intensive Care  
27 Unit. **Critical Care Medicine**, v. 37, n. 8, p. 2350-2358, 2009.
- 28
- 29 KALYANI, P; JAMIL, K. A Study on Biochemical Facet of Anemia in Cancers: A  
30 Strong Link Between Erythropoietin and Tumor Necrosis Factor-Alpha in Anemic  
31 Cancer Patients. **Indian Journal of Cancer**, v. 52, n. 1, p. 127-132, 2015.
- 32
- 33 KAMO, T; TAsAKA, S; SUZUKI, T; ASAKURA, T; SUZUKI, S; YAGI, K et al.  
34 Prognostic values of the Berlin definition criteria, blood lactate level, and

- 1 fibroproliferative changes on high-resolution computed tomography in ARDS  
2 patients. **BMC Pulmonary Medicine**, v. 19, n. 37, p. 1-9, 2019.
- 3
- 4 KAMPMANN, C; WIETHOFF, CM; WENZEL, A; STOLZ, G; BETANCOR, M;  
5 WIPPERMANN, CF et al. Normal Values of M Mode Echocardiographic  
6 Measurements of More than 2000 Healthy Infants and Children in Central Europe.  
7 **Heart**, v. 83, p. 667-672, 2000.
- 8
- 9 KAWADE, N; TOKUDA, Y; TSUJINO, S; AOYAMA, H; KOBAYASHI, M; MURAI, A et  
10 al. Dietary Intake of Ascorbic Acid Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Sepsis  
11 and Septic Inflammation in ODS Rats. **Journal of Nutritional Science and**  
12 **Vitaminology**, v. 64, p. 404-411, 2018.
- 13
- 14 KEH, D; TRIPS, E; MARX, G; WIRTZ, SP; ABDULJAWWAD, E; BERCKER, S et al.  
15 Effect of Hydrocortisone on Development of Shock Among Patients with Severe  
16 Sepsis: The HYPRESS Randomized Clinical Trial. **Journal of the American**  
17 **Medical Association**, v. 316, n. 17, p. 1775-1785, 2016.
- 18
- 19 KIM, JY; LEE, SM. Effect of Ascorbic Acid on Hepatic Vasoregulatory Gene  
20 Expression During Polymicrobial Sepsis. **Life Sciences**, v. 75, p. 2015-2026, 2004.
- 21
- 22 KIM, JY; LEE, SM. Vitamins C and E Protect Hepatic Cytochrome P450 Dysfunction  
23 Induced by Polymicrobial Sepsis. **European Journal of Pharmacology**, v. 534, p.  
24 202-209, 2006.
- 25
- 26 KOBAYASHI, M; YAMAMOTO, M. Molecular Mechanisms Activating the Nrf2-Keap  
27 Pathway of Antioxidant Gene Regulation. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 7,  
28 n. 3, p. 385-394, 2005.
- 29
- 30 KOCH, J; PEDERSEN, HD; JENSEN, AL; FLAGSTAD, A. M-mode  
31 Echocardiographic Diagnosis of Dilated Cardiomyopathy in Giant Breed Dogs.  
32 **Journal of Veterinary Medicine**, v. 43, p. 297-304, 1996.
- 33

- 1 KRANTZ, SB. Pathogenesis and Treatment of the Anemia of Chronic Disease. **The**  
2 **American Journal of the Medical Sciences**, v. 307, n. 5, p. 353-359, 1994.
- 3
- 4 KUCK, JL; BASTARACHE, JA; SHAVER, CM; FESSEL, JP; DIKALOV, SI; MAY, JM  
5 et al. Ascorbic Acid Attenuates Endothelial Permeability Triggered by Cell-Free  
6 Hemoglobin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 495, n.  
7 1, p. 433-437, 2018.
- 8
- 9 KUMAR, A; THOTA, V; DEE, L; OLSON, J; URETZ, E; PARRILLO, JE. Tumor  
10 Necrosis Factor Alpha and Interleukin-1 are Responsible for In Vitro Myocardial Cell  
11 Depression Induced by Human Septic Shock Serum. **Journal of Experimental**  
12 **Medicine**, v. 183, n. 3, p. 949-958, 1996.
- 13
- 14 LARSEN, FF; PETERSEN, JA; Novel Biomarkers for Sepsis: A Narrative Review.  
15 **European Journal of Internal Medicine**, v. 45, p. 46-50, 2017.
- 16
- 17 LEVINE, M; RUMSEY, SC; DARUWALA, R; PARK, JB; WANG, Y. Criteria and  
18 Recommendations for Vitamin C Intake. **Journal of the American Medical**  
19 **Association**, v. 281, n. 15, p. 1415-1423, 1999.
- 20
- 21 LIU, Z; WANG, Y; NING, Q; GONG, C; ZHANG, Y; ZHANG, L et al. The Role of  
22 Spleen in the Treatment of Experimental Lipopolysaccharide-Induced Sepsis with  
23 Dexmedetomidine. **Springer Plus**, v. 8, n. 800, p. 1-7, 2015.
- 24
- 25 LIU, Z; WANG, Y; WANG, Y; NING, Q; ZHANG, Y; GONG, Q et al.  
26 Dexmedetomidine Attenuates Inflammatory Reaction in the Lung Tissues of Septic  
27 Mice by Activating Cholinergic Anti-Inflammatory Pathway. **International**  
28 **Immunopharmacology**, v. 35, p. 210-216, 2016.
- 29
- 30 LV, X; WANG, H. Pathophysiology of Sepsis-Induced Myocardial Dysfunction.  
31 **Military Medical Research**, v. 3, n. 30, p. 1-9, 2016.
- 32
- 33 MANGIALARDI, RJ; MARTIN, GS; BERNARD, GR; WHEELER, AP; CHRISTMAN,  
34 BW; DUPONT, WD et al. Hypoproteinemia Predicts Acute Respiratory Distress

- 1 Syndrome Development, Weight Gain, and Death in Patients with Sepsis. **Critical**  
2 **Care Medicine**, v. 28, p. 3137-3145, 2000.
- 3
- 4 MARIK, PE; PASTORES, SM; ANNANE, D; MEDURI, GU; SPRUNG, CL; ARLT, W  
5 et al. Recommendations for the Diagnoses and Management of Corticosteroid  
6 Insufficiency in Critically Ill Adults Patients: Consensus Statements from a  
7 International Task Force by The American College of Critical Care Medicine. **Critical**  
8 **Care Medicine**, v. 36, n. 6, p. 1937-1949, 2008.
- 9
- 10 MARIK, PE. Critical Illness-Related Corticosteroid Insufficiency. **Chest**, v. 135, p.  
11 181-193, 2009.
- 12
- 13 MARIK, PE; KHANGOORA, V; RIVERA, R; HOOPER, MH; CATRAVAS, J.  
14 Hydrocortisone, Vitamin C and Thiamine for the Treatment of Severe Sepsis and  
15 Septic Shock: A Restrospective Before-After Study. **Chest**, v. 151, n. 6, p. 1229-  
16 1238, 2017.
- 17
- 18 MARIK, PE; Hydrocortisone, Ascorbic Acid na Thiamine (HAT Therapy) for the  
19 Treatment of Sepsis: Focus on Ascorbic Acid. **Nutrients**, v. 10, n. 1762, p. 1-15,  
20 2018.
- 21
- 22 MARSHALL, JC. Such Stuff as Dreams Are Made On: Mediator-Directed Therapy in  
23 Sepsis. **Nature**, v. 2, p. 391-405, 2003.
- 24
- 25 MAY, JM. How Does Ascorbic Acid Prevent Endothelial Dysfunction? **Free Radical**  
26 **Biology and Medicine**, v. 28, n. 9, p. 1421-1429, 2000.
- 27
- 28 MAY, JM; HARRISON, FE. Role of Vitamin C in the Function of the Vascular  
29 Endothelium. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 19, n. 17, p. 2068-2083, 2013.
- 30
- 31 MEMIS, D; KARGI, M; SUT, N. Effects of Propofol and Dexmedetomidine on  
32 Indocyanine Green Elimination Assessed with LIMON to Patients with Septic Shock:  
33 A Pilot Study. **Journal of Critical Care**, v. 24, p. 603-608, 2009.
- 34

- 1 MIRANDA, ML; BALARINI, MM; BOUSKELA, E. Dexmedetomidine Attenuates the  
2 Microcirculatory Derangements Evoked by Experimental Sepsis. **Anesthesiology**, v.  
3 122, p. 619-630, 2015.
- 4
- 5 MITRA, A; BANSAL, S; WANG, W; FALK, S; ZOLTY, E; SCHRIER, RW.  
6 Erythropoietin Ameliorates Renal Dysfunction During Endotoxaemia. **Nephrology,**  
7 **Dialysis, Transplatation**, v. 22, p. 2349-2353, 2007.
- 8
- 9 MONNERET, G; LEPAPE, A; VOIRIN, N; BOHÉ, J; VENET, F; DEBARD, AL et al.  
10 Persisting Low Monocyte Human Leukocyte Antigen-DR Expression Predicts  
11 Mortality in Septic Shock. **Intensive Care Medicine**, v. 32, p. 1175-1183, 2006.
- 12
- 13 MORI, S; SAWADA, T; OKADA, T; KUBOTA, K. Erythropoietin and its Derivative  
14 Protect the Intestine from Ischemia/Reperfusion Injury in the Rat. **Surgery**, v. 143, n.  
15 4, p. 556-565, 2008.
- 16
- 17 MORTENSEN, A; LYKKESFELDT, J. Does Vitamin C Enhance Nitric Oxide  
18 Bioavailability in a Tetrahydropterin-Dependent Manner? In Vitro, In Vivo and  
19 Clinical Studies. **Nitric Oxide**, v. 36, p. 51-57, 2014.
- 20
- 21 MOUSSA, MD; SANTONOCITO, C; FAGNOUL, D; DONADELLO, K; PRADIER, O;  
22 GAUSSEM, P et al. Evaluation of Endothelial Damage in Sepsis-Related ARDS  
23 Using Circulating Endothelial Cells. **Intensive Care Medicine**, v. 41, p. 231-238,  
24 2015.
- 25
- 26 MUNOZ, C; CARLET, J; FITTING, C; MISSET, B; BLÉRIOT, JP; CAVAILLON, JM.  
27 Dysregulation of In Vitro Cytokine Production by Monocytes During Sepsis. The  
28 **Journal of Clinical Investigation**, v. 88, n. 5, p. 1747-1754, 1991.
- 29
- 30 MUZZI, RAL; ARAUJO, RB; MUZZI, LAL; PENA, JLB. M-Mode Echocardiography in  
31 Normal German Shepperd Dogs (American Origin) From Minas Gerais State Police  
32 Kennel, Brazil. **Ciência Rural**, v. 30, n. 5, p. 819-824, 2000.
- 33

- 1 NADER, ND; ASGERI, M; DAVARI-FARID, S; POURAFKARI, L; AHMADPOUR, F;  
2 PORHOMAYON, J et al. The Effect of Lipopolysaccharide on Ischemic-Reperfusion  
3 Injury of Heart: A Double Hit Model of Myocardial Ischemia and Endotoxemia.  
4 **Journal of Cardiovascular and Thoracic Research**, v. 7, n. 3, p. 81-86, 2015.  
5
- 6 NAGAYA, Y; AYOAMA, M; TAMURA, T; KAKITA, H; KATO, S; HIDA, H et al.  
7 Inflammatory Cytokine Tumor Necrosis Factor Alpha Supresses Neuroprotective  
8 Endogenous Erythropoietin from Astrocytes Mediated by Hypoxia-Induceble Factor  
9 2-alpha. **European Journal of Neuroscience**, v. 40, p. 3620-3626, 2014.  
10
- 11 NAGUEH, SF; APPLETON, CP; GILLEBERT, TC; MARINO, PN; OH, JK; SMISETH,  
12 AO et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function  
13 by Echocardiography. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v.  
14 22, n. 2, p. 107-133, 2009.  
15
- 16 NANCHAL, RS; TRUWIT, JD. Recents Advances in Understanding and Treating  
17 Acute Respiratory Distress. **F1000 Research**, v. 7, p. 1-9, 2018.  
18
- 19 O'GRADY MR; BONAGURA, JD; POERW, JD; HERRING, DS. Quantitative Cross-  
20 Sectional Echocardiography in the Normal Dog. **Veterinary Radiology**, v. 27, n. 2, p.  
21 34-49, 1986.  
22
- 23 OGURA, H; GANDO, S; IBA, T; EGUCHI, Y; OHTOMO, Y; OKAMOTO, K et al.  
24 SIRS-Associated Coagulopathy and Organ Dysfunction in Critically Ill Patients with  
25 Thrombocytopenia. **Shock**, v. 28, n. 4, p. 411-417, 2007.  
26
- 27 OPAL, SM; LATERRE, PF; FRANCOIS, B; LaROSA, SP; ANGUS, DC; MIRA, JP et  
28 al. Effect of Eritoran, na Antagonist of MD2-TLR4, on Mortality in Patients with  
29 Severe Sepsis. **Journal of American Medical Association**, v. 309, n. 11, p. 1154-  
30 1162, 2013.  
31
- 32 ORFANOS, SE; MAVROMMATI, I; KOROVESI, I; ROUSSOS, C. Pulmonary  
33 Endothelium in Acute Lung Injury: From Basic Science to the Critically Ill. **Intensive**  
34 **Care Medicine**, v. 30, p. 1702-1714, 2004.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32

OTTO, GP; SOSSDORF, M; CLAUS, RA; RÖDEL, J; MENGE, K; REINHART, K et al. The Late Phase of Sepsis is Characterized by an Increase Microbiological Burden and Death Rate. *Critical Care*, v. 15, n. 1, p. 1-8, 2011.

PANDHARIPANDE, PP; SANDRES, RD; GIRARD, TD; McGRANE, S; THOMPSON, JL; SHINTANI, AK et al. Effect of Dexmedetomidine Versus Lorazepam on Outcome in Patients with Sepsis: an *a Priori*-Designed Analysis of the MENDS Randomized Controlled Trial. **Critical Care**, v. 14, n. 38, p. 1-12, 2010.

PARKER, MM; OGNIBENE, FP; PARRILLO, JE. Peak Systolic Pressure/End-Systolic Volume Ratio, a Load Independent Measure of Ventricular Function, is Reversibly Decrease in Human Septic Shock. **Critical Care Medicine**, v. 22, n. 12, p. 1955-1959, 1984.

PEEK, GJ; ELBOURNE, D; MUGFORD, M; TIRUVOIPATI, R; WILSON, A; ALLEN, E et al. Randomised Controlled Trial and Parallel Economic Evaluation of Conventional Ventilatory Support Versus Extracorporeal Membrane Oxygenation for Severe Adult Respiratory Failure (CESAR). **Health Technology Assessment**, v. 14, n. 35, p. 1-90, 2010.

PICHOT, C; GÉLÖEN, A; GHIGNONE, M; QUINTIN, L. Alpha-2 Agonists to Reduce Vasopressor Requirements in Septic Shock? **Medical Hypothesis**, v. 75, p. 652-656, 2010.

PLOTNIK, GD; BALTIMORE, MD. Changes in Diastolic Function – Difficult to Measure, Harder to Interpret. **American Heart Journal**, v. 118, n. 3, p. 637-641, 1989.

POELAERT, J. Diastolic Dysfunction and Sepsis: The Devil is in the Detail. **British Journal of Anaesthesia**, v. 119, n. 4, p. 555-557, 2017.

- 1 RELLO, J; VALENZUELA-SÁNCHEZ, F; RUIZ-RODRIGUEZ, M; MOYANO, S.  
2 Sepsis: A review of Advances in Management. **Advances in Therapy**, v. 34, p.  
3 2393-2411, 2017.  
4
- 5 RIGATO, O; SALOMÃO, R. Impaired Production of Interferon- $\gamma$  and Tumor Necrosis  
6 Factor- $\alpha$  but not of Interleukin 10 in Whole Blood of Patients with Sepsis. **Shock**, v.  
7 19, n. 2, p. 113-116, 2003.  
8
- 9 RINNE, T; MUTSCHLER, E; WIMMER-GREINECK, G; MORITZ, A; OLBRICH, HG.  
10 Vitamins C and E protect Isolated Cardiomyocytes Against Oxidative Damages.  
11 **International Journal of Cardiology**, v. 75, p. 275-281, 2000.  
12
- 13 RIOS, F; ISCAR, T; CARDINAL-FÉRNANDEZ, P. What Every Intensivist Should  
14 Know About Acute Respiratory Distress Syndrome and Diffuse Alveolar Damage.  
15 **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 29, n. 3, p. 354-363, 2017.  
16
- 17 RITTIRSCH, D; HUBER-LANG, MS; FLIERL, MA; WARD, PA. Immunodesign of  
18 Experimental Sepsis by Cecal Ligation and Puncture. **Nature**, v. 4, n. 1, p. 31-36,  
19 2008.  
20
- 21 ROGIERS, P; ZHANG, H; LEEMAN, M; NAGLER, J, NEELS, H; MÉLOT, C et al.  
22 Erythropoietin Response is Blunted in Critically Ill Patients. **Intensive Care**  
23 **Medicine**, v. 23, p. 159-162, 1997.  
24
- 25 SAINI, SS; KUMAR, P; KUMAR, RM. Hemodynamic Changes in Preterm Neonates  
26 with Septic Shock: A Prospective Observational Study. **Pediatric Critical Care**  
27 **Medicine**, v. 15, n. 5, p. 443-450, 2014.  
28
- 29 SAKURAI, K; MIYASHITA, T; OKAZAKI, M; YAMAGUCHI, T; OHBATAKE, Y;  
30 NAKANUMA, S et al. Role for Neutrophil Extracellular Traps (NETs) and Platelet  
31 Aggregation in Early Sepsis-induced Hepatic Dysfunction. **In Vivo**, v. 31, p. 1051-  
32 1058, 2017.  
33



- 1 SALOMÃO, R; BRUNIALTI, MKC; RAPOZO, MM; BAGGIO-ZAPPIA, GL; GALANOS,  
2 C; FREUDENBERG, M. Bacterial Sensing, Cell Signaling, and Modulation of Immune  
3 Response During Sepsis. **Shock**, v. 38, n. 3, p. 227-242, 2012.
- 4
- 5 SALOMÃO, R; FERREIRA, BL; SALOMÃO, MC; SANTOS SS; AZEVEDO, LCP;  
6 BRUNIALTI, MKC. Sepsis: evolving concepts and challenges. **Brazilian Journal of**  
7 **Medical and Biological Research**, v.52, n.4, p. 1-14, 2019.
- 8
- 9 SCHLEDER, S; LUERKEN, L; DENDL, LM; REDEL, A; SELGRAD, M; RENNER, P  
10 et al. Impact of Multidetector Computed Tomography on the Diagnosis and  
11 Treatment of Patients with Systemic Inflammatory Response Syndrome or Sepsis.  
12 **European Radiology**, v. 27, n. 11, p. 4544-4551, 2017.
- 13
- 14 SCHOBER, KE; FUENTES, VL; BONAGURA, JD. Comparison between invasive  
15 hemodynamic measurements and noninvasive assessment of left ventricular diastolic  
16 function by use of Doppler echocardiography in healthy anesthetized cats. **American**  
17 **Journal of Veterinary Research**, v. 64, n. 1, p. 93-103, 2003.
- 18
- 19 SCHRIER, RW; WANG, W. Acute Renal Failure and Sepsis. **The New England**  
20 **Journal of Medicine**, v. 351, n. 2, p. 159-169, 2004.
- 21
- 22 SEZER, A; MEMIS, D; USTA, U; SÜT, N. The Effect of Dexmedetomidine on Liver  
23 Histopathology in a Rat Sepsis Model: an Experimental Pilot Study. **Turkish Journal**  
24 **of Trauma & Emergency Surgery**, v. 16, n. 2, p. 108-112, 2010.
- 25
- 26 SINGER, M; DEUTSCHMAN, CF; SEYMOUR, CW; SHANKAR-HARI, M; ANNANE,  
27 D; BAUER, M; BELLOMO, R; BERNARD, GR, et al. The Third International  
28 Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). **Journal of The**  
29 **American Medical Association**, v. 315, n. 8, p. 801-810, 2016.
- 30
- 31 SINGLETON, KD; WISCHMEYER, PE. Distance of Cecal Ligation Influences  
32 Mortality, Tumor Necrosis Factor-Alpha and Interleukin-6 Expression Following Cecal  
33 Ligation and Puncture in the Rat. **European Surgical Research**, v. 35, p. 486-491,  
34 2003.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

SMITH III, EF; SLIVJAK, MJ; EGAN, JW; GAGNON, R; ARLETH, AJ; ESSER, KM. Fluid Ressuscitation Improves Survival of Endotoxemic or Septicemic Rats: Possible Contribution of Tumor Necrosis Alpha. **Pharmacology**, v. 46, p. 254-267, 1993.

SOLLING, C; CHRISTENSEN, AT; KRAG, S; FROKLER, J; WOGENSEN, L; KROG, J; TONNESEN, EK. Erythropoietin Administration is Associated With Short-Term Improvement in Glomerular Filtration Rate After Ischemia-Reperfusion Injury. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, v. 55, p. 185-195, 2011.

STENGL, M; BARTAK, F; SYKORA, R; CHVOJKA, J; BENES, J; KROUZECKY, A et al. Reduced L-Type Calcium Current in Ventricular Myocytes from Pigs with Hyperdynamic Septic Shock. **Critical Care Medicine**, v. 38, n. 2, p. 579-587, 2010.

STRAATEN, HMOV; MAN, AMESD; De WAARD, MC. Vitamin C Revisited. **Critical Care**, v. 18, n. 460, p. 1-13, 2014.

SUFFREDINI, AF; FROMM, RE; PARKER, MM; BRENNER, M; KOVACS, JA; WESLEY, RA et al. The Cardiovascular Response of Normal Humans to the Administration of Endotoxin. **The New England Journal of Medicine**, v. 321, n. 5, p. 280-287, 1989.

SUN, YB; ZHAO, H; MU, DL; ZHANG, W; CUI, J; WU, L et al. Dexmedetomidine Inhibits Astrocytes Pyroptosis and Subsequently Protects the Brain in in Vitro and in Vivo Models of Sepsis. **Cell Death & Disease**, v. 10, n. 167, p. 1-13, 2019.

TANIGUCHI, T; KURITA, A; KOBAYASHI, K; YAMAMOTO, K; INABA, H. Dose-and time- Related Effects of Dexmedetomidine on Mortality and Inflammatory Responses to Endotoxine-Induced Shock in Rats. **Journal of Anesthesia**, v. 22, p. 221-228, 2008.

THOMAS, JD; FLACHSKAMPF, FA; CHEN, C; GUERRERO, JL; PICARD, MH; LEVINE, RA et al. Isovolumic Relaxation Time Varies Predictably with its Time Constant and Aortic and Left Atrial Pressures: Implications for the Noninvasive

- 1 Evaluation of Ventricular Relaxation. **American Heart Journal**, v. 124, p. 1035-1313,  
2 1992.
- 3
- 4 TRILTSCH, AE; WELTE, M; VON HOLMEYER, P; GROBE, J; GENAHR, A;  
5 MOSHIRZADEH, M et al. Bispectral Index-Guided Sedation With Dexmedetomidine  
6 in Intensive Care: a Prospective, Randomized, Double Blind, Placebo-Controlled  
7 Phase II Study. **Critical Care Medicine**, v. 30, n. 5, p. 1007-1014, 2002.
- 8
- 9 VAL-FLORES, LS; FIOR, A; SANTOS, A; REIS, L; BENTO, L. Is This Septic Shock?  
10 A Rare Case of Distributive Shock. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 26,  
11 n. 4, p. 416-420, 2014.
- 12
- 13 VAN DEN BERG, BM; NIEUWDORP, M; STROES, ESG; VINK, H. Glycocalys and  
14 Endothelial (Dys) Function: from Mice to Men. **Pharmacological Reports**, v. 58,  
15 supp, p. 75-80, 2006.
- 16
- 17 VAN DER POLL, T. Host-Pathogens Interactions in Sepsis. **The Lancet Infectious**  
18 **Diseases**, v. 8, p. 32-43, 2008.
- 19
- 20 VAN DER POLL, T; VAN DE VEERDONK, FL; SCICLUNA, BP; NETEA, MG. The  
21 Immunopathology of Sepsis and Potential Therapeutic Targets. **Nature**, v. 17, p.  
22 407-420, 2017.
- 23
- 24 VAN IPEREN, CE; GAILLARD, CAJM; KRAAIJENHAGEN, RJ; BRAAM, BG; MARX,  
25 JJM; WIEL, AVD. Response of Erythropoiesis and Iron Metabolism to Recombinat  
26 Human Erythropoietin in Intensive Care Unit Patients. **Critical Care Medicine**, v. 29,  
27 n. 9, p. 193-198, 2001.
- 28
- 29 VENN, RM; BRADSHAW, CJ; SPENCER, R; BREALEY, D; CAUDWELL, D;  
30 NAUGHTON, C et al. Preliminary UK Experience of Dexmedetomidine, a Novel  
31 Agente for Posoperative Sedation in the Intensive Care Unit. **Anaesthesia**, v. 54, p.  
32 1136-1142, 1999.
- 33

- 1 VESEY, DA; CHEUNG, C; PAT, B; ENDRE, Z; GOBE, G; JOHNSON, DW.  
2 Erythropoietin Protects Against Ischaemic Acute Renal Injury. **Nephrology, Dialysis,**  
3 **Transplantation**, v. 19, n. 2, p. 348-355, 2004.  
4
- 5 VILLELA, NR; NASCIMENTO JUNIOR, P. Dexmedetomidine in Anesthesiology.  
6 **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 53, n. 1, p. 97-113, 2003.  
7
- 8 VINCENT, JL; SUN, Q; DUBOIS, MJ. Clinical Trials of Immunomodulatory Therapies  
9 in Severe Sepsis and Septic Shock. **Clinical Infectious Diseases**, v. 34, p. 1084-  
10 1093, 2002.  
11
- 12 WANG, W; FAUBEL, S; LJUBANOVIC, D; MITRA, A; FALK, AS; KIM, J et al.  
13 Endotoxemic Acute Renal Failures is Attenuated in Caspase-1-Deficient Mice.  
14 **American Journal of Physiology – Renal Physiology**, v. 288, p. 997-1004, 2005.  
15
- 16 WORT, SJ; EVANS, TW. The Role of the Endothelium in Modulating Vascular  
17 Control in Sepsis and Related Conditions. **British Medical Bulletin**, v. 55, n. 1, p.  
18 30-48, 1999.  
19
- 20 WU, F; TYML, K; WILSON, JX. Ascorbate Inhibits iNOS Expression in Endotoxin –  
21 and IFN $\gamma$ - stimulated Rat Skeletal Muscle Endothelial Cells. **Federation of**  
22 **European Biochemical Societies Letters**, v. 520, p. 122-126, 2002.  
23
- 24 WU, F; WILSON, JX; TYML, K. Ascorbate Inhibit iNOS Expression and Preserves  
25 Vasoconstrictor Responsiveness in Skeletal Muscle of Septic Mice. **American**  
26 **Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.  
27 285, p. 50-56, 2003.  
28
- 29 WU, F; TYML, K; WILSON, JX; SCHUSTER, DP. Ascorbate Inhibits NADPH Oxidase  
30 Subunit p47phox Expression in Microvascular Endothelial Cells. **Free Radical**  
31 **Biology and Medicine**, v. 42, p. 124-131, 2007.  
32

- 1 WU, F; TYML, K; WILSON, JX. iNOS Expression Requires NADPH Oxidase-  
2 Dependent Redox Signaling in Microvascular Endothelial Cells. **Journal of Cellular**  
3 **Physiology**, v. 217, p. 207-214, 2008.  
4
- 5 WU, H; DONG, G; LIU, H; XU, B; LI, D; JING, H. Erythropoietin Attenuates Ischemia-  
6 Reperfusion Induced Lung Injury by Inhibiting Tumor Necrosis Factor Alpha and  
7 Matrix Metalloproteinase-9 Expression. **European Journal of Pharmacology**, v.  
8 602, p. 406-412, 2009.  
9
- 10 WU, WT; HU, TM; LIN, NT; SUBEQ, YM; LEE, RP; HSU, BG. Low-dose  
11 Erythropoietin Aggravates Endotoxin-Induced Organ Damage in Conscious Rats.  
12 **Cytokine**, v. 49, p. 155-162, 2010.  
13
- 14 XU, L; BAO, H; SI, Y; WANG, X. Effects of Dexmedetomidine on Early and Late  
15 Cytokines During Polymicrobial Sepsis in Mice. **Inflammation Research**, v. 62, p.  
16 507-514, 2013.  
17
- 18 ZHANG, J; WANG, Z; WANG, Y; ZHOU, G; LI, H. The Effect of Dexmedetomidine on  
19 Inflammatory Response of Septic Rats. **BioMed Central Anesthesiology**, v. 15, n.  
20 68, p. 1-6, 2015.  
21
- 22 ZHOU, G; KAMENOS, G; PENDEM, S; WILSON, JX; WU, F. Ascorbate Protects  
23 Against Vascular Leakage in Cecal Ligation and Puncture-Induced Septic Peritonitis.  
24 **American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative**  
25 **Physiology**, v. 302, p. 409-416, 2012.  
26  
27  
28  
29  
30  
31