

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO



NILTON NASCIMENTO DOS SANTOS JÚNIOR

Alterações neuroimunoendócrinas em animais sobreviventes à

sepse

RIBEIRÃO PRETO

2018

NILTON NASCIMENTO DOS SANTOS JÚNIOR

Alterações neuroimunoendócrinas em animais sobreviventes à sepse

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Neurologia (Subárea: Neurociências)

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria José Alves da Rocha

RIBEIRÃO PRETO

2018

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Santos-junior, Nilton Nascimento

Alterações neuroimunoendócrinas em animais sobreviventes à sepse. Ribeirão Preto, 2018.

108p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Neurologia.

Orientador: Rocha, Maria José Alves.

1. Hormônios neurohipofisários. 2. ACTH. 3. Corticosterona. 4. Sinaptofisina. 5. Beta- amilóide.

Nome: Santos-junior, Nilton Nascimento Título: Alterações neuroimunoendócrinas em animais sobreviventes à sepse

> Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Aprovado em: ____ / ___ / ____

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a)	Instituição:	
Julgamento:	Assinatura:	
Prof(a). Dr(a)	Instituição:	
Julgamento:	Assinatura:	
Prof(a). Dr(a)	Instituição:	
Julgamento:	Assinatura:	
Prof(a). Dr(a)	Instituição:	
Julgamento:	Assinatura:	
Prof(a). Dr(a)	Instituição:	
Julgamento:	Assinatura:	

"À todos que contribuíram para o desenvolvimento da pesquisa."

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Maria José Alves da Rocha, pela orientação, paciência, dedicação, confiança e ajuda nos momentos mais difíceis. Além dos conselhos e ensinamentos científicos.

À Nadir pelos auxílios técnicos laboratoriais, amizade e boas conversas

Aos técnicos Mauro Ferreira, Ruither de Oliveira, Patrícia Basile, Maria Valci, Milene Mantovani, Cleonice da Silva pela assistência sempre que necessária

Ao técnico Marcelo Eduardo Batalhão, pela disponibilidade e realização das dosagens de nitrato de plasmático.

Aos Professores Dr. José Antunes Rodrigues, Dr. Luiz Guilherme de Siqueira Branco, Dr^a. Terezila Machado Coimbra, Dr^a. Christie Ramos Andrade Leite Panissi e Dr^a. Evelin Capellari Cárnio pelo uso de seus laboratórios e equipamentos necessários para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos e colegas laboratório: Maykon, Luanne, Ana Rita, Ana Luiza, Fazal, Lucas, Rodrigo, Denise, Jessica, Tamires, Bruna e especialmente ao Luís Henrique e Carlos Henrique, pelo apoio, companheirismo e auxílios experimentais. Além das palavras de motivação e por terem compartilhado momentos tristes e alegres.

Aos colegas do departamento de Fisiologia da FORP: Mateus, Clarissa, João Sabino, João Pedrassi, Rafael, Richard, Nayara, Bruna Maitan, Bruna Balbino, Eduardo, Terence, Maurício, Keyla, Joyce, Isabelle, Alberto, Renato, Mariza, Daniela, Daniele, Paulo, Jonatas, Gabriela e Amanda pela amizade e discussões científicas.

Aos familiares pelo amor incondicional e torcida incansável.

À minha namorada pelo amor, companheirismo e cumplicidade e aos seus familiares pelo ambiente acolhedor que me confortou nos momentos mais difíceis.

Aos antigos e atuais funcionários do biotério da FORP: Raphael Martini, Edison, Serginho, Aline e Antônio Massaro pelo cuidado e preocupação com os animais.

À ex-secretária do departamento de Neurociências e Ciência do Comportamento, Silvana Loturco, pela solicitude e eficácia em resolver as questões burocráticas.

Aos animais que, com suas vidas, permitiram a realização deste trabalho.

Às agências de fomento: CNPq pela concessão da bolsa de doutorado e FAPESP pelo apoio financeiro.

"Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes." Isaac Newton

RESUMO

SANTOS-JUNIOR, N. N. Alterações neuroimunoendócrinas em animais sobreviventes à sepse 2018. 98f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2017.

Durante a sepse ocorre liberação de mediadores inflamatórios, que contribui para o comprometimento do sistema nervoso central e alterações na secreção dos hormônios hipofisários. Contudo, não está elucidado se essas alterações persistem em animais sobreviventes à sepse. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi estudar as alterações neuroimunoendócrinas em animais sobreviventes à sepse polimicrobiana experimental. A sepse foi induzida pelo método de ligadura e perfuração cecal (CLP) (uma perfuração com agulha 14G) e os animais foram observados durante cinco ou dez dias. Os animais naive ou sobreviventes foram submetidos ao desafio osmótico intraperitoneal com salina hipertônica (2M), ou desafio imune intravenoso com LPS (1.5 mg/kg), ou ao estresse por imobilização. Após 30 minutos do desafio osmótico ou 60 minutos para os demais estímulos, os animais foram decapitados para coleta de sangue e do hipotálamo. O sangue foi coletado para dosagem de nitrato, citocinas e hormônios (vasopressina, ocitocina, ACTH e corticosterona); e o hipotálamo para a quantificação dos níveis de citocinas e dos conteúdos de sinaptofisina e beta-amilóide. No presente estudo, nós observamos um aumento periférico dos mediadores inflamatórios: nitrato e IL-1β, e centralmente da citocina IL-6 no hipotálamo de animais sobreviventes à sepse. Além disso, dependendo do estímulo, observou-se uma atenuada (desafio osmótico) ou exacerbada (desafio imune) secreção da vasopressina e/ou ocitocina em animais sobreviventes à sepse. Adicionalmente, também encontramos uma diminuição no conteúdo hipotalâmico de sinaptofisina, e nenhum sinal de acúmulo de beta-amilóide. Concluímos que as alterações na secreção de vasopressina e ocitocina observadas podem estar associadas à neuroinflamação sustentada e disfunção sináptica com evidências de processo neurodegenerativo. Este modelo de sepse pode fornecer informações importantes para a compreensão das alterações fisiopatológicas à longo prazo.

Palavras-chaves: hormônios neurohipofisários, ACTH, corticosterona, sinaptofisina, beta-amilóide.

ABSTRACT

SANTOS-JUNIOR, N. N. Neuroimmunoendocrine alterations in sepsis survivor animals 2018. 98f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2017.

Inflammatory mediators released during sepsis contribute to central nervous system impairment and alterations in the secretion of pituitary hormones. However, it is unclear whether these changes persist in sepsis survivor animals. In this context, the objective of this work was to study the neuroimunoendocrine alterations in sepsis survivor animals. Sepsis was induced by the cecal ligation and perforation (CLP) method and the animals (perforated once with a 14G needle) were observed for five or ten days. Naive or sepsis survivors were submitted to intraperitoneal osmotic challenge with hypertonic saline (2M), or intravenous immune challenge with LPS (1.5 mg/kg), or immobilization stress. After 30 minutes of the osmotic challenge or 60 minutes for the other stimuli, the animals were decapitated for collection of blood and the hypothalamus. Blood was collected for the determination of nitrate, cytokines and hormones (vasopressin, oxytocin, ACTH and corticosterone); and the hypothalamus for quantification of cytokine levels, and synaptophysin and beta-amyloid contents. In the present study, we observed a peripheral increase of inflammatory mediators: nitrate and IL-1 β , and centrally of the IL-6 cytokine in the hypothalamus of sepsis survivor animals. In addition, depending on the stimulus, an attenuated (osmotic challenge) or exacerbated (immune challenge) secretion of vasopressin and/or oxytocin was observed in sepsis survivor animals. In addition, we also found a decrease in the hypothalamic content of synaptophysin, and no signal of beta amyloide accumulation. We conclude that alterations in vasopressin and oxytocin secretion may be associated with sustained neuroinflammation and synaptic dysfunction with evidence of neurodegenerative process. This model of sepsis may provide important informations for understanding long-term pathophysiological alterations.

Keywords: neurohypofiseal hormones, ACTH, corticosterone, synaptophysin, beta amy-

loid

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fisiopatologia séptica
Figura 2 – Protocolo experimental 1
Figura 3 – Protocolo experimental 2
Figura 4 – Protocolo experimental 3
Figura 5 – Procedimento cirúrgico de ligadura e punção cecal
Figura 6 – O eixo hipotálamo-neurohipofisário de animais submetidos ao desafio osmó-
tico no quinto dia após a indução da sepse35
Figura 7 – O eixo hipotálamo-neurohipofisário de animais submetidos ao desafio osmó
tico no décimo dia após a indução da sepse36
Figura 8 – Níveis de citocinas no hipotálamo de animais submetidos ao desafio osmótico
no quinto dia após a indução da sepse
Figura 9 – Níveis de citocinas no hipotálamo de animais submetidos ao desafio osmótico
no décimo dia após a indução da sepse38
Figura 10 – Níveis de sinaptofisina e beta-amilóide no hipotálamo de animais submetidos
ao desafio osmótico no quinto dia após a indução da sepse
Figura 11 – Níveis de sinaptofisina e beta-amilóide no hipotálamo de animais submetidos
ao desafio osmótico no décimo dia após a indução da sepse40
Figura 12 – O eixo hipotálamo-hipofisário de animais submetidos ao desafio imune no
quinto dia após a indução da sepse41
Figura 13 – O eixo hipotálamo-hipofisário de animais submetidos ao desafio imune no
décimo dia após a indução da sepse42
Figura 14 – Níveis de citocinas no hipotálamo de animais submetidos ao desafio imune
no quinto dia após a indução da sepse43
Figura 15 – Níveis de citocinas no hipotálamo de animais submetidos ao desafio imune
no décimo dia após a indução da sepse43
Figura 16 – Níveis de sinaptofisina e beta-amilóide no hipotálamo de animais submetidos
ao desafio imune no quinto dia após a indução da sepse44
Figura 17 – Níveis de sinaptofisina e beta-amilóide no hipotálamo de animais submetidos
ao desafio imune no décimo dia após a indução da sepse45
Figura 18 – O eixo hipotálamo-hipofisário de animais submetidos ao estresse de imobi-
lização no quinto dia após a indução da sepse46

Figura 19 – O eixo hipotálamo-hipofisário de animais submetidos ao estresse de imobi-
lização no décimo dia após a indução da sepse47
Figura 20 - Níveis de citocinas no hipotálamo de animais submetidos ao estresse de
imobilização no quinto dia após a indução da sepse48
Figura 21 - Níveis de citocinas no hipotálamo de animais submetidos ao estresse de
imobilização no décimo dia após a indução da sepse48
Figura 22 – Níveis de sinaptofisina e beta-amilóide no hipotálamo de animais submetidos
ao estresse de imobilização no quinto dia após a indução da sepse49
Figura 23 – Níveis de sinaptofisina e beta-amilóide no hipotálamo de animais submetidos
ao estresse de imobilização no quinto dia após a indução da sepse
Figura 24 – Resumo dos resultados encontrados no presente trabalho

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ILAS- Instituto Latino Americano de	Iv- Intravenosa
Sepse	TBE- tribromoetanol
TNF- Tumor Necrosis Factor	EDTA-Ethylenediamine tetraacetic acid
IL- Interleucina	HCl- Ácido clorídrico
IFN- Interferon	ELISA- Enzyme Linked Immuno Sobert
LPS- Lipopolissacarídeo	Assay
SNC- Sistema nervoso central	PBS- Phosphate Buffered Saline
PRL- Prolactina	BSA- Bovine serum albumin
AVP- Arginina vasopressina	H2O2- Peróxido de hidrogênio
OT- Ocitocina	TMB- 3,3', 5,5;- tetramethylbenzidine
CRH- Corticotropin-releasing hormone	H2SO4- Ácido sulfúrico
ACTH- Adrenocorticotropic hormone	BCA- Bicinchoninic acid assay
SON- Núcleo supraóptico	RIPA- Radioimmunoprecipitation assay
PVN- Núcleo paraventribular	buffer
NO- Óxido nítrico	PMSF- Phenylmethylsulfonyl fluoride
CLP- Ligadura e perfuração cecal	HRP- Horseradish peroxidase
HIF-1- Hypoxia-inducible factor 1	PBS-T- PBS- Tween
BAX- Bcl-2-associated X protein	EPM- Erro padrão da média
HPA- Hipotálamo-pituitária-adrenal	ANOVA- Análise de variância
CORT- Corticosterona	OVLT- Vascular organ of lamina termi-
APP- Amyloid precursor protein	nalis
ECA- Enzima conversora de angioten-	SFO- Subfornical organ
sina	MnPO- median preoptic area
LBP- Lipopolysaccharide binding pro-	NTS- Núcleo do trato solitário
tein	AV3V- anteroventral third ventricle
CD14- Cluster of differentiation 14	BnST- Bed nucleus of the stria termi-
MD-2- Myeloid differentiation-2	nalis
TLR-4- Toll-like receptor- 4	iNOS- Inducible nitric oxide synthase
Ip- Intraperitoneal	

SUN	πáτ	การ
301	IAI	uu

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Sepse e fisiopatologia	17
1.2 Alterações neuroendócrinas durante a sepse	18
2 OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo geral	25
2.2 Objetivos específicos	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Animais	27
3.2 Planejamento experimental	27
3.3 Anestesia e indução da sepse por "ligadura e punção cecal" (CLP)	29
3.4 Preparo e coleta do cérebro	30
3.5 Determinação de nitrato plasmático	30
3.6 Determinação de citocinas inflamatórias no plasma e hipotálamo	31
3.7 Determinação da osmolalidade no plasma	32
3.8 Determinação dos hormônios plasmáticos	32
3.9 Western Blot	32
3.10 Análise estatística	33

4 RESULTADOS
4.1 Avaliação do eixo hipotálamo-neurohipofisário de animais submetidos ao desafio os-
mótico no quinto ou décimo dia após a indução da sepse
4.2 Avaliação dos níveis das citocinas no hipotálamo de animais submetidos ao desafio
osmótico no quinto ou décimo dia após a indução da sepse
4.3 Avaliação dos níveis da sinaptofisina e beta-amilóide no hipotálamo de animais sub-
metidos ao desafio osmótico no quinto ou décimo dia após a indução da sepse
4.4 Avaliação do eixo hipotálamo-hipofisário de animais submetidos ao desafio imune
no quinto ou décimo dia após a indução da sepse40
4.5 Avaliação dos níveis das citocinas no hipotálamo de animais submetidos ao desafio
imune no quinto ou décimo dia após a indução da sepse42
4.6 Avaliação dos níveis da sinaptofisina e beta-amilóide no hipotálamo de animais sub-
metidos ao desafio imune no quinto ou décimo dia após a indução da sepse44

5 DISCUSSÃO	52
5.1 Alterações periféricas	53
5.2 Alterações hipotalâmicas	59
6 CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS	63
ANEXO	

1 INTRODUÇÃO

1.1 Sepse e fisiopatologia

A Sepse é definida como uma disfunção orgânica potencialmente fatal causada por uma resposta imune desregulada devido a infecção (Singer et al., 2016). A progressão do quadro séptico caracteriza-se por profundas alterações circulatórias e celulares/metabólicas, denominada choque séptico (Singer et al., 2016; Kim et al., 2018). A sepse é uma das maiores causas de morte nas unidades de terapia intensiva do mundo (Giacomini et al., 2015; Genga e Russell, 2017; Napolitano, 2018). No Brasil a mortalidade é cerca de 20,6%, podendo chegar 54,2 % nos casos de pacientes, que evoluem para o quadro de choque séptico (ILAS, 2018). Estes percentuais ainda são maiores analisando somente os pacientes atendidos em hospitais públicos. Os altos índices de mortalidade poderiam ser devido em parte, ao envelhecimento da população, ao aumento dos números de técnicas cirúrgicas invasivas e do uso de agentes imunossupressores, além da pouca compreensão da fisiopatologia da sepse (Mayr et al., 2014; Zhao et al., 2016; Martín et al., 2017). Além disso, temos os altos custos com internações, que giram em torno de 1.708 dólares por paciente com necessidades de cuidados intensivos, o que torna a sepse um dos grandes problemas de saúde pública (Quintano Neira et al., 2018). Portanto, são necessários estudos clínicos e experimentais para melhor compreensão da fisiopatologia séptica.

O processo fisiopatológico da sepse compreendido até o momento, envolve a interação dos componentes infecciosos, endócrinos, imunológicos, hemodinâmicos, cardiovasculares e genéticos (Holmes *et al.*, 2001; Holmes *et al.*, 2003; De Maio *et al.*, 2005; Van Der Poll *et al.*, 2017; Russell *et al.*, 2018), que podem resultar em uma resposta exacerbada, com a produção de mediadores inflamatórios (Bone, 1991; Parrillo, 1993; Annane *et al.*, 2005; Ince *et al.*, 2016; Napolitano, 2018; Russell *et al.*, 2018). Os mediadores inflamatórios produzidos pelas células do sistema imune (monócitos e neutrófilos) durante a sepse são entre outros: as citocinas (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ), óxido nítrico (NO), mediadores lipídicos (leucotrienos e prostaglandinas) (Benjamim *et al.*, 2005; Sriskandan e Altmann, 2008; Martins *et al.*, 2011; Chousterman *et al.*, 2017).



Figura 1 - Esquema representando a fisiopatologia séptica, adaptado de (Cohen, 2002).

A produção e liberação exacerbada desses mediadores inflamatórios causam alterações cardiovasculares e, eventualmente disfunção orgânica com risco de morte (Cohen, 2002) (**Figura 1.**). O sistema nervoso central (SNC) sofre alterações precoces durante a sepse, sendo relatadas disfunções autonômicas e neuroendócrinas (Pancoto, Correa, *et al.*, 2008; Gheorghiță *et al.*, 2015; Molnár *et al.*, 2018).

1.2 Alterações neuroendócrinas durante a sepse

As alterações neuroendócrinas ocorrem em vários eixos hormonais durante a sepse (Sibbald *et al.*, 1977; Dennhardt *et al.*, 1989; Rothwell *et al.*, 1991; Landry *et al.*, 1997; Wahab *et al.*, 2013). A secreção de vários hormônios do eixo hipotálamo-hipofisário seguem o mesmo padrão a seguir. Na fase inicial, os níveis de arginina vasopressina (AVP), ocitocina (OT), hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) estão aumentados e na tardia estes níveis encontram-se diminuídos. A alteração na secreção desses hormônios poderia contribuir para a fisiopatologia da sepse. AVP e OT são hormônios peptídicos secretados sintetizados nos neurônios magnocelulares dos núcleos supraóptico (SON) e paraventricular (PVN), cujos axônios se projetam para a neurohipófise, onde são liberados na circulação. Estes hormônios podem ser secretados simultaneamente em resposta à diferentes estímulos como: hiperosmolalidade, hipotensão, hipovolemia e angiotensina II. Entretanto, alguns estímulos como no caso da sucção mamária ou expulsão do feto durante o parto ocorre preferencialmente a liberação de OT (Dunn *et al.*, 1973; Cunningham e Sawchenko, 1991).

Durante a sepse ocorre diminuição inapropriada na secreção de AVP na fase tardia, já que ocorre uma hipotensão progressiva (causada principalmente pelo aumento de NO e citocinas) que seria um estímulo para secreção do hormônio (Landry et al., 1997; Patel et al., 2002; Rocha et al., 2006; Correa et al., 2007; Pancoto, Correa, et al., 2008; Athayde et al., 2009; Oliveira-Pelegrin, Branco, et al., 2010). O comprometimento na secreção de AVP poderia ocasionar diminuição da vasoconstrição sistêmica e da reabsorção de água nos ductos coletores. No caso, da OT, não há relatos clínicos sobre o padrão temporal de secreção desse hormônio durante a sepse. Entretanto, recentemente, foi verificado em nosso laboratório, usando modelo experimental de ligadura e perfuração cecal (CLP) na indução da sepse, que a OT também segue o padrão de secreção de AVP (Oliveira-Pelegrin, Aguila, et al., 2010). (Cunningham e Sawchenko, 1991; Kreek et al., 2011). Adicionalmente, a diminuição plasmática de OT também poderia ser um agravante, na medida em que, este hormônio é responsável pela modulação da resposta imune (Ișeri et al., 2005; Oliveira-Pelegrin, Saia, et al., 2013) e pela potencialização do efeito antidiurético e natriurético do AVP (Cunningham e Sawchenko, 1991; Gimpl e Fahrenholz, 2001). Alguns achados experimentais e clínicos que explicam esta deficiência desses hormônios na fase tardia da sepse são: diminuição dos estoques neurohipofisários (Sharshar et al., 2002; Oliveira-Pelegrin et al., 2009), alterações dos reflexos autonômicos (Holmes et al., 2001; Pancoto, Corrêa, et al., 2008), excessiva produção central de NO (Feihl et al., 2001; Sharshar et al., 2003; Giusti-Paiva et al., 2005) e apoptose dos neurônios magnocelulares (Oliveira-Pelegrin, Basso, et al., 2013; Oliveira-Pelegrin et al., 2014). De fato, em nosso laboratório foi visto um aumento progressivo de marcadores de estresse oxidativo e apoptose (caspase 3 clivada, HIF-1 [fator induzido por hipóxia-1], BAX [proteína X associada a Bcl-2]) no hipotálamo de animais induzidos à sepse por CLP (Oliveira-Pelegrin, Basso, et al., 2013; Oliveira-Pelegrin et al., 2014). Recentemente, nós também demonstramos, que a citocina IL-1ß contribui para o estresse oxidativo hipotalâmico (Wahab *et al.*, 2015; Wahab *et al.*, 2016). Portanto, a morte celular poderia ser uma das causas para desencadear alterações nas secreções hormonais observadas durante a sepse. De acordo com isto, foi visto que ocorre alterações na liberação de AVP e OT e síntese destes hormônios nas fases tardias da sepse (Oliveira-Pelegrin, Aguila, *et al.*, 2010).

Assim como os hormônios neurohipofisários, os hormônios do eixo hipotálamohipófise-adrenal (HPA): CRH, ACTH e a corticosterona (CORT), como relatado anteriormente, também apresentam alterações em seus níveis durante a sepse (Beishuizen e Thijs, 2003; Zhang et al., 2014; Kanczkowski et al., 2015; Kasahara e Inoue, 2015). O CRH é produzido nos neurônios parvocelulares do PVN, desta região partem axônios que convergem para a eminência mediana, onde este hormônio é secretado. A eminência mediana apresenta um sistema vascular altamente especializado, o sistema porta hipotálamohipofisário, através deste o CRH é transportado para a hipófise anterior onde estimula a secreção do ACTH. Este hormônio é liberado na corrente sanguínea e age no córtex da glândula adrenal induzindo a produção e liberação da CORT (Charlton e Ferrier, 1989; Lilly e Gann, 1992). O eixo HPA é ativado principalmente por estímulos estressores físicos e psicológicos (Herman et al., 1992; Herman et al., 2003; Herman et al., 2005; Riedemann et al., 2010). Durante a sepse, além da interrupção do ritmo circadiano de liberação, há inicialmente um aumento na secreção dos hormônios deste eixo, seguido de um posterior retorno aos seus níveis basais (Carlson et al., 2006; Maxime et al., 2007; Flierl et al., 2011; Kanczkowski et al., 2013). Uma possível explicação para essa diminuição seria deficiência na secreção de ACTH, cujas células secretoras poderiam estar em processo de apoptose (Sharshar et al., 2003; Maxime et al., 2007; Polito, Brouland, et al., 2011). A disfunção deste eixo poderia resultar em alterações metabólicas e de resposta imunológicas.

Portanto, o comprometimento da secreção de ACTH e CORT, como no caso da AVP e OT, pode ocorrer devido a neuroinflamação e estresse oxidativo que resultaria em dano celular. Este microambiente inflamatório parece estar relacionados com processos neurodegenerativos (Schwalm *et al.*, 2014; Calsolaro e Edison, 2016). Corroborando com esta hipótese, resultados recentes do laboratório mostraram, que animais sobreviventes apresentam alterações comportamentais associadas à neuroinflamação e indícios de neurodegeneração hipocampal (dados não publicados). Assim, é plausível que o peptídeo beta- amilóide, que é um marcador de doenças neurodegenerativas, também poderia estar presente no hipotálamo desses sobreviventes. Beta-amilóide é um peptídeo presente em

pequenas quantidades no parênquima cerebral. Entretanto, em condições patológicas, como na doença de Alzheimer, ocorre um acúmulo e deposição no SNC, formando agregados de fibrilas amilóides e posteriormente placas de beta-amilóide (Glenner e Wong, 1984b; a; Gorevic *et al.*, 1986). A produção deste peptídeo está relacionada com a clivagem proteolítica de uma proteína denominada proteína precursora amilóide (APP), envolvida com plasticidade sináptica e sinaptogênese (Wion et al., 1988; Gralle e Ferreira, 2007). As enzimas β - e γ - secretase participam desta clivagem, que dá origem ao peptídeo beta-amilóide (Epis et al., 2012). O peptídeo produzido pode apresentar diferentes números de aminoácidos (entre 40 a 43 aminoácidos), devido a variação no sítio de clivagem do domínio transmembrana da APP. Entre os 3 peptídeos, o que possui 42 aminoácidos é encontrado com maior frequência nas placas amilóides, que é conhecido por induzir uma resposta imune pró-inflamatória (Halverson et al., 1990; Fu et al., 2017). A quantidade destes peptídeos no SNC é controlada tanto pela taxa de produção, quanto pela de eliminação. Assim, a diminuição da atividade de enzimas responsáveis por sua degradação, como por exemplo a enzima conversora de angiotensina (ECA) e neprisilina, mostrou-se associada à condições neurodegenerativas (Bernstein et al., 2014; Yamamoto et al., 2017).

Uma proteína que poderia também estar alterada no hipotálamo e sugerir comprometimento da secreção dos hormônios é a sinaptofisina, uma glicoproteína integral de membrana, que ocorre em vesículas pré-sinápticas de neurônios (Wiedenmann e Franke, 1985). A função exata da sinaptofisina ainda não é bem conhecida, mas acredita-se está envolvida com aspectos comportamentais, pelo menos em modelos experimentais (Schmitt *et al.*, 2009). Seus níveis estão alterados em uma variedade de tumores neuroendócrinos. Além disso, devido à sua presença na maioria das sinapses é utilizada para quantificação sináptica (Calhoun *et al.*, 1996).

As alterações na secreção dos hormônios hipofisários são relativamente bem descritas durante à sepse. Contudo, não está elucidado se essas alterações persistem em animais sobreviventes à sepse. Para estudar se estas alterações ocorrem no período póssepse, nós utilizamos a salina hipertônica, lipopolissacarídeo (LPS) e o estresse de imobilização, que são estímulos responsáveis pela secreção de AVP, OT, ACTH e CORT (Dunn *et al.*, 1973; Weitzman *et al.*, 1978; Cunningham e Sawchenko, 1991; Callahan *et al.*, 1992; Rocha *et al.*, 1993; Jørgensen *et al.*, 2002; Vahl *et al.*, 2005; De Carvalho Borges *et al.*, 2006).

A salina hipertônica é um estímulo clássico, que aumenta a osmolalidade, e essa hiperosmolalidade, por sua vez, excita os neurônios osmorreceptores, que resultam no aumento da sede e secreção de AVP e OT (Dunn et al., 1973; Cunningham e Sawchenko, 1991; Richard e Bourque, 1995; Bourque, 2008; Hollis et al., 2008). Este estímulo induz a liberação simultânea desses hormônios, entretanto nota-se uma secreção acentuada da OT, cujos níveis plasmáticos são mais elevados do que os da AVP (Hartman et al., 1986; Kasting, 1988). Além disso, a administração da salina hipertônica no terceiro ventrículo causa outros efeitos como: diurese, natriurese e caliurese, pós sobrecarga hídrica, a qual são submetidos os animais. Esta resposta é dependente do sistema colinérgico e adrenérgico na área septal medial (Da Rocha et al., 1985). Um outro efeito da salina hipertônica é a mobilização de fluidos dos compartimentos intra e extracelulares para manter o equilíbrio osmótico. Desta maneira, a administração da salina hipertônica intravenosa têm sido estudada na fluidoterapia de animais experimentais e em pacientes com choque hemorrágico ou traumático, por proporcionar a expansão do volume plasmático (Nakayama et al., 1984; Rocha-E-Silva et al., 1986; Han et al., 2015; Nepomuceno et al., 2018). Este efeito, entretanto, é dependente do volume, da concentração e velocidade de infusão da salina hipertônica.

Um outro estímulo empregado neste trabalho, a administração de LPS, também induz um aumento prolongado dos hormônios neurohipofisários além dos hormônios CRH e ACTH do eixo HPA (Rodriguez et al., 2005; De Carvalho Borges et al., 2006; Fernandez-Solari et al., 2006; Goebel et al., 2011). Para produzir seus efeitos o LPS precisa interagir com leucócitos (principalmente monócitos e macrófagos), células endoteliais e outros tipos celulares. Inicialmente o reconhecimento do LPS é mediado pela interação com a proteína plasmática ligadora de LPS (LBP) (Wright et al., 1989; Vosbeck et al., 1990) e com outras proteínas, tais como: CD14 e MD-2, encontradas nas formas solúveis ou ancoradas à membranas celulares (Wright et al., 1990; Schumann, 1992; Shimazu et al., 1999). Este complexo (LPS-proteínas de reconhecimento) é capaz de ligar-se com receptores toll-like 4 (TLR-4), levando à ativação celular e produção de mediadores inflamatórios (Chow et al., 1999; Qureshi et al., 1999). Estas citocinas inflamatórias podem alcançar o SNC através de: 1- do transporte passivo com aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica (Liu et al., 1996; Minami et al., 1998), 2- do transporte ativo mediado por receptores presentes no endotélio vascular cerebral (Banks et al., 1989; Banks et al., 1993; Konsman et al., 2004), 3- de estruturas que não apresentam barreira hematoencefálica (órgãos circumventriculares e plexos coróides) (Desson e Ferguson, 2003; Marques *et al.*, 2009) e 4- do transporte axonal retrógrado (Ozaktay *et al.*, 2006). O efeito do LPS, sobre a produção e liberação dos hormônios, é devido primariamente aos mediadores inflamatórios (TNF- α , IL -1 β , IL-6, NO e leucotrienos) (Turnbull e Rivier, 1999; Haddad *et al.*, 2002). Alguns destes mediadores como por exemplo a IL-1 β induz uma intensa ativação dos neurônios parvocelulares do PVN, contendo CRH, e em neurônios magnocelulares vasoprossinérgicos e ocitocinérgicos dos núcleos PVN e SON. Além disso, mediadores como o TNF- α e NO são conhecidos por causar aumento da permeabilidade vascular e hipotensão, que também estimulam a ativação neuronal e secreção desses hormônios (Matsunaga *et al.*, 2000; Xia e Krukoff, 2003).

Um outro estímulo para secreção dos hormônio hipofisários é o estresse de imobilização, que consiste na restrição dos movimentos do animal em decúbito ventral. Para tal, os animais são mantidos em tubos de metais, que limitam suas respostas defensivas. Este modelo de estresse envolve componentes físicos e psicológicos, e é comumente usado em experimentos com ratos por não causar danos corporais (Paré e Glavin, 1986; Campos *et al.*, 2013) A duração e intensidade do estímulo variam conforme os diversos protocolos experimentais, podendo ser classificados em estresse agudo ou crônico. O estresse agudo pode ser entendido como uma ameaça imediata (com duração de minutos a horas), que aumenta de maneira sustentada (após 1-2 horas de estímulo), os níveis plasmáticos de CORT, ACTH e OT (Ivanyi *et al.*, 1991; Hashiguchi *et al.*, 1997; Nonaka, 1999; Flak *et al.*, 2011), e transitória dos níveis de AVP (poucos minutos após o estímulo) (Callahan *et al.*, 1992; Jezová *et al.*, 1993; Jørgensen *et al.*, 2002; Danevova *et al.*, 2013). Por outro lado, quando o estresse perdura por dias, semanas ou meses, ele é denominado de crônico e pode causar uma hipoativação do eixo HPA com baixos níveis plasmáticos de CORT nos animais imobilizados (Ostrander *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2016).

Portanto, nós elaboramos a hipótese de que as alterações hormonais encontradas durante a sepse, poderiam persistir em animais sobreviventes, resultando em atenuados níveis hormonais que poderiam ser detectados após desafios: osmótico (salina hipertônica), imune (LPS) e estresse de imobilização. E que essas alterações estariam relacionadas à neuroinflamação e neurodegeneração hipotalâmica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar as alterações neuroimunoendócrinas em animais sobreviventes à sepse polimicrobiana experimental induzida por CLP e submetidos ou não à estímulos osmótico, imune e de estresse imobilizante

2.2 Objetivos específicos

- i. Investigar a secreção hormonal (AVP, OT, ACTH e CORT) destes animais
- ii. Investigar a persistência de mediadores inflamatórios no hipotálamo destes animais
- iii. Investigar a transmissão sináptica e possível evidência de neurodegeneração no hipotálamo destes animais

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Para a realização dos experimentos foram utilizados ratos Wistar adultos, com peso corporal entre 250 a 300 gramas, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade de São Paulo, *Campus* de Ribeirão Preto, e alojados em gaiolas coletivas (quatro animais por gaiola) no Biotério I da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP. Os animais foram mantidos em fotoperíodo de 12/12 horas, à temperatura controlada de aproximadamente 25 ± 2 °C, com água e dieta comercial *ad libitum* (Nuvilab CR-1 Autoclavável, NUVITAL Nutrientes S/A). Todos os procedimentos experimentais realizados neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (CEUA-FORP protocolo nº.: 2014.1.518.58.7).

3.2 Planejamento experimental

Experimento 1: Avaliação do eixo hipotalâmico-neurohipofisário de animais submetidos a desafio osmótico no quinto ou décimo dia após a indução da sepse.

Animais submetidos à sepse por CLP ou Naive que sobreviveram após 05 ou 10 dias foram utilizados no estudo. A seguir eles foram submetidos à injeção intraperitoneal (ip) com salina hipertônica (2M) ou com solução salina isotônica, e após 30 minutos foram decapitados para a coleta de sangue e remoção do encéfalo. O sangue foi utilizado para a determinação de nitrato e citocinas (IL-1 β e IL-6) e hormônios (AVP e OT). O hipotálamo foi dissecado do encéfalo e, em seguida, armazenado a -70°C até a análise de citocinas, avaliação da neurodegeneração (proteína beta-amilóide) e processo sináptico (sinaptofisina) (**Figura 2.**).



Figura 2 - Protocolo experimental para avaliar a recuperação do eixo hipotalâmico- neurohipofisário após desafio osmótico com salina hipertônica.

Experimento 2: Avaliação do eixo hipotalâmico-hipofisário de animais submetidos ao desafio imune no quinto ou décimo dia após a indução da sepse.

Animais submetidos à sepse, que sobreviveram após 05 e 10 receberam a injeção intravenosa (iv) de LPS (1.5 mg/kg) ou de solução salina e após 1 horas, foram decapitados para a coleta de sangue e remoção do encéfalo. O sangue foi utilizado para a determinação de nitrato, citocinas (IL-1 β e IL-6) e hormônios (AVP, OT, ACTH e CORT). O hipotálamo foi dissecado do encéfalo e, em seguida, armazenado a -70°C até a análise de citocinas, avaliação da neurodegeneração e processo sináptico (**Figura 3.**).





Experimento 3: Avaliação do eixo hipotalâmico-hipofisário de animais submetidos ao estresse de imobilização no quinto ou décimo dia após a indução da sepse.

Animais sobreviventes à sepse foram submetidos à imobilização durante uma hora e em seguida, foram decapitados para a coleta de sangue e remoção do encéfalo. O sangue foi utilizado para a determinação de nitrato e citocinas (IL-1β e IL-6) e hormônios (AVP, OT, ACTH e CORT). O hipotálamo foi dissecado do encéfalo e, em seguida, armazenado a -70°C até a análise de citocinas, avaliação da neurodegeneração e processo sináptico (**Figura 4.**).



Figura 4 - Protocolo experimental para avaliar a recuperação do eixo hipotalâmico-hipofisário após o estresse de imobilização.

3.3 Anestesia e Indução da sepse por "ligadura e punção cecal" (CLP)

Os animais foram anestesiados com tribromoetanol (TBE) 2,5% (Sigma-Aldrich) em solução salina (25 mg/0,1 Kg), e posteriormente submetidos à incisão mediana de 2cm no abdômen seguido da exposição do ceco e obstrução (ligadura parcial) da válvula íleocecal. O ceco foi perfurado apenas uma vez com agulha 14G (**Figura 5.**) e após verificação do extravasamento do conteúdo cecal, o mesmo foi reintroduzido na cavidade peritoneal. O fechamento da cavidade abdominal foi realizado em dois planos de sutura com pontos separados. Solução salina estéril foi aplicada via subcutânea com líquido de reanimação (20 ml/Kg).



Figura 5 - Ilustração do procedimento cirúrgico de ligadura e punção cecal para indução de sepse (Buras *et al.*, 2005).

3.4 Preparo e coleta do tecido cerebral

Os animais foram decapitados 5 ou 10 dias após CLP sem procedimento anestésico para assegurar a não interferência na dosagem plasmática dos hormônios de nosso interesse (AVP, OT, ACTH e CORT). O sangue foi coletado em microtubos plásticos (Vacuplast – EDTA. K3, 5 mL) e centrifugado a 5000 *xg*, 4 °C, 20 min, para separação das fases sólida e líquida. Alíquotas do plasma foram utilizadas para determinação de nitrato plasmático e citocinas inflamatórias. O hipotálamo foi dissecado (porção anterior e médio-basal do hipotálamo, desde a porção anterior do quiasma óptico até à porção anterior dos núcleos mamilares, incluindo o órgão vascular da lâmina terminal [OVLT], SON, PVN, núcleo supra-quiasmático, núcleo arqueado, núcleo ventromedial e áreas periventriculares). A profundidade do fragmento foi de aproximadamente 2,0 mm de espessura. Após a dissecção, os tecidos foram congelados em gelo seco e armazenadas a -80°C para posterior para quantificação de citocinas inflamatórias, sinaptofisina e beta-amilóide.

3.5 Determinação de nitrato plasmático

Para determinar o nitrato plasmático foi utilizada a técnica de quimiluminescência NO-ozônio. Primeiramente, os plasmas foram desproteinizados por incubação com etanol 95% a 4°C por 30 minutos e, centrifugados por 5 minutos a 5000 *xg*. As amostras desproteinizadas foram injetadas em um vaso de reação contendo um agente redutor (cloreto de vanádio 0,8% em HCl 1N à 95°C), que converte o nitrato em quantidades equimolares

de NO. O NO é então aspirado, usando gás hélio, para a câmara de quimiluminescência do *Sievers NO Analizer (Sievers 280 NOA, Sievers, Boulder, CO, USA*). Nesta câmera o NO reage com o ozônio emitindo luz vermelha, este fóton emitido é então detectado e convertido em sinal elétrico. A corrente gerada é convertida por um conversor analógicodigital e analisada em computador. A área sob a curva gerada pela corrente elétrica corresponde à concentração de nitrato da amostra. A concentração foi calculada por comparação com uma curva padrão utilizando concentrações conhecidas (0, 5, 10, 15, 30, 60 µmol) de nitrato de sódio.

3.6 Determinação de citocinas inflamatórias no plasma e hipotalámo

As citocinas do plasma e hipotálamo foram quantificadas por ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). As placas de 96 poços (Maxisorp, NUNC) foram sensibilizadas com 50 μL/poço de anticorpo de captura específico anti-IL-1β (0,8 μg/mL) ou anti-IL-6 (4 µg/mL) (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA), diluídos em PBS, pH 7,2, e incubadas a 4°C por 18-22 horas. As placas foram lavadas três vezes com wash buffer (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA), para a remoção do excesso de anticorpos não aderidos. A seguir, os poços foram bloqueados com 150 µl/poço de reagente diluente (PBS contendo 1% de BSA) para evitar ligações inespecíficas (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA), por uma hora à temperatura ambiente. Posteriormente, 50 µl das amostras ou curva padrão (IL-1β ou IL-6 recombinante) foram pipetadas nas respectivas placas e incubadas por 2 horas, à temperatura ambiente. Após adição de 50ul de anticorpo biotinilado (IL-1 β = 350 ng/ml e IL-6 = 400 ng/ml) as placas foram novamente incubadas por 2 horas, à temperatura ambiente. Anticorpos excedentes que não se ligaram aos antígenos foram removidos por lavagem e, em seguida, 50 µl do conjugado avidina-peroxidase (1:5000) foi adicionado a cada poço, seguido de incubação por 20 minutos. As placas foram lavadas e a seguir 50 µL da solução substrato contendo peróxido de hidrogênio (H₂O₂) mais o cromógeno TMB na proporção 1:1 (tetramethylbenzidine; Life Technologies) foi adicionada a cada poço sendo que o tempo máximo de reação não excedeu 20 minutos. A reação foi interrompida pela adição de 25 µl de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 2N e a absorbância determinada a 450 nm (SynergyTM H1, BioTek[®] Instruments, Inc.). Os resultados foram expressos em pg/ml para citocinas plasmáticas e pg/mg para citocinas hipotalâmicas. Os resultados das citocinas no hipotálamo foram normalizados pela concentração de proteínas presentes no tecido determinada através do método do ensaio com ácido bicinconínico (BCA) (Pierce BCA protein assay kit).

3.7 Determinação da osmolalidade no plasma

A osmolalidade plasmática foi determinada pelo ponto de congelamento usando o osmômetro Fiske Mark3 Osmometer (Fiske Associates, Norwood, Massachusetts, USA). Este procedimento foi realizado no laboratório da Prof^a Dr^a. Terezila Machado Coimbra na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

3.8 Determinação dos hormônios plasmáticos

Para determinação da AVP, OT, ACTH e CORT foram utilizadas amostras de plasma. Somente para as dosagens de AVP e OT, as proteínas, contidas em 500 μ l de plasma, foram extraídas por incubação com acetona e éter de petróleo. Em seguida estas amostras foram liofilizadas e ressuspendidas em 125 μ l (AVP) ou 500 μ l (OT) do tampão de ensaio. Os ELISAs foram realizados utilizando os kits da empresa Enzo Life Sciences Inc. para AVP e OT e os kits da empresa Wuhan USCN Business Co., Lt para ACTH e CORT seguindo as instruções dos fabricantes.

3.9 Western Blot

Após dissecção os hipotálamos foram homogeneizados por ultrassom em solução contendo tampão do ensaio de radioimunoprecipitação (RIPA, Sigma-Aldrich) e um mix de inibidores de protease (10%, Sigma-Aldrich) diluído 1:10 e 0,5% de fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF, Sigma-Aldrich). As amostras de hipotálamo foram deixadas em agitação no gelo por 2h, em seguida foram centrifugadas a 5000 *xg* por 20min a 4 °C para coleta do sobrenadante. A quantidade de proteína total de cada sobrenadante foi determinada usando ensaio com BCA de acordo com as instruções do fabricante (Pierce BCA protein assay kit). As amostras (volume correspondente a 40µg de proteína) foram diluídas em tampão Laemmli 2x na proporção 1:1 (Sigma-Aldrich). E foram submetidas a uma corrida eletroforética em gel de poliacrilamida 12% (125V, 90 min) para separação das proteínas. Marcadores de massa molecular de 10kDa a 245kDa (Prism Ultra Protein Ladder) foram aplicados em um dos poços do gel para visualização da separação e qualidade de transferência. Após eletroforese, as proteínas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose (0,45µm; Amersham) em sistema de tanque de blotting sob uma corrente de 125V durante 90 min em tampão de transferência contendo 20% de metanol. A membrana foi incubada overnight a 4°C com anticorpos contra anti-sinaptofisina (Cell Signaling), anti-beta-amilóide (Cell Signaling) e anti-β-actina (Santa Cruz). Anticorpo secundário conjugado com HRP (horseradish peroxidase) anti-rabbit (Abcam) e antimouse (Santa Cruz) foram diluídos 1:10000 em PBS-T com BSA 1% e as membranas foram incubadas com agitação durante 2h a 4°C. A detecção foi feita usando um kit de reação quimioluminescente (ECL prime, Amersham) e as bandas detectadas foram quantificadas pelo software ImageLab 5.2.1 (BioRad). Os resultados foram transformados em unidades arbitrárias de densidade óptica e expressos pela razão de intensidade das bandas de sinaptofisina e beta-amilóide com a intensidade da banda de β-actina (controle interno).

3.10 Análise estatística

Os gráficos expressando média ± erro padrão da média (EPM) e todas as análises estatísticas foram feitas através do programa *GraphPad Prism* versão 5.0 (*GraphPad Software, Inc. 2007*). Para variáveis com distribuição normal (distribuição Gaussiana) foi utilizado o teste estatístico ANOVA, seguido pelo pós-teste de Tukey. Por outro lado, as que não possuíam distribuição normal foram submetidas ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn. A curva de sobrevida foi expressa como porcentagem de animais vivos. Valores de P< 0,05 foram considerados estaticamente diferentes.

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação do eixo hipotalâmico-neurohipofisário de animais submetidos ao desafio osmótico no quinto ou décimo dia após a indução da sepse.

Os animais que foram submetidos à sepse polimicrobiana através da cirurgia por CLP apresentaram os sinais clínicos de infecção incluindo piloereção, letargia, exsudato peritoneal e dilatação abdominal. O estímulo séptico (1 furo com agulha 14 G) induziu uma sobrevivência de aproximadamente 70 % dos animais cinco dias após a cirurgia (**Figura 6a.**). Dez dias após a indução da sepse 50% dos animais sobreviveram (**Figura 7a.**).



Figura 6 – Curva de sobrevivência de ratos naive ou submetidos à cirurgia de CLP (a). Após 5 dias os animais sobreviventes receberam injeção intraperitoneal de salina isotônica ou salina hipertônica (2M, desafio osmótico). Concentrações plasmáticas de nitrato (b), IL-1 β (c), IL-6 (d), osmolalidade (e), AVP (f) e OT (g) foram avaliadas 30 minutos após o desafio osmótico. Animais naive foram usados como controle. As colunas representam média ± EPM de 5-8 animais por grupo. *P< 0.05, **P<0.01, ***P<0.001 e n.d não detectável.

A injeção de salina hipertônica aumentou, como esperado, a osmolalidade do plasma de animais naive ou sobreviventes à sepse (5 ou 10 dias) comprovando a efetividade do estímulo (**Figuras 6e.; 7e.).** As concentrações plasmáticas de nitrato e IL-1β encontravam-se aumentadas nos animais 5 dias após a indução da sepse (**Figura 6b, c.**), entretanto após 10 dias seus níveis já se encontravam basais (**Figura 7b, c.**). Quanto a IL-6, a mesma não foi detectada 5 dias ou 10 dias após a sepse (**Figuras 6d.; 7d.**). O estímulo osmótico, por sua vez, não alterou os níveis plasmáticos do nitrato, nem das duas citocinas (5 ou 10 dias) nos animais sobreviventes à sepse (**Figuras 6b-d.; 7b-d**). Embora não houve diferença da osmolalidade depois do estímulo (5 ou 10 dias) entre os animais naive e sobreviventes (**Figuras 6e.; 7e.**), as concentrações plasmáticas de AVP estavam reduzidas 5 ou 10 dias (**Figuras 6f.; 7f.**). Já as concentrações plasmáticas de OT estavam diminuídas com 5 dias (**Figura 6g.**), mas não mostraram diferença no grupo de 10 dias (**Figura 7g.**).



Figura 7 – Curva de sobrevivência de ratos naive ou submetidos à cirurgia de CLP (a). Após 10 dias os animais sobreviventes receberam injeção intraperitoneal de salina isotônica ou salina hipertônica (2M, desafio osmótico). Concentrações plasmáticas de nitrato
(b), IL-1 β (c), IL-6 (d), osmolalidade (e), AVP (f) e OT (g) foram avaliadas 30 minutos após o desafio osmótico. Animais naive foram usados como controle. As colunas representam média ± EPM de 5-8 animais por grupo. **P<0.01, ***P<0.001 e n.d. não detectável.

4.2 Avaliação dos níveis de citocinas inflamatórias no hipotálamo de animais submetidos ao desafio osmótico no quinto ou décimo dia após a indução da sepse.

Observamos um aumento nos níveis de IL-6 no hipotálamo de animais sobreviventes à sepse (5 e 10 dias) e a administração da salina hipertônica não alterou esses níveis (**Figuras 8b.; 9b.**). Enquanto, que a citocina IL-1 β foi encontrada em níveis basais tanto em 5 dias quanto em 10 dias (**Figuras 8a.; 9a.**)



Figura 8 – Concentrações hipotalâmicas de IL-1 β (a) e IL-6 (b) foram mensuradas em naive e sobreviventes à sepse (5 dias), 30 minutos após o desafio osmótico ou salina iso-tônica (controle) dos animais. As colunas representam média ± EPM de 5-8 animais por grupo. *P<0.05.



Figura 9 – Concentrações hipotalâmicas de IL-1 β (a) e IL-6 (b) foram mensuradas em naive e sobreviventes à sepse (10 dias), 30 minutos após a injeção de salina hipertônica. As colunas representam média ± EPM de 5-8 animais por grupo. *P<0.05.

4.3 Avaliação dos níveis de sinaptofisina e beta-amilóide no hipotálamo de animais submetidos ao desafio osmótico no quinto ou décimo dia após a indução da sepse.

Um diminuição no conteúdo de sinaptofisina do hipotálamo foi observada em animais sobreviventes à sepse (5 e 10 dias), e a administração da salina hipertônica não alterou o resultado (**Figuras 10b.; 11b.**). Enquanto, que não foi detectado de beta-amilóide tanto em 5 dias, quanto em 10 dias após o CLP (**Figuras 10c.; 11c.**)



Figura 10 – Os conteúdos hipotalâmicos de sinaptofisina (b) e beta-amilóide (c) foram avaliados 30 minutos após o estímulo osmótico em animais naive ou sobreviventes à sepse (5 dias). Imagem representativa do Western Blot para sinaptofisina e beta-amilóide (a). Animais naive foram usados como controle. As colunas representam média \pm EPM de 5-8 animais por grupo. *P< 0.05 e n.d. não detectável.



Figura 11 – Os conteúdos hipotalâmicos de sinaptofisina (b) e beta-amilóide (c) foram avaliados 30 minutos após o estímulo osmótico em animais naive ou sobreviventes à sepse (10 dias). Imagem representativa do Western Blot para sinaptofisina e beta-amilóide (a). Animais naive foram usados como controle. As colunas representam média \pm EPM de 5-8 animais por grupo. *P< 0.05 e n.d. não detectável.

4.4 Avaliação do eixo hipotalâmico-hipofisário em animais submetidos ao desafio imune no quinto ou décimo dia após a indução da sepse.

A injeção com LPS, de maneira esperada, causou o aumento de nitrato, IL-1 β e IL-6 nos naive e animais sobreviventes após 5 dias do CLP sem apresentar diferença entre os grupos estimulados (**Figura 12 a-c.**). Já em 10 dias, os animais sobreviventes à sepse tiveram um aumento de nitrato, IL-1 β , IL-6, contudo de maneira atenuada em comparação com o naive estimulado com LPS (**Figura 13 a-c.**).



Figura 12 – Animais naive ou sobreviventes à sepse (5 dias) receberam injeção intravenosa de salina (controle do estímulo) ou de lipopolissacarídeo (LPS- 1.5mg/kg). Concentrações plasmáticas de nitrito (a), IL-1 β (b), IL-6 (c), AVP (d), OT (e), ACTH (f) e CORT (g) foram avaliadas 60 minutos após o estímulo com LPS. As colunas representam média ± EPM de 5-8 animais por grupo. *P< 0.05, **P<0.01 e ***P<0.001.

Houve um aumento na concentração plasmática dos hormônios AVP, OT, ACTH e CORT após a injeção de LPS (**Figuras 12 d-g.; 13 d-g.**). Os níveis plasmáticos de AVP e OT foram acentuados nos animais sobreviventes 5 dias (**Figura 12 d, e.**), e permaneceram acentuados somente no caso da AVP após 10 dias da indução da sepse (**Figura 13 d, e.**). Por outro lado, não ocorreram diferenças nos níveis de ACTH e CORT entre os grupos (Naive e Sepse) estimulados (**Figuras 12 f,g.; 13 f,g.**).



Figura 13 – Animais naive ou sobreviventes à sepse (10 dias) receberam injeção intravenosa de salina (controle do estímulo) ou de lipopolissacarídeo (LPS- 1.5mg/kg). Concentrações plasmáticas de nitrito (a), IL-1 β (b), IL-6 (c), AVP (d), OT (e), ACTH (f) e CORT (g) foram avaliadas 60 minutos após o estímulo com LPS. As colunas representam média ± EPM de 5-8 animais por grupo. *P< 0.05, **P<0.01 e ***P<0.001.

4.5 Avaliação dos níveis de citocinas inflamatórias no hipotálamo de animais submetidos ao desafio imune no quinto ou décimo dia após a indução da sepse.

Observamos um aumento dos niveis de IL-1 β e IL-6 no hipotálamo de animais naive ou sobreviventes à sepse (5 e 10 dias) 60 minutos após a administração de LPS (**Figuras 14 a,b.; 15 a,b.**). Entretanto, não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os grupos estimulados (**Figuras 14 a,b; 15a,b**).



Figura 14 – Concentrações hipotalâmicas de IL-1 β (a) e IL-6 (b) foram mensuradas em naive e sobreviventes à sepse (5 dias), 60 minutos após a injeção de LPS. As colunas representam média \pm EPM de 5-8 animais por grupo. *P< 0.05, **P<0.01 e ****P<0.0001.

•



Figura 15 – Concentrações hipotalâmicas de IL-1 β (a) e IL-6 (b) foram mensuradas em naive e sobreviventes à sepse (10 dias), 60 minutos após desafio com LPS. As colunas representam média ± EPM de 5-8 animais por grupo. *P< 0.05, **P<0.01, ***P<0.001 e ****P<0.0001.

4.6 Avaliação dos níveis de sinaptofisina e beta-amilóide no hipotálamo de animais submetidos ao desafio imune no quinto ou décimo dia após a indução da sepse.

Um diminuição nos níveis de sinaptofisina do hipotálamo foi observada em animais sobreviventes à sepse (5 e 10 dias) e a administração de LPS não alterou esses níveis (**Figuras 16 b.; 17b.**). Enquanto, que a proteína beta-amilóide não foi detectada em 5 dias e 10 dias após o CLP (**Figuras 16c.; 17c.**).



Figura 16 – Os conteúdos hipotalâmicos de sinaptofisina (b) e beta-amilóide (c) foram avaliados 60 minutos após o estímulo inflamatório (LPS) em animais naive ou sobreviventes à sepse (5 dias). Imagem representativa do Western Blot para sinaptofisina e beta-amilóide(a). Animais naive foram usados como controle. As colunas representam média \pm EPM de 5-8 animais por grupo. **P<0.01, ***P<0.001 e n.d não detectável.



Figura 17 – Os conteúdos hipotalâmicos de sinaptofisina (b) e beta-amilóide (c) foram avaliados 60 minutos após a administração de LPS em animais naive ou sobreviventes à sepse (10 dias). Imagem representativa do Western Blot para sinaptofisina e beta-amilóide (a). Animais naive foram usados como controle. As colunas representam média \pm EPM de 5-8 animais por grupo. *P< 0.05 e n.d. não detectável.

4.7 Avaliação da recuperação do eixo hipotalâmico-neurohipofisário em animais submetidos ao estresse de imobilização no quinto ou décimo dia após a indução da sepse.

No plasma as concentrações de IL-1 β e nitrato encontraram-se aumentadas 5 dias após a indução de sepse (**Figura 18 a, b.**), entretanto após 10 dias já estavam em níveis basais (**Figura 19 a, b.**). Analisando outra citocina, a IL-6, nós observamos que sua concentração permaneceu basal 5 ou 10 dias após o CLP (**Figuras 18 c.; 19c.**). A imobilização dos animais, por sua vez, não alterou as concentrações plasmáticas das





Figura 18 – Animais naive ou sobreviventes à sepse (5 dias) foram imobilizados ou não (controle). Concentrações plasmáticas de nitrato (a), IL-1 β (b), IL-6 (c) AVP (d), OT (e) ACTH (f) e CORT (g) foram mensuradas 60 minutos após a contenção dos animais. As colunas representam média ± EPM de 5-8 animais por grupo. *P< 0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.0001 e n.d. não detectável.

Os animais imobilizados (naive ou sobreviventes à sepse) após 5 ou 10 dias apresentaram um aumento esperado nos níveis plasmáticos de OT, ACTH e CORT, comprovando a eficiência do estímulo (**Figuras 18 e-g.; 19 e-g.).** Por outro lado, a AVP não foi detectada no plasma dos animais naive e sobreviventes (**Figuras 18 d.; 19 d.).** Adicionalmente, não houve diferença nos níveis plasmáticos de todos os hormônios detectados (5 e 10 dias) entre os animais naive e sobreviventes à sepse (**Figuras 18 e-g.; 19 e-g.**).



Figura 19 – Animais naive ou sobreviventes à sepse (10 dias) foram imobilizados ou não (controle). Concentrações plasmáticas de nitrato (a), IL-1 β (b), IL-6 (c), AVP (d), OT (e), ACTH (f) e CORT (g) foram mensuradas 60 minutos após a contenção dos animais. As colunas representam média ± EPM de 5-8 animais por grupo. *P< 0.05, **P<0.01, ***P<0.001 e n.d não detectável.

4.8 Avaliação dos níveis de citocinas inflamatórias no hipotálamo de animais submetidos ao estresse de imobilização no quinto ou décimo dia após a indução da sepse.

Notamos um aumento nos conteúdos IL-6 no hipotálamo de animais sobreviventes à sepse (5 e 10 dias), enquanto a IL-1 β se manteve em níveis basais. A restrição não alterou as concentrações das citocinas hipotalâmicas nos animais naive ou sobreviventes (**Figuras 20 a,b.; 21 a,b.**).



Figura 20 – Concentrações hipotalâmicas de IL-1 β (a) e IL-6 (b) foram mensuradas em naive e sobreviventes à sepse (5 dias), 60 minutos após a imobilização ou não (controle) dos animais. As colunas representam média ± EPM de 5-8 animais por grupo. ***P<0.001.



Figura 21 – Concentrações hipotalâmicas de IL-1 β (a) e IL-6 (b) foram mensuradas em naive e sobreviventes à sepse (10 dias), 60 minutos após a imobilização ou não (controle) dos animais. As colunas representam média ± EPM de 5-8 animais por grupo. **P<0.01.

4.9 Avaliação dos níveis de sinaptofisina e beta-amilóide no hipotálamo de animais submetidos ao estresse de imobilização no quinto ou décimo dia após a indução da sepse. Uma redução nos conteúdos de sinaptofisina do hipotálamo foi observada em animais sobreviventes à sepse (5 e 10 dias) e esses níveis não foram alterados pela restrição (**Figuras 22 b.; 23 b.**). A proteína beta-amilóide não foi detectada em nenhum tempo analisado (**Figuras 22 c.; 23 c.**).



Figura 22 – Os conteúdos hipotalâmicos de sinaptofisina (b) e beta-amilóide(c) foram mensurados 60 minutos após a imobilização de animais naive ou sobreviventes à sepse (5 dias). Imagem ilustrativa do Western Blot para sinaptofisina e beta-amilóide(a). Animais naive foram usados como controle. As colunas representam média \pm EPM de 5-8 animais por grupo. *P< 0.05, ***P<0.001 e n.d. não detectável.



Figura 23 – Os conteúdos hipotalâmicos de sinaptofisina (b) e beta-amilóide(c) foram mensurados 60 minutos após a imobilização de animais naive ou sobreviventes à sepse (**10 dias**). Imagem ilustrativa do Western Blot para sinaptofisina e beta-amilóide(a). Animais naive foram usados como controle. As colunas representam média \pm EPM de 5-8 animais por grupo. *P< 0.05, **P<0.01 e n.d. não detectável.

A figura resume através de um esquema representativo os resultados obtidos (Figura 24.).



Figura 24 - Esquema representando as alterações encontradas nos animais sobreviventes à sepse submetidos ao desafio osmótico, imune ou estresse de imobilização.

5 DISCUSSÃO

No presente estudo, nós observamos um aumento periférico dos mediadores inflamatórios: nitrato e IL-1 β , e centralmente da citocina IL-6 no hipotálamo de animais sobreviventes à sepse. Adicionalmente, também encontramos uma diminuição no conteúdo hipotalâmico de sinaptofisina, sendo um indício de processo neurodegenerativo. Alguns desses eventos fisiopatológicos em sobreviventes foram associados às alterações nas concentrações plasmáticas de AVP e OT em resposta aos desafios osmótico e imune.

Nosso modelo de sepse por CLP (um furo com agulha 14G) induziu mortalidade de aproximadamente 50% até o oitavo dia, posteriormente não foram observadas mais mortes. Os animais no quinto dia após a indução da sepse foram considerados animais sobreviventes em estágio inicial de recuperação e no décimo dia animais em estágio tardio de recuperação. Nós também encontramos bacteremia de 30%, cinco dias após o CLP e não detectamos carga bacteriana no sangue, no baço ou no linfonodo mesentérico, 10 dias pós-CLP. Além disso, as enzimas hepáticas estavam em níveis basais no décimo dia após a indução da sepse (dados não apresentados). Adicionalmente, estudos prévios tem caracterizado bem a recuperação fisiológica dos sobreviventes neste modelo experimental com apenas um furo no ceco de ratos Wistar (Ritter *et al.*, 2003; Barichello *et al.*, 2005a; b; Tuon *et al.*, 2008; Comim *et al.*, 2011). Assim, o modelo mostrou-se adequado aos propósitos dos experimentos.

5.1 Alterações periféricas

Primeiramente, sabendo-se que existe um comprometimento nos eixos HPA e hipotálamo-neurohipofisário em diversos modelos de sepse e em pacientes sépticos (Soni *et al.*, 1995; Landry *et al.*, 1997; Corrêa *et al.*, 2007; Siami *et al.*, 2010; Polito, Sonneville, *et al.*, 2011; Oliveira-Pelegrin, Saia, *et al.*, 2013), avaliamos a recuperação desses eixos 5 e 10 dias após os animais terem sido submetidos à indução da sepse. Esta recuperação foi avaliada através do desafio osmótico (salina hipertônica), imune (LPS) ou estresse de imobilização. Estes estímulos, conforme referido na introdução, são conhecidos por causar a secreção de hormônios hipofisários como é o caso da AVP, OT e ACTH (Dunn *et al.*, 1973; Weitzman *et al.*, 1978; Cunningham e Sawchenko, 1991; Callahan *et al.*, 1992; Rocha *et al.*, 1993; Jørgensen *et al.*, 2002; Vahl *et al.*, 2005; De Carvalho Borges *et al.*, 2006).

Em resposta à hiperosmolalidade, neurônios osmorreceptores presentes no OVLT, órgão subfornical (SFO) e área pre-óptica medial (MnPO), que se projetam para o SON

e PVN estimulam os neurônios magnocelulares causando a liberação de AVP e OT (Cunningham e Sawchenko, 1991; Bourque, 2008). Apesar da salina hipertônica aumentar a osmolalidade em todos os animais administrados, nós observamos uma atenuada secreção da AVP em animais sobreviventes à sepse (5 e 10 dias após a cirurgia). Nossos resultados, portanto confirmam estudo clínico que demonstra a mesma atenuação nos níveis plasmáticos de AVP após estimulo osmótico em alguns sobreviventes à sepse (Siami et al., 2013). Nós também encontramos atenuada concentração de OT no plasma de animais cinco dias após e indução da sepse, entretanto não há na literatura estudos clínicos que relatam a secreção deste hormônio em sobreviventes à sepse. Uma explicação para o comprometimento na secreção da AVP e OT na sepse é que ocorreria dano nas regiões osmorregulatórias (OVLT, SFO e MnPO) (Thrasher et al., 1982; Iovino e Steardo, 1984). Estas regiões são desprovidas de barreira hematoencéfalica e podem, portanto sofrer a ação direta de componentes bacterianos e de mediadores inflamatórios produzidos durante a sepse (Lacroix et al., 1998; Quan et al., 1999; Shimada e Hasegawa-Ishii, 2017). Entretanto, nós observamos uma diferença no tempo de recuperação da secreção de AVP e OT. Isto pode ser explicado pelo fato de que um mesmo estímulo (salina hipertônica) leva a secreção desses hormônios em diferentes magnitudes, como observado por vários pesquisadores (Hartman et al., 1986; Kasting, 1988). Isto dever ser causado pela estimulação de vias diferentes, no caso da secreção destes dois hormônios. Como descrito na introdução, diversos estímulos são conhecidos por causar a secreção simultânea ou seletiva de AVP ou OT, (Cunningham e Sawchenko, 1991). Então é provável que apesar da liberação simultânea, a secreção destes hormônios possa ser seletivamente regulada, ocorrendo distintos tempos de recuperação.

Supreendentemente, nós evidenciamos uma acentuada secreção de AVP e OT em animais sobreviventes após o desafio imune com LPS. Assim como na salina hipertônica, o tempo de recuperação da secreção destes hormônios é distinto. A administração dessa endotoxina mimetiza algumas das respostas fisiopatológicas causadas pela sepse, como: resposta inflamatória sistêmica, hipotensão, taquicardia e alteração na secreção da AVP e OT (Carnio *et al.*, 2005; Moreto *et al.*, 2006). Os mediadores inflamatórios periféricos que alcançam o SNC estimulam, por sua vez, as glias e neurônios a produzir mais citocinas (Sébire *et al.*, 1993; Nadeau e Rivest, 2000). Recentemente, nós observamos um aumento na permeabilidade da barreira hematoencefálica na região hipotalâmica associada à ativação microglial no SON em ratos sépticos, (Da Costa *et al.*, 2016). De fato, diversos trabalhos mostram um comprometimento ou aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica durante a sepse (Davies, 2002; Yeh et al., 2015; Kuperberg e Wadgaonkar, 2017). Assim, essas citocinas produzidas na periferia e centralmente podem estimular a secreção da AVP e OT agindo diretamente nos neurônios magnocelulares (Nakatsuru et al., 1991; Yasin et al., 1994; Palin et al., 2009). A produção periférica de mediadores inflamatórios também resulta em hipotensão. A hipotensão e distensão da parede vascular após a administração do LPS levam à deformação mecânica nas terminações nervosas dos barorreceptores. Essa informação é conduzida via glossofaríngeo ou nervo vago para o núcleo do trato solitário (NTS) excitando neurônios catecolaminérgicos. Por sua vez, essas vias aferentes que chegam no NTS ascendem ao PVN e SON induzindo a secreção de AVP e OT (Cunningham e Sawchenko, 1991; Renaud, 1996). Adicionalmente, regiões que participam do balanço hidroeletrolítico como AV3V e SFO parecem envolvidas na estimulação da secreção de hormônios hipofisários durante o desafio imune em animais naive (Borges e Da Rocha, 2006; De Carvalho Borges et al., 2006). Como mencionado anteriormente, essas áreas desprovidas de barreira hematoencefálica serviriam como portas de entrada para mediadores inflamatórios no SNC (Ota et al., 1997; Desson e Ferguson, 2003). Entretanto vale ressaltar que no contexto de animais sobreviventes a uma injúria prévia (sepse polimicrobiana), não são conhecidos os mecanismos pelos quais os mediadores inflamatórios poderiam alcançar o SNC.

Na fase inicial da sepse a hipotensão consegue estimular o aumento da concentração plasmática da AVP e OT. Já na fase tardia, apesar da hipotensão persistente e progressiva existe um comprometimento da secreção de AVP, resultando em choque séptico e eventual morte do indivíduo. Portanto esta secreção inapropriada nas fases tardias da sepse é considerada um dos principais eventos na fisiopatologia séptica (Corrêa *et al.*, 2007; Athayde *et al.*, 2009; Oliveira-Pelegrin, De Azevedo, *et al.*, 2010; Oliveira-Pelegrin, Saia, *et al.*, 2013; Wahab *et al.*, 2013). Assim, esperávamos que como no desafio osmótico, a secreção destes hormônios nos animais sobreviventes fosse atenuada após o desafio com LPS, entretanto isso não aconteceu.

Uma hipótese para a secreção acentuada de AVP após a administração de LPS nos animais sobreviventes seria a maior sensibilidade às citocinas do SON e PVN. Interessantemente, animais adultos (previamente desafiados com LPS no período neonatal) apresentam um aumento da secreção de AVP na fase tardia da sepse polimicrobiana (Saia *et al.*, 2011). De maneira similar, um aumento da despolarização dos neurônios do SON ocorreu, quando "slices" do hipotálamo foram pré-tratados com LPS e posteriormente incubados com citocinas (Wang *et al.*, 2000). Adicionalmente, em trabalho anterior nosso grupo evidenciou um aumento nos níveis de receptores para citocina IL-1 β no SON de animais sépticos (Oliveira-Pelegrin *et al.*, 2014). Assim, persiste a ser desvendado o motivo pelo qual a secreção de AVP encontra-se acentuada após um desafio patológico como o LPS e, as consequências fisiopatológicas deste aumento. Contudo, acreditamos que essas alterações hormonais são danosas (Yamamoto *et al.*, 1997; Stabile *et al.*, 2016), pois estudos mostram um aumento da susceptibilidade a novas infecções e baixa sobrevida nos sobreviventes à sepse (Heyland *et al.*, 2000; Angus *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2014; Yende *et al.*, 2014).

Por outro lado, não houve diferença na secreção de ACTH e corticosterona entre os animais desafiados com LPS (naive e sobreviventes à sepse). O controle do eixo HPA envolve a ação de mediadores inflamatórios sobre regiões que inibem os neurônios gabaérgicos do núcleo de leito da estria terminal (BnST- basal nucleus of stria terminalis). Desta maneira, o LPS recruta sistemas neurais das regiões do núcleo caudal, do trato solitário, amígdala central e BnST dorsolateral, que suprimem o controle inibitório do BnST no eixo HPA (Bienkowski e Rinaman, 2011). Os mediadores inflamatórios como a IL-1β também podem agir diretamente sobre o PVN induzindo a secreção de CRH (Spinedi et al., 1992) Já a IL-2 age na adenohipófise levando a liberação de ACTH (Smith et al., 1989) ou a IL-6 no córtex adrenal causando a secreção de corticosterona (Bethin et al., 2000). Além disso, o eixo HPA ainda pode sofrer controle positivo pela ação da AVP e negativo pela OT (Fleischer e Vale, 1968; Neumann et al., 2000). No caso do atual trabalho, ambos os hormônios estavam elevados durante o estímulos com LPS mostrando que provavelmente este eixo já se encontra recuperado após 5 e 10 dias de indução de sepse. Uma possível explicação para os distintos padrões de ativação dos eixos hipotálamo-neurohipófisário e HPA em animais sobreviventes, é que as vias envolvidas na ativação do HPA no desafio imune são mais protegidas. Diferentemente do que ocorre no estímulo osmótico, quando a secreção de AVP e OT depende de áreas desprovidas de barreira hematoencefálica. De fato, regiões como OVLT e SFO parece estarem comprometidas durante à sepse por sua maior exposição a mediadores inflamatórios (Ota et al., 1997; Desson e Ferguson, 2003). Por outro lado, estudos demonstram que ratos adultos (expostos no período neonatal ao LPS) apresentavam níveis plasmáticos aumentados de corticosterona em resposta a diferentes tipos de estresse (Shanks et al., 1995; Shanks et al., 2000; Ellis et al., 2005; 2006). Portanto alterações no eixo HPA parecem depender de fatores como tipo de estímulos e faixa etária dos animais.

Nos experimentos de contenção, os animais imobilizados (naive ou sobreviventes à sepse) após cinco ou 10 dias apresentaram um aumento esperado nos níveis plasmáticos de OT, ACTH e CORT, comprovando a eficiência do estímulo. Infelizmente a dosagem de AVP, entretanto ficou prejudicada por problemas técnicos. Os resultados mostraram que não houve diferença na secreção da OT, ACTH e CORT entre os animais naive e sobreviventes à sepse (5 e 10 dias) após o estímulo. A via de modulação do eixo HPA durante o estresse de contenção envolve áreas límbicas, como por exemplo, o córtex préfrontal, o hipocampo e a amígdala, através de conexões destas áreas com neurônios gabaérgicos do BnST, localizado na área pré-óptica do hipotálamo (Diorio et al., 1993; Choi et al., 2007; Choi et al., 2008). As vias aferentes provenientes da amígdala provocam ativação do eixo HPA, inibindo os neurônios gabaérgicos no BnST (Herman et al., 1992; Bhatnagar et al., 2004). Por outro lado, a modulação hipocampal estimula os neurônios gabaérgicos BnST causando um tônus inibitório sobre o eixo HPA (Herman et al., 1992; Bhatnagar et al., 1997; Han et al., 2002; Herman et al., 2005). Já as bases neuroanatômicas envolvidas no controle da resposta ocitocinérgica são pouco conhecidas. Estudos têm demonstrado que neurônios serotoninérgicos e noradrenérgicos são importantes na indução da secreção de ocitocina durante a contenção (Carter e Lightman, 1987; Jørgensen et al., 2002). Portanto estas vias neurais relacionadas com a secreção de ACTH, CORT e OT parecem estar recuperadas nos animais sobreviventes à sepse. Então a recuperação deste eixo assim como ocorre após o estimulo imune pode ser devido à proteção das áreas envolvidas com o controle da secreção destes hormônios.

Neste trabalho, nós observamos um aumento do nitrato no plasma em animais sobrevivente à sepse somente no quinto dia após a cirurgia, demonstrando que os animais no quinto dia após a cirurgia ainda não estavam totalmente recuperados, o que só foi possível ser evidenciado no décimo dia. O nitrato é um metabólito, que indiretamente indica a formação de NO (Krafte-Jacobs *et al.*, 1997). Perifericamente, altos níveis de NO resultam na diminuição da pressão arterial e uma redução da resposta a vasoconstritores, contribuindo para uma falência cardiovascular durante o choque séptico (Corrêa *et al.*, 2007; Bruhn *et al.*, 2009). De maneira similar ao NO, as concentrações de IL-1 β encontraram-se aumentadas cinco dias após a indução de sepse, entretanto após 10 dias já estavam em níveis basais confirmando a possibilidade de que os animais estavam recuperados totalmente da sepse no décimo dia. Apesar de altas concentrações plasmáticas de IL-1 β não estarem associadas à alta taxa de mortalidade, essa citocina pode contribuir para disfunção da secreção dos hormônios neurohipofisários como já foi observado em trabalhos

prévios de nosso laboratório (Wahab *et al.*, 2015; Wahab *et al.*, 2016). Nosso grupo observou aumento de IL-1 β e nitrato no hipotálamo e que foi associado ao comprometimento da secreção de AVP, 24 horas após a indução da sepse (Corrêa *et al.*, 2007; Wahab *et al.*, 2015). Este comprometimento parece ser devido, conforme já descrito, à apoptose dos neurônios vasopressinérgicos do hipotálamo que ocorreria pela maior produção de NO talvez via IL-1 β que pode induzir a expressão central da enzima iNOS (Wahab *et al.*, 2016).

Adicionalmente, analisando outra citocina, a IL-6, nós observamos que sua concentração permaneceu basal cinco ou dez dias após o CLP. De fato, esse mesmo padrão de detecção da IL-1 β , mas não IL-6 no sangue de animais sobreviventes também foi encontrado em outro estudo (Griffin *et al.*, 2016). Altos níveis de IL-6 plasmática são associados positivamente com elevada taxa de mortalidade, sendo considerado um bom preditor de morte (Vyas *et al.*, 2005; Pallás Beneyto *et al.*, 2016). Portanto faz sentido essa citocina não ser detectada nos animais sobreviventes.

O desafio osmótico ou estresse por imobilização, não alteram as concentrações plasmáticas das duas citocinas, nem do nitrato nos animais dos naive e sobreviventes nos dois timepoints analisados. Portanto, após os desafios, no quinto dia de sobrevivência perdura o aumento dos mediadores enquanto no décimo dia as concentrações dos mesmos permanecem basais. Já o desafio imune com LPS aumenta os níveis de citocinas e nitrato, mostrando que apenas neste caso a estimulação da secreção dos hormônios parece depender da produção de mediadores inflamatórios. Por outro lado, nos animais 10 dias após o CLP este aumento foi levemente atenuado. Semelhantemente, em outros modelos de sepse, por exemplo, com exposição neonatal ao LPS e posterior reexposição na vida adulta, foi observado supressão da febre associada com uma significativa redução na produção de citocinas inflamatórias (Il-1β, IL-6 e TNF-α) (Ellis et al., 2005; Spencer et al., 2006). Uma hipótese aventada para a atenuada secreção de mediadores inflamatórios seria devido à imunossupressão frequentemente encontrada em sobreviventes à sepse (Nascimento et al., 2010; Monneret et al., 2011; Markwart et al., 2014). Entretanto, nós não observamos a imunossupressão cincodias após a cirurgia, provavelmente devido à não recuperação total dos animais quando alguns mediadores inflamatórios perduram.

5.2 Alterações hipotalâmicas

Investigando as possíveis alterações neuroinflamatórias que poderiam ocorrer no hipotálamo foram avaliados os conteúdos hipotalâmicos das citocinas IL-1 β e IL-6 dos ratos sobreviventes. Surpreendentemente, nós encontramos aumento dos níveis de IL-6. Esta citocina é considerada essencial na patogênese da encefalopatia séptica (Chaudhry e Duggal, 2014) e seus níveis elevados foram detectados no líquor de ratos sobreviventes à sepse com comprometimento cognitivo (Steckert *et al.*, 2013). Sendo assim, embora aparentemente os animais parecessem estar recuperados após 10 dias da sepse eles ainda apresentavam altos níveis de um marcador de encefalopatia.

O desafio osmótico ou estresse por imobilização, por sua vez, não alteram as concentrações hipotalâmicas das duas citocinas nos sobreviventes. Estes animais quando estimulados com LPS apresentaram um aumento de IL-1 β . Por outro lado, o desafio com LPS não teve um efeito adicional sobre os altos níveis de IL-6 presentes nos animais sobreviventes. Em relação à secreção dos neurohormônios, como descrito anteriormente, a sensibilização prévia dos neurônios magnocelulares a componentes bacterianos, nos animais sobreviventes poderia ser responsabilizada pela acentuada secreção de AVP observada após o LPS.

Outra alteração persistente encontrada no hipotálamo dos nossos animais foi a diminuição nos conteúdos de sinaptofisina, que é considerada um marcador de integridade sináptica (Wiedenmann e Franke, 1985; Eastwood et al., 1995). Essa glicoproteína é associada a processos neuroinflamatórios e neurodegenerativos (Glantz e Lewis, 1997; Shankar e Walsh, 2009). Por exemplo, um mediador inflamatório como TNF- α foi visto contribuir para a perda sináptica em modelo de Alzheimer (Medeiros et al., 2010). Já a IL-1 β secretada pelas células microgliais é o principal mediador de dano sináptico durante a sepse (Moraes et al., 2015). Adicionalmente, baixo conteúdo de sinaptofisina hipocampal foi encontrado associado ao persistente comprometimento cognitivo em animais sobreviventes à sepse e (Schwalm et al., 2014; Moraes et al., 2015). Sendo assim, essas alterações na sinaptofisina poderiam explicar também o enfraquecimento da resposta de secreção dos hormônios neurohipofisários dos sobreviventes após estímulo osmótico, mas não após desafio com LPS ou estresse de imobilização já que estes últimos desafios não foram capazes de comprometer a secreção dos hormônios. Nossos achados relacionados com o dano sináptico não excluem a possibilidade de outras regiões estarem comprometidas e até mesmo a existência de áreas hipotalâmicas não afetadas. Realmente, um estudo, demonstrou que outras estruturas cerebrais (hipocampo, córtex cerebral) apresentam um dano sináptico após à sepse (Moraes *et al.*, 2015). Nós também avaliamos a ocorrência de neurodegeneração hipotalâmica através da proteína beta-amilóide, mas não a detectamos nos animais sobreviventes à sepse. Por outro lado, esta proteína tem sido encontrada em estruturas cerebrais relacionadas com cognição como: córtex pré-frontal e hipocampo (Schwalm *et al.*, 2014).. Entretanto, isto não exclui a possibilidade, que em uma etapa mais tardia de recuperação sejam detectados esses marcadores neurodegenerativos. Realmente, estudos mostram que alterações fisiopatológicas acontecem em sobreviventes mesmo após um a dois meses de terem sido submetidos ao CLP (Steckert *et al.*, 2013; Schwalm *et al.*, 2014; De Souza *et al.*, 2016). Adicionalmente, nenhum dos estímulos (desafio osmótico, LPS, estresse de imobilização) alterou os níveis de sinaptofisina ou beta-amilóide nos animais analisados, demonstrando, portanto que possivelmente estímulos agudos não alteram à curto prazo os níveis destas proteínas.

Em suma, apesar dos animais apresentarem alguns sinais de recuperação, o aumento de IL-6 e a diminuição da sinaptofisina, sugerem uma possível neurodegeneração hipotalâmica em longo prazo. Portanto, mais estudos são necessários para investigar a presença de marcadores neurodegenerativos em etapa mais tardia de recuperação.

6 CONCLUSÕES

Concluímos que animais sobreviventes à sepse apresentam alterações neuroimunoendócrinas dependentes do estímulo (osmótico ou imune) com evidências de processos neurodegenerativos.

REFERÊNCIAS

ANGUS, D. C. et al. Quality-adjusted survival in the first year after the acute respiratory distress syndrome. Am J Respir Crit Care Med, v. 163, n. 6, p. 1389-94, May 2001. ISSN 1073-449X. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11371406 >.

ANNANE, D.; BELLISSANT, E.; CAVAILLON, J. M. Septic shock. Lancet, v. 365, n. 9453, p. 63-78, Jan 1-7 2005. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15639681 >.

ATHAYDE, L. A. et al. Blocking central leukotrienes synthesis affects vasopressin release during sepsis. Neuroscience, v. 160, n. 4, p. 829-36, Jun 2009. ISSN 1873-7544. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19285113 >.

BANKS, W. A.; KASTIN, A. J.; DURHAM, D. A. Bidirectional transport of interleukin-1 alpha across the blood-brain barrier. Brain Res Bull, v. 23, n. 6, p. 433-7, Dec 1989. ISSN 0361-9230. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2611685 >.

BANKS, W. A.; KASTIN, A. J.; GUTIERREZ, E. G. Interleukin-1 alpha in blood has direct access to cortical brain cells. Neurosci Lett, v. 163, n. 1, p. 41-4, Nov 1993. ISSN 0304-3940. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8295729 >.

BARICHELLO, T. et al. Cognitive impairment in sepsis survivors from cecal ligation and perforation. Crit Care Med, v. 33, n. 1, p. 221-3; discussion 262-3, Jan 2005a. ISSN 0090-3493. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15644673 >.

_____. Long-term cognitive impairment in sepsis survivors. Crit Care Med, v. 33, n. 7, p. 1671, Jul 2005b. ISSN 0090-3493. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16003096 >.

BEISHUIZEN, A.; THIJS, L. G. Endotoxin and the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. J Endotoxin Res, v. 9, n. 1, p. 3-24, 2003. ISSN 0968-0519. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12691614 >.

BENJAMIM, C. F. et al. Opposing and hierarchical roles of leukotrienes in local innate immune versus vascular responses in a model of sepsis. J Immunol, v. 174, n. 3, p. 1616-20, Feb 1 2005. ISSN 0022-1767 (Print) 0022-1767 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15661924 >.

BERNSTEIN, K. E. et al. Angiotensin-converting enzyme overexpression in myelomonocytes prevents Alzheimer's-like cognitive decline. J Clin Invest, v. 124, n. 3, p. 1000-12, Mar 2014. ISSN 1558-8238. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24487585 >.

BETHIN, K. E.; VOGT, S. K.; MUGLIA, L. J. Interleukin-6 is an essential, corticotropinreleasing hormone-independent stimulator of the adrenal axis during immune system activation. Proc Natl Acad Sci U S A, v. 97, n. 16, p. 9317-22, Aug 2000. ISSN 0027-8424. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10922080 >.

BHATNAGAR, S.; COSTALL, B.; SMYTHE, J. W. Hippocampal cholinergic blockade enhances hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. Brain Res, v. 766, n. 1-2, p.

244-8, Aug 1997. ISSN 0006-8993. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9359609 >.

BHATNAGAR, S.; VINING, C.; DENSKI, K. Regulation of chronic stress-induced changes in hypothalamic-pituitary-adrenal activity by the basolateral amygdala. Ann N Y Acad Sci, v. 1032, p. 315-9, Dec 2004. ISSN 0077-8923. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15677440 >.

BIENKOWSKI, M. S.; RINAMAN, L. Immune challenge activates neural inputs to the ventrolateral bed nucleus of the stria terminalis. Physiol Behav, v. 104, n. 2, p. 257-65, Aug 2011. ISSN 1873-507X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/21402087 >.

BONE, R. C. The pathogenesis of sepsis. Ann Intern Med, v. 115, n. 6, p. 457-69, Sep 15 1991. ISSN 0003-4819 (Print) 0003-4819 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1872494 >.

BORGES, B. C.; DA ROCHA, M. J. Participation of the subfornical nucleus in hypothalamic-neurohypophyseal axis activation during the early phase of endotoxic shock. Neurosci Lett, v. 404, n. 1-2, p. 227-31, Aug 2006. ISSN 0304-3940. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16815633 >.

BOURQUE, C. W. Central mechanisms of osmosensation and systemic osmoregulation. Nat Rev Neurosci, v. 9, n. 7, p. 519-31, Jul 2008. ISSN 1471-0048. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18509340 >.

BRUHN, F. H. et al. Blocking systemic nitric oxide production alters neuronal activation in brain structures involved in cardiovascular regulation during polymicrobial sepsis. Neurosci Lett, v. 453, n. 3, p. 141-6, Apr 2009. ISSN 1872-7972. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19429022 >.

BURAS, J. A.; HOLZMANN, B.; SITKOVSKY, M. Animal models of sepsis: setting the stage. Nat Rev Drug Discov, v. 4, n. 10, p. 854-65, Oct 2005. ISSN 1474-1776. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16224456 >.

CALHOUN, M. E. et al. Comparative evaluation of synaptophysin-based methods for quantification of synapses. J Neurocytol, v. 25, n. 12, p. 821-8, Dec 1996. ISSN 0300-4864. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9023727 >.

CALLAHAN, M. F.; DA ROCHA, M. J.; MORRIS, M. Sinoaortic denervation does not increase cardiovascular/endocrine responses to stress. Neuroendocrinology, v. 56, n. 5, p. 735-44, Nov 1992. ISSN 0028-3835. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1488106 >.

CARLSON, D. E.; CHIU, W. C.; SCALEA, T. M. Cecal ligation and puncture in rats interrupts the circadian rhythms of corticosterone and adrenocortical responsiveness to adrenocorticotrophic hormone. Crit Care Med, v. 34, n. 4, p. 1178-84, Apr 2006. ISSN 0090-3493. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16484905 >.

CARNIO, E. C. et al. Vasopressin release during endotoxaemic shock in mice lacking

inducible nitric oxide synthase. Pflugers Arch, v. 450, n. 6, p. 390-4, Sep 2005. ISSN 0031-6768. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15971084 >.

CARTER, D. A.; LIGHTMAN, S. L. Modulation of oxytocin secretion by ascending noradrenergic pathways: sexual dimorphism in rats. Brain Res, v. 406, n. 1-2, p. 313-6, Mar 1987. ISSN 0006-8993. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3105813 >.

CHARLTON, B. G.; FERRIER, I. N. Hypothalamo-pituitary-adrenal axis abnormalities in depression: a review and a model. Psychol Med, v. 19, n. 2, p. 331-6, May 1989. ISSN 0033-2917. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2548224 >.

CHAUDHRY, N.; DUGGAL, A. K. Sepsis Associated Encephalopathy. Adv Med, v. 2014, p. 762320, 2014. ISSN 2356-6752. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26556425 >.

CHOI, D. C. et al. Bed nucleus of the stria terminalis subregions differentially regulate hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: implications for the integration of limbic inputs. J Neurosci, v. 27, n. 8, p. 2025-34, Feb 2007. ISSN 1529-2401. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17314298 >.

_____. The role of the posterior medial bed nucleus of the stria terminalis in modulating hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis responsiveness to acute and chronic stress. Psychoneuroendocrinology, v. 33, n. 5, p. 659-69, Jun 2008. ISSN 0306-4530. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18378095 >.

CHOUSTERMAN, B. G.; SWIRSKI, F. K.; WEBER, G. F. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. Semin Immunopathol, v. 39, n. 5, p. 517-528, Jul 2017. ISSN 1863-2300. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28555385 >.

CHOW, J. C. et al. Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. J Biol Chem, v. 274, n. 16, p. 10689-92, Apr 1999. ISSN 0021-9258. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10196138 >.

COHEN, J. The immunopathogenesis of sepsis. Nature, v. 420, n. 6917, p. 885-91, 2002 Dec 19-26 2002. ISSN 0028-0836. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12490963 >.

COMIM, C. M. et al. Alterations in inflammatory mediators, oxidative stress parameters and energetic metabolism in the brain of sepsis survivor rats. Neurochem Res, v. 36, n. 2, p. 304-11, Feb 2011. ISSN 1573-6903. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21107688 >.

CORREA, P. B. et al. Participation of iNOS-derived NO in hypothalamic activation and vasopressin release during polymicrobial sepsis. J Neuroimmunol, v. 183, n. 1-2, p. 17-25, Feb 2007. ISSN 0165-5728 (Print) 0165-5728 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17173980 >.

CORRÊA, P. B. et al. Participation of iNOS-derived NO in hypothalamic activation and vasopressin release during polymicrobial sepsis. J Neuroimmunol, v. 183, n. 1-2, p. 17-

25, Feb 2007. ISSN 0165-5728. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/17173980 >.

COSTANZA, M. et al. Prolactin: a versatile regulator of inflammation and autoimmune pathology. Autoimmun Rev, v. 14, n. 3, p. 223-30, Mar 2015. ISSN 1873-0183. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25462579 >.

CUNNINGHAM, E. T.; SAWCHENKO, P. E. Reflex control of magnocellular vasopressin and oxytocin secretion. Trends Neurosci, v. 14, n. 9, p. 406-11, Sep 1991. ISSN 0166-2236. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1720582 >.

DA COSTA, L. H. et al. Vasopressin Impairment During Sepsis Is Associated with Hypothalamic Intrinsic Apoptotic Pathway and Microglial Activation. Mol Neurobiol, Sep 2016. ISSN 1559-1182. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/27631877 >.

DANEVOVA, V.; KVETNANSKY, R.; JEZOVA, D. Kinetics of oxytocin response to repeated restraint stress and/or chronic cold exposure. Horm Metab Res, v. 45, n. 12, p. 845-8, Nov 2013. ISSN 1439-4286. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23888412 >.

DARMON, M. et al. Association between hypernatraemia acquired in the ICU and mortality: a cohort study. Nephrol Dial Transplant, v. 25, n. 8, p. 2510-5, Aug 2010. ISSN 1460-2385. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20167570 >.

DAVIES, D. C. Blood-brain barrier breakdown in septic encephalopathy and brain tumours. J Anat, v. 200, n. 6, p. 639-46, Jun 2002. ISSN 0021-8782. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12162731 >.

DE CARVALHO BORGES, B. et al. Lesion of the anteroventral third ventricle (AV3V) reduces hypothalamic activation and hypophyseal hormone secretion induced by lipopolysaccharide in rats. Brain Res, v. 1115, n. 1, p. 83-91, Oct 2006. ISSN 0006-8993. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16934778 >.

DE MAIO, A.; TORRES, M. B.; REEVES, R. H. Genetic determinants influencing the response to injury, inflammation, and sepsis. Shock, v. 23, n. 1, p. 11-7, Jan 2005. ISSN 1073-2322 (Print) 1073-2322 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15614125 >.

DE SOUZA, P. et al. Impaired vascular function in sepsis-surviving rats mediated by oxidative stress and Rho-Kinase pathway. Redox Biol, v. 10, p. 140-147, 12 2016. ISSN 2213-2317. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27744119 >.

DENNHARDT, R. et al. Patterns of endocrine secretion during sepsis. Prog Clin Biol Res, v. 308, p. 751-6, 1989. ISSN 0361-7742. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2550959 >.

DESSON, S. E.; FERGUSON, A. V. Interleukin 1beta modulates rat subfornical organ neurons as a result of activation of a non-selective cationic conductance. J Physiol, v. 550, n. Pt 1, p. 113-22, Jul 2003. ISSN 0022-3751. Disponível em: <

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12879863 >.

DIORIO, D.; VIAU, V.; MEANEY, M. J. The role of the medial prefrontal cortex (cingulate gyrus) in the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. J Neurosci, v. 13, n. 9, p. 3839-47, Sep 1993. ISSN 0270-6474. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8396170 >.

DUNN, F. L. et al. The role of blood osmolality and volume in regulating vasopressin secretion in the rat. J Clin Invest, v. 52, n. 12, p. 3212-9, Dec 1973. ISSN 0021-9738. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4750450 >.

EASTWOOD, S. L.; BURNET, P. W.; HARRISON, P. J. Altered synaptophysin expression as a marker of synaptic pathology in schizophrenia. Neuroscience, v. 66, n. 2, p. 309-19, May 1995. ISSN 0306-4522. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/7477874 >.

ELLIS, S.; MOUIHATE, A.; PITTMAN, Q. J. Early life immune challenge alters innate immune responses to lipopolysaccharide: implications for host defense as adults. FASEB J, v. 19, n. 11, p. 1519-21, Sep 2005. ISSN 1530-6860. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15972802 >.

_____. Neonatal programming of the rat neuroimmune response: stimulus specific changes elicited by bacterial and viral mimetics. J Physiol, v. 571, n. Pt 3, p. 695-701, Mar 2006. ISSN 0022-3751. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/16423854 >.

EPIS, R. et al. Alpha, beta-and gamma-secretases in Alzheimer's disease. Front Biosci (Schol Ed), v. 4, p. 1126-50, Jan 2012. ISSN 1945-0524. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22202113 >.

FEIHL, F.; WAEBER, B.; LIAUDET, L. Is nitric oxide overproduction the target of choice for the management of septic shock? Pharmacol Ther, v. 91, n. 3, p. 179-213, Sep 2001. ISSN 0163-7258 (Print) 0163-7258 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11744067 >.

FERNANDEZ-SOLARI, J. et al. Participation of the endocannabinoid system in the effect of TNF-alpha on hypothalamic release of gonadotropin-releasing hormone. Ann N Y Acad Sci, v. 1088, p. 238-50, Nov 2006. ISSN 0077-8923 (Print) 0077-8923 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17192570 >.

FLAK, J. N. et al. Opposing effects of chronic stress and weight restriction on cardiovascular, neuroendocrine and metabolic function. Physiol Behav, v. 104, n. 2, p. 228-34, Aug 3 2011. ISSN 1873-507X (Electronic) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21396386 >.

FLEISCHER, N.; VALE, W. Inhibition of vasopressin-induced ACTH release from the pituitary by glucocorticoids in vitro. Endocrinology, v. 83, n. 6, p. 1232-6, Dec 1968. ISSN 0013-7227. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4301832 >.

FLIERL, M. A. et al. Disturbances of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and plasma

electrolytes during experimental sepsis. Ann Intensive Care, v. 1, p. 53, Dec 2011. ISSN 2110-5820. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22208725 >.

FU, W. et al. Role of microglial amylin receptors in mediating beta amyloid (A β)-induced inflammation. J Neuroinflammation, v. 14, n. 1, p. 199, Oct 2017. ISSN 1742-2094. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28985759 >.

GENGA, K. R.; RUSSELL, J. A. Update of Sepsis in the Intensive Care Unit. J Innate Immun, v. 9, n. 5, p. 441-455, 2017. ISSN 1662-8128. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28697503 >.

GHEORGHIŢĂ, V. et al. Endocrine dysfunction in sepsis: a beneficial or deleterious host response? Germs, v. 5, n. 1, p. 17-25, Mar 2015. ISSN 2248-2997. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25763364 >.

GIACOMINI, M. G. et al. Septic shock: a major cause of hospital death after intensive care unit discharge. Revista Brasileira de terapia intensiva, v. 27, n. 1, p. 51-56, 2015. ISSN 0103-507X.

GIMPL, G.; FAHRENHOLZ, F. The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. Physiol Rev, v. 81, n. 2, p. 629-83, Apr 2001. ISSN 0031-9333. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11274341 >.

GIUSTI-PAIVA, A.; ELIAS, L. L.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Inhibitory effect of gaseous neuromodulators in vasopressin and oxytocin release induced by endotoxin in rats. Neurosci Lett, v. 381, n. 3, p. 320-4, Jun 2005. ISSN 0304-3940. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15896492 >.

GLANTZ, L. A.; LEWIS, D. A. Reduction of synaptophysin immunoreactivity in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. Regional and diagnostic specificity. Arch Gen Psychiatry, v. 54, n. 7, p. 660-9, Jul 1997. ISSN 0003-990X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9236550 >.

GLENNER, G. G.; WONG, C. W. Alzheimer's disease and Down's syndrome: sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. Biochem Biophys Res Commun, v. 122, n. 3, p. 1131-5, Aug 1984a. ISSN 0006-291X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6236805 >.

_____. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. Biochem Biophys Res Commun, v. 120, n. 3, p. 885-90, May 1984b. ISSN 0006-291X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6375662 >.

GOEBEL, M. et al. Lipopolysaccharide increases plasma levels of corticotropin-releasing hormone in rats. Neuroendocrinology, v. 93, n. 3, p. 165-73, 2011. ISSN 1423-0194 (Electronic) 0028-3835 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21135542 >.

GOREVIC, P. D. et al. Isolation and partial characterization of neurofibrillary tangles

and amyloid plaque core in Alzheimer's disease: immunohistological studies. J Neuropathol Exp Neurol, v. 45, n. 6, p. 647-64, Nov 1986. ISSN 0022-3069. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3772397 >.

GRALLE, M.; FERREIRA, S. T. Structure and functions of the human amyloid precursor protein: the whole is more than the sum of its parts. Prog Neurobiol, v. 82, n. 1, p. 11-32, May 2007. ISSN 0301-0082. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/17428603 >.

GRIFFIN, M. J.; LETSON, H. L.; DOBSON, G. P. Small-volume Adenosine, lidocaine and Mg2+ (ALM) 4 hour infusion leads to 88% survival after 6 days of experimental sepsis in the rat without antibiotics. Clin Vaccine Immunol, Aug 2016. ISSN 1556-679X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27581435 >.

HADDAD, J. J.; SAADE, N. E.; SAFIEH-GARABEDIAN, B. Cytokines and neuro-immune-endocrine interactions: a role for the hypothalamic-pituitary-adrenal revolving axis. J Neuroimmunol, v. 133, n. 1-2, p. 1-19, Dec 2002. ISSN 0165-5728 (Print) 0165-5728 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12446003 >.

HALVERSON, K. et al. Molecular determinants of amyloid deposition in Alzheimer's disease: conformational studies of synthetic beta-protein fragments. Biochemistry, v. 29, n. 11, p. 2639-44, Mar 1990. ISSN 0006-2960. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2346740 >.

HAN, J. et al. Comparison of 3% and 7.5% Hypertonic Saline in Resuscitation After Traumatic Hypovolemic Shock. Shock, v. 43, n. 3, p. 244-9, Mar 2015. ISSN 1540-0514. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26091023 >.

HAN, J. S. et al. Decreased glucocorticoid receptor mRNA and dysfunction of HPA axis in rats after removal of the cholinergic innervation to hippocampus. Eur J Neurosci, v. 16, n. 7, p. 1399-404, Oct 2002. ISSN 0953-816X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12406000 >.

HARTMAN, R. D. et al. Ontogeny of opioid inhibition of vasopressin and oxytocin release in response to osmotic stimulation. Endocrinology, v. 119, n. 1, p. 1-11, Jul 1986. ISSN 0013-7227. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3720659 >.

HASHIGUCHI, H. et al. Single and repeated environmental stress: effect on plasma oxytocin, corticosterone, catecholamines, and behavior. Physiol Behav, v. 61, n. 5, p. 731-6, May 1997. ISSN 0031-9384 (Print) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9145944 >.

HERMAN, J. P. et al. Selective forebrain fiber tract lesions implicate ventral hippocampal structures in tonic regulation of paraventricular nucleus corticotropin-releasing hormone (CRH) and arginine vasopressin (AVP) mRNA expression. Brain Res, v. 592, n. 1-2, p. 228-38, Oct 1992. ISSN 0006-8993. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1333341 >.

_____. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. Front Neuroendocrinol, v. 24, n. 3, p.

151-80, Jul 2003. ISSN 0091-3022. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14596810 >.

_____. Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, v. 29, n. 8, p. 1201-13, Dec 2005. ISSN 0278-5846. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16271821 >.

HEYLAND, D. K. et al. Long-term health-related quality of life in survivors of sepsis. Short Form 36: a valid and reliable measure of health-related quality of life. Crit Care Med, v. 28, n. 11, p. 3599-605, Nov 2000. ISSN 0090-3493. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11098960 >.

HOLMES, C. L. et al. Physiology of vasopressin relevant to management of septic shock. Chest, v. 120, n. 3, p. 989-1002, Sep 2001. ISSN 0012-3692 (Print) 0012-3692 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11555538 >.

HOLMES, C. L.; RUSSELL, J. A.; WALLEY, K. R. Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock: role in prognosis and potential for therapy. Chest, v. 124, n. 3, p. 1103-15, Sep 2003. ISSN 0012-3692 (Print) 0012-3692 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12970043 >.

INCE, C. et al. THE ENDOTHELIUM IN SEPSIS. Shock, v. 45, n. 3, p. 259-70, Mar 2016. ISSN 1540-0514. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/26871664 >.

IOVINO, M.; STEARDO, L. Vasopressin release to central and peripheral angiotensin II in rats with lesions of the subfornical organ. Brain Res, v. 322, n. 2, p. 365-8, Nov 1984. ISSN 0006-8993. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6509326 >.

IVANYI, T.; WIEGANT, V. M.; DE WIED, D. Differential effects of emotional and physical stress on the central and peripheral secretion of neurohypophysial hormones in male rats. Life Sci, v. 48, n. 13, p. 1309-16, 1991. ISSN 0024-3205 (Print) 0024-3205 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2002757 >.

JEZOVÁ, D. et al. Paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus are not equally important for oxytocin release during stress. Neuroendocrinology, v. 57, n. 5, p. 776-81, May 1993. ISSN 0028-3835. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8413814 >.

JOHN, C. A.; DAY, M. W. Central neurogenic diabetes insipidus, syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone, and cerebral salt-wasting syndrome in traumatic brain injury. Crit Care Nurse, v. 32, n. 2, p. e1-7; quiz e8, Apr 2012. ISSN 1940-8250. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22467619 >.

JØRGENSEN, H. et al. Serotonergic involvement in stress-induced vasopressin and oxytocin secretion. Eur J Endocrinol, v. 147, n. 6, p. 815-24, Dec 2002. ISSN 0804-4643. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12457458 >.

KAMBERI, I. A.; MICAL, R. S.; PORTER, J. C. Prolactin-inhibiting activity in hypophysial stalk blood and elevation by dopamine. Experientia, v. 26, n. 10, p. 1150-1, Oct 1970. ISSN 0014-4754. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/5483776 >.

KANCZKOWSKI, W. et al. Hypothalamo-pituitary and immune-dependent adrenal regulation during systemic inflammation. Proc Natl Acad Sci U S A, v. 110, n. 36, p. 14801-6, Sep 2013. ISSN 1091-6490. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23959899 >.

_____. The role of adrenal gland microenvironment in the HPA axis function and dysfunction during sepsis. Mol Cell Endocrinol, v. 408, p. 241-8, Jun 2015. ISSN 1872-8057. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25543020 >.

KASAHARA, E.; INOUE, M. Cross-talk between HPA-axis-increased glucocorticoids and mitochondrial stress determines immune responses and clinical manifestations of patients with sepsis. Redox Rep, v. 20, n. 1, p. 1-10, Jan 2015. ISSN 1743-2928. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25310535 >.

KASTING, N. W. Simultaneous and independent release of vasopressin and oxytocin in the rat. Can J Physiol Pharmacol, v. 66, n. 1, p. 22-6, Jan 1988. ISSN 0008-4212. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3370533 >.

KIM, S. J. et al. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis/septic shock in the emergency department; a study based on Sepsis-3 definition. Am J Emerg Med, May 2018. ISSN 1532-8171. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29861371 >.

KONSMAN, J. P. et al. Rat brain vascular distribution of interleukin-1 type-1 receptor immunoreactivity: relationship to patterns of inducible cyclooxygenase expression by peripheral inflammatory stimuli. J Comp Neurol, v. 472, n. 1, p. 113-29, Apr 2004. ISSN 0021-9967. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15024756 >.

KRAFTE-JACOBS, B. et al. Circulating methemoglobin and nitrite/nitrate concentrations as indicators of nitric oxide overproduction in critically ill children with septic shock. Crit Care Med, v. 25, n. 9, p. 1588-93, Sep 1997. ISSN 0090-3493. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9295837 >.

KREEK, M. J.; ZHOU, Y.; LEVRAN, O. Functions of arginine vasopressin and its receptors: importance of human molecular genetics studies in bidirectional translational research. Biol Psychiatry, v. 70, n. 6, p. 502-3, Sep 2011. ISSN 1873-2402. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21864735 >.

KUPERBERG, S. J.; WADGAONKAR, R. Sepsis-Associated Encephalopathy: The Blood-Brain Barrier and the Sphingolipid Rheostat. Front Immunol, v. 8, p. 597, 2017. ISSN 1664-3224. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28670310 >.

LACROIX, S.; FEINSTEIN, D.; RIVEST, S. The bacterial endotoxin lipopolysaccharide has the ability to target the brain in upregulating its membrane CD14 receptor within specific cellular populations. Brain Pathol, v. 8, n. 4, p. 625-40, Oct 1998. ISSN 1015-6305. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9804372 >.
LANDRY, D. W. et al. Vasopressin deficiency contributes to the vasodilation of septic shock. Circulation, v. 95, n. 5, p. 1122-5, Mar 1997. ISSN 0009-7322. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9054839 >.

LILLY, M. P.; GANN, D. S. The hypothalamic-pituitary-adrenal-immune axis. A critical assessment. Arch Surg, v. 127, n. 12, p. 1463-74, Dec 1992. ISSN 0004-0010. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1365694 >.

LIU, L. et al. The expression of tumour necrosis factor in the hypothalamus after treatment with lipopolysaccharide. Int J Exp Pathol, v. 77, n. 1, p. 37-44, Feb 1996. ISSN 0959-9673. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8664145 >.

MARKWART, R. et al. Immunosuppression after sepsis: systemic inflammation and sepsis induce a loss of naïve T-cells but no enduring cell-autonomous defects in T-cell function. PLoS One, v. 9, n. 12, p. e115094, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25541945 >.

MARQUES, F. et al. The choroid plexus response to a repeated peripheral inflammatory stimulus. BMC Neurosci, v. 10, p. 135, Nov 2009. ISSN 1471-2202. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19922669 >.

MARTINS, T. F. et al. Leukotriene synthesis inhibitor decreases vasopressin release in the early phase of sepsis. J Neuroimmunol, v. 238, n. 1-2, p. 52-7, Sep 15 2011. ISSN 1872-8421 (Electronic) 0165-5728 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21885132 >.

MARTÍN, S.; PÉREZ, A.; ALDECOA, C. Sepsis and Immunosenescence in the Elderly Patient: A Review. Front Med (Lausanne), v. 4, p. 20, 2017. ISSN 2296-858X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28293557 >.

MATSUNAGA, W. et al. LPS-induced Fos expression in oxytocin and vasopressin neurons of the rat hypothalamus. Brain Res, v. 858, n. 1, p. 9-18, Mar 6 2000. ISSN 0006-8993 (Print) 0006-8993 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/10700590 >.

MAXIME, V.; SIAMI, S.; ANNANE, D. Metabolism modulators in sepsis: the abnormal pituitary response. Crit Care Med, v. 35, n. 9 Suppl, p. S596-601, Sep 2007. ISSN 0090-3493. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17713415 >.

MAYR, F. B.; YENDE, S.; ANGUS, D. C. Epidemiology of severe sepsis. Virulence, v. 5, n. 1, p. 4-11, Jan 2014. ISSN 2150-5608. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24335434 >.

MEDEIROS, R. et al. The role of TNF-alpha signaling pathway on COX-2 upregulation and cognitive decline induced by beta-amyloid peptide. Behav Brain Res, v. 209, n. 1, p. 165-73, May 2010. ISSN 1872-7549. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20122965 >.

MINAMI, T. et al. Roles of nitric oxide and prostaglandins in the increased permeability

of the blood-brain barrier caused by lipopolysaccharide. Environ Toxicol Pharmacol, v. 5, n. 1, p. 35-41, Jan 1998. ISSN 1382-6689. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21781848 >.

MOLNÁR, L. et al. Sepsis-associated encephalopathy: A review of literature. Neurol India, v. 66, n. 2, p. 352-361, 2018 Mar-Apr 2018. ISSN 0028-3886. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29547154 >.

MONNERET, G. et al. ICU-acquired immunosuppression and the risk for secondary fungal infections. Med Mycol, v. 49 Suppl 1, p. S17-23, Apr 2011. ISSN 1460-2709. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20718607 >.

MORAES, C. A. et al. Activated Microglia-Induced Deficits in Excitatory Synapses Through IL-1β: Implications for Cognitive Impairment in Sepsis. Mol Neurobiol, v. 52, n. 1, p. 653-63, Aug 2015. ISSN 1559-1182. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25257696 >.

MORETO, V. et al. Role of heme-oxygenase pathway on vasopressin deficiency during endotoxemic shock-like conditions. Shock, v. 26, n. 5, p. 472-6, Nov 2006. ISSN 1073-2322. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17047517 >.

NADEAU, S.; RIVEST, S. Role of microglial-derived tumor necrosis factor in mediating CD14 transcription and nuclear factor kappa B activity in the brain during endotoxemia. J Neurosci, v. 20, n. 9, p. 3456-68, May 2000. ISSN 1529-2401. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10777809 >.

NAKATSURU, K. et al. Interleukin-1 (IL-1) stimulates arginine vasopressin (AVP) release from superfused rat hypothalamo-neurohypophyseal complexes independently of cholinergic mechanism. Brain Res, v. 554, n. 1-2, p. 38-45, Jul 1991. ISSN 0006-8993. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1681990 >.

NAKAYAMA, S. et al. Small-volume resuscitation with hypertonic saline (2,400 mOsm/liter) during hemorrhagic shock. Circ Shock, v. 13, n. 2, p. 149-59, 1984. ISSN 0092-6213. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6744520 >.

NAPOLITANO, L. M. Sepsis 2018: Definitions and Guideline Changes. Surg Infect (Larchmt), v. 19, n. 2, p. 117-125, 2018 Feb/Mar 2018. ISSN 1557-8674. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29447109 >.

NASCIMENTO, D. C. et al. Role of regulatory T cells in long-term immune dysfunction associated with severe sepsis. Crit Care Med, v. 38, n. 8, p. 1718-25, Aug 2010. ISSN 1530-0293. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20543670 >.

NEPOMUCENO, N. A. et al. Effect of hypertonic saline in the pretreatment of lung donors with hemorrhagic shock. J Surg Res, v. 225, p. 181-188, May 2018. ISSN 1095-8673. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29605030 >.

NEUMANN, I. D. et al. Brain oxytocin inhibits the (re)activity of the hypothalamopituitary-adrenal axis in male rats: involvement of hypothalamic and limbic brain regions. Regul Pept, v. 96, n. 1-2, p. 31-8, Dec 2000. ISSN 0167-0115. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11102649>.

NONAKA, K. O. Involvement of 5-HT3 receptors in the prolactin release induced by immobilization stress in rats. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, v. 23, n. 3, p. 497-503, Apr 1999. ISSN 0278-5846 (Print) 0278-5846 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10378232 >.

OLIVEIRA-PELEGRIN, G. R. et al. Role of central NO-cGMP pathway in vasopressin and oxytocin gene expression during sepsis. Peptides, v. 31, n. 10, p. 1847-52, Oct 2010. ISSN 1873-5169 (Electronic) 0196-9781 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20621145 >.

OLIVEIRA-PELEGRIN, G. R.; BASSO, P. J.; ROCHA, M. J. Cellular bioenergetics changes in magnocellular neurons may affect copeptin expression in the late phase of sepsis. J Neuroimmunol, v. 267, n. 1-2, p. 28-34, Feb 2014. ISSN 1872-8421. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24360909 >.

OLIVEIRA-PELEGRIN, G. R. et al. Cleaved caspase-3 expression in hypothalamic magnocellular neurons may affect vasopressin secretion during experimental polymicrobial sepsis. J Neuroimmunol, v. 258, n. 1-2, p. 10-6, May 15 2013. ISSN 1872-8421 (Electronic) 0165-5728 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/23523151 >.

OLIVEIRA-PELEGRIN, G. R.; BRANCO, L. G.; ROCHA, M. J. Central NO-cGMP pathway in thermoregulation and survival rate during polymicrobial sepsis. Can J Physiol Pharmacol, v. 88, n. 2, p. 113-20, Feb 2010. ISSN 1205-7541 (Electronic) 0008-4212 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20237585 >.

OLIVEIRA-PELEGRIN, G. R. et al. Central NOS inhibition differentially affects vasopressin gene expression in hypothalamic nuclei in septic rats. J Neuroimmunol, v. 227, n. 1-2, p. 80-6, Oct 2010. ISSN 1872-8421. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20643487 >.

_____. Thermoregulation and vasopressin secretion during polymicrobial sepsis. Neuroimmunomodulation, v. 16, n. 1, p. 45-53, Jan 2009. ISSN 1423-0216. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19077445 >.

_____. Oxytocin affects nitric oxide and cytokine production by sepsis-sensitized macrophages. Neuroimmunomodulation, v. 20, n. 2, p. 65-71, 2013. ISSN 1423-0216. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23183119 >.

OTA, K. et al. AV3V neurons that send axons to hypothalamic nuclei respond to the systemic injection of IL-1beta. Am J Physiol, v. 272, n. 2 Pt 2, p. R532-40, Feb 1997. ISSN 0002-9513. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9124475 >.

OZAKTAY, A. C. et al. Effects of interleukin-1 beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor on sensitivity of dorsal root ganglion and peripheral receptive fields in rats. Eur Spine J, v. 15, n. 10, p. 1529-37, Oct 2006. ISSN 0940-6719. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16474945 >.

PALIN, K. et al. Interleukin-6 activates arginine vasopressin neurons in the supraoptic nucleus during immune challenge in rats. Am J Physiol Endocrinol Metab, v. 296, n. 6, p. E1289-99, Jun 2009. ISSN 0193-1849. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19258490 >.

PALLÁS BENEYTO, L. A. et al. [Prognostic value of interleukin 6 for death of patients with sepsis]. Med Clin (Barc), Jul 2016. ISSN 0025-7753. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27422737 >.

PANCOTO, J. A. et al. Autonomic dysfunction in experimental sepsis induced by cecal ligation and puncture. Auton Neurosci, v. 138, n. 1-2, p. 57-63, Feb 29 2008. ISSN 1566-0702 (Print) 1566-0702 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/18060845 >.

_____. Autonomic dysfunction in experimental sepsis induced by cecal ligation and puncture. Auton Neurosci, v. 138, n. 1-2, p. 57-63, Feb 2008. ISSN 1566-0702. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18060845 >.

PARRILLO, J. E. Pathogenetic mechanisms of septic shock. N Engl J Med, v. 328, n. 20, p. 1471-7, May 20 1993. ISSN 0028-4793 (Print) 0028-4793 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8479467 >.

POLITO, A. et al. Hyperglycaemia and apoptosis of microglial cells in human septic shock. Crit Care, v. 15, n. 3, p. R131, 2011. ISSN 1466-609X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21612615 >.

_____. Changes in CRH and ACTH synthesis during experimental and human septic shock. PLoS One, v. 6, n. 11, p. e25905, 2011. ISSN 1932-6203. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22073145 >.

QUAN, N. et al. Induction of pro-inflammatory cytokine mRNAs in the brain after peripheral injection of subseptic doses of lipopolysaccharide in the rat. J Neuroimmunol, v. 93, n. 1-2, p. 72-80, Jan 1999. ISSN 0165-5728. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10378870 >.

QUINTANO NEIRA, R. A.; HAMACHER, S.; JAPIASSÚ, A. M. Epidemiology of sepsis in Brazil: Incidence, lethality, costs, and other indicators for Brazilian Unified Health System hospitalizations from 2006 to 2015. PLoS One, v. 13, n. 4, p. e0195873, 2018. ISSN 1932-6203. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29652944 >.

QURESHI, S. T. et al. Endotoxin-tolerant mice have mutations in Toll-like receptor 4 (Tlr4). J Exp Med, v. 189, n. 4, p. 615-25, Feb 1999. ISSN 0022-1007. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9989976 >.

RENAUD, L. P. CNS pathways mediating cardiovascular regulation of vasopressin. Clin Exp Pharmacol Physiol, v. 23, n. 2, p. 157-60, Feb 1996. ISSN 0305-1870. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8819645 >.

RIEDEMANN, T. et al. Corticosteroids: way upstream. Mol Brain, v. 3, p. 2, Jan 2010. ISSN 1756-6606. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20180948 >.

RITTER, C. et al. Oxidative parameters and mortality in sepsis induced by cecal ligation and perforation. Intensive Care Med, v. 29, n. 10, p. 1782-9, Oct 2003. ISSN 0342-4642. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12783160 >.

ROCHA, M. J. et al. Sinoaortic denervation alters the molecular and endocrine responses to salt loading. Neuroendocrinology, v. 57, n. 4, p. 729-37, Apr 1993. ISSN 0028-3835. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8367035 >.

ROCHA, M. J. A.; OLIVEIRA, G. R.; CORRÊA, P. B. Neurohypophyseal hormone secretion during septic shock. New York: Nova Biochemical, 2006. 212.

ROCHA-E-SILVA, M. et al. Hypertonic resuscitation from severe hemorrhagic shock: patterns of regional circulation. Circ Shock, v. 19, n. 2, p. 165-75, 1986. ISSN 0092-6213. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3719918 >.

RODRIGUEZ, T. T. et al. Prolactin secretion in hypothyroid endotoxemic rats: involvement of L-arginine and nitric oxide synthase. Shock, v. 23, n. 5, p. 448-52, May 2005. ISSN 1073-2322 (Print) 1073-2322 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15834311 >.

ROTHWELL, P. M.; UDWADIA, Z. F.; LAWLER, P. G. Cortisol response to corticotropin and survival in septic shock. Lancet, v. 337, n. 8741, p. 582-3, Mar 1991. ISSN 0140-6736. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1671944 >.

RUSSELL, J. A.; RUSH, B.; BOYD, J. Pathophysiology of Septic Shock. Crit Care Clin, v. 34, n. 1, p. 43-61, Jan 2018. ISSN 1557-8232. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29149941 >.

SAIA, R. S. et al. Neonatal endotoxin exposure changes neuroendocrine, cardiovascular function and mortality during polymicrobial sepsis in adult rats. Regul Pept, v. 169, n. 1-3, p. 21-30, Aug 2011. ISSN 1873-1686. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21549159 >.

SCHMITT, U. et al. Detection of behavioral alterations and learning deficits in mice lacking synaptophysin. Neuroscience, v. 162, n. 2, p. 234-43, Aug 2009. ISSN 1873-7544. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19393300 >.

SCHUMANN, R. R. Function of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein (LBP) and CD14, the receptor for LPS/LBP complexes: a short review. Res Immunol, v. 143, n. 1, p. 11-5, Jan 1992. ISSN 0923-2494. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1373512 >.

SCHWALM, M. T. et al. Acute brain inflammation and oxidative damage are related to long-term cognitive deficits and markers of neurodegeneration in sepsis-survivor rats. Mol Neurobiol, v. 49, n. 1, p. 380-5, Feb 2014. ISSN 1559-1182. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23990375 >.

SHANDS, J. W. Evidence for a bilayer structure in gram-negative lipopolysaccharide: relationship to toxicity. Infect Immun, v. 4, n. 2, p. 167-72, Aug 1971. ISSN 0019-9567.

Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4949485 >.

SHANKAR, G. M.; WALSH, D. M. Alzheimer's disease: synaptic dysfunction and Abeta. Mol Neurodegener, v. 4, p. 48, Nov 2009. ISSN 1750-1326. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19930651 >.

SHANKS, N.; LAROCQUE, S.; MEANEY, M. J. Neonatal endotoxin exposure alters the development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: early illness and later responsivity to stress. J Neurosci, v. 15, n. 1 Pt 1, p. 376-84, Jan 1995. ISSN 0270-6474. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7823142 >.

SHANKS, N. et al. Early-life exposure to endotoxin alters hypothalamic-pituitary-adrenal function and predisposition to inflammation. Proc Natl Acad Sci U S A, v. 97, n. 10, p. 5645-50, May 2000. ISSN 0027-8424. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10779563 >.

SHARSHAR, T. et al. Depletion of neurohypophyseal content of vasopressin in septic shock. Crit Care Med, v. 30, n. 3, p. 497-500, Mar 2002. ISSN 0090-3493. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11990905 >.

_____. Apoptosis of neurons in cardiovascular autonomic centres triggered by inducible nitric oxide synthase after death from septic shock. Lancet, v. 362, n. 9398, p. 1799-805, Nov 2003. ISSN 1474-547X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/14654318 >.

SHIMADA, A.; HASEGAWA-ISHII, S. Histological Architecture Underlying Brain-Immune Cell-Cell Interactions and the Cerebral Response to Systemic Inflammation. Front Immunol, v. 8, p. 17, 2017. ISSN 1664-3224. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28154566 >.

SHIMAZU, R. et al. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. J Exp Med, v. 189, n. 11, p. 1777-82, Jun 1999. ISSN 0022-1007. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10359581 >.

SIAMI, S. et al. Osmoregulation of vasopressin secretion is altered in the postacute phase of septic shock. Crit Care Med, v. 38, n. 10, p. 1962-9, Oct 2010. ISSN 1530-0293. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20639747 >.

_____. Thirst perception and osmoregulation of vasopressin secretion are altered during recovery from septic shock. PLoS One, v. 8, n. 11, p. e80190, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24223220 >.

SIBBALD, W. J. et al. Variations in adrenocortical responsiveness during severe bacterial infections. Unrecognized adrenocortical insufficiency in severe bacterial infections. Ann Surg, v. 186, n. 1, p. 29-33, Jul 1977. ISSN 0003-4932. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/195542 >.

SINGER, M. et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA, v. 315, n. 8, p. 801-10, Feb 2016. ISSN 1538-3598. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26903338 >.

SMELIK, P. G. Role of hypothalamic monoamines in the control of pituitary secretions. J Neurovisc Relat, v. 31, p. Suppl 9:277+, 1969. ISSN 0022-3026. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4319515 >.

SMITH, L. R.; BROWN, S. L.; BLALOCK, J. E. Interleukin-2 induction of ACTH secretion: presence of an interleukin-2 receptor alpha-chain-like molecule on pituitary cells. J Neuroimmunol, v. 21, n. 2-3, p. 249-54, Feb 1989. ISSN 0165-5728. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2536395 >.

SONI, A. et al. Adrenal insufficiency occurring during septic shock: incidence, outcome, and relationship to peripheral cytokine levels. Am J Med, v. 98, n. 3, p. 266-71, Mar 1995. ISSN 0002-9343. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7872343 >.

SPENCER, S. J. et al. Early-life immune challenge: defining a critical window for effects on adult responses to immune challenge. Neuropsychopharmacology, v. 31, n. 9, p. 1910-8, Sep 2006. ISSN 0893-133X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/16395304 >.

SPINEDI, E. et al. Cytokines stimulate the CRH but not the vasopressin neuronal system: evidence for a median eminence site of interleukin-6 action. Neuroendocrinology, v. 56, n. 1, p. 46-53, Jul 1992. ISSN 0028-3835. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1641072 >.

SRISKANDAN, S.; ALTMANN, D. M. The immunology of sepsis. J Pathol, v. 214, n. 2, p. 211-23, Jan 2008. ISSN 0022-3417 (Print) 0022-3417 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18161754 >.

STECKERT, A. V. et al. Late brain alterations in sepsis-survivor rats. Synapse, v. 67, n. 11, p. 786-93, Nov 2013. ISSN 1098-2396. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23740866 >.

SÉBIRE, G. et al. In vitro production of IL-6, IL-1 beta, and tumor necrosis factor-alpha by human embryonic microglial and neural cells. J Immunol, v. 150, n. 4, p. 1517-23, Feb 1993. ISSN 0022-1767. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/8432992 >.

THRASHER, T. N.; KEIL, L. C.; RAMSAY, D. J. Lesions of the organum vasculosum of the lamina terminalis (OVLT) attenuate osmotically-induced drinking and vasopressin secretion in the dog. Endocrinology, v. 110, n. 5, p. 1837-9, May 1982. ISSN 0013-7227. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7075541 >.

TUON, L. et al. Time-dependent behavioral recovery after sepsis in rats. Intensive Care Med, v. 34, n. 9, p. 1724-31, Sep 2008. ISSN 0342-4642. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18542919 >.

TURNBULL, A. V.; RIVIER, C. L. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. Physiol Rev, v. 79, n. 1, p. 1-71, Jan 1999. ISSN 0031-9333 (Print)

0031-9333 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9922367 >.

VAHL, T. P. et al. Comparative analysis of ACTH and corticosterone sampling methods in rats. Am J Physiol Endocrinol Metab, v. 289, n. 5, p. E823-8, Nov 2005. ISSN 0193-1849. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15956051 >.

VAN DER POLL, T. et al. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. Nat Rev Immunol, v. 17, n. 7, p. 407-420, Jul 2017. ISSN 1474-1741. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28436424 >.

VOSBECK, K. et al. Priming of polymorphonuclear granulocytes by lipopolysaccharides and its complexes with lipopolysaccharide binding protein and high density lipoprotein. J Leukoc Biol, v. 47, n. 2, p. 97-104, Feb 1990. ISSN 0741-5400. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2154525 >.

VYAS, D. et al. Early antibiotic administration but not antibody therapy directed against IL-6 improves survival in septic mice predicted to die on basis of high IL-6 levels. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v. 289, n. 4, p. R1048-53, Oct 2005. ISSN 0363-6119. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15947070 >.

WAHAB, F. et al. Recent advances in the understanding of sepsis-induced alterations in the neuroendocrine system. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, v. 13, n. 4, p. 335-47, Dec 2013. ISSN 2212-3873. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24329880 >.

_____. Interleukin-1 Receptor Antagonist Decreases Hypothalamic Oxidative Stress During Experimental Sepsis. Mol Neurobiol, v. 53, n. 6, p. 3992-8, Aug 2016. ISSN 1559-1182. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26184633 >.

_____. Interleukin-1 receptor antagonist decreases cerebrospinal fluid nitric oxide levels and increases vasopressin secretion in the late phase of sepsis in rats. Endocrine, v. 49, n. 1, p. 215-21, May 2015. ISSN 1559-0100. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25338201 >.

WANG, T. et al. Subsequent infections in survivors of sepsis: epidemiology and outcomes. J Intensive Care Med, v. 29, n. 2, p. 87-95, 2014 Mar-Apr 2014. ISSN 1525-1489. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23753224 >.

WANG, X. B.; HU, S. J.; JU, G. [Alteration of sensitivity of supraoptic nucleus neurons to cytokine in the hypothalamic slices from the rat after lipopolysaccharide injection]. Sheng Li Xue Bao, v. 52, n. 4, p. 339-42, Aug 2000. ISSN 0371-0874. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11951119 >.

WEITZMAN, R. E.; GLATZ, T. H.; FISHER, D. A. The effect of hemorrhage and hypertonic saline upon plasma oxytocin and arginine vasopressin in conscious dogs. Endocrinology, v. 103, n. 6, p. 2154-60, Dec 1978. ISSN 0013-7227. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/748039 >.

WIEDENMANN, B.; FRANKE, W. W. Identification and localization of synaptophysin,

an integral membrane glycoprotein of Mr 38,000 characteristic of presynaptic vesicles. Cell, v. 41, n. 3, p. 1017-28, Jul 1985. ISSN 0092-8674. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3924408 >.

WION, D.; LE BERT, M.; BRACHET, P. Messenger RNAs of beta-amyloid precursor protein and prion protein are regulated by nerve growth factor in PC12 cells. Int J Dev Neurosci, v. 6, n. 4, p. 387-93, 1988. ISSN 0736-5748. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2903615 >.

WRIGHT, S. D. et al. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. Science, v. 249, n. 4975, p. 1431-3, Sep 1990. ISSN 0036-8075. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1698311 >.

_____. Lipopolysaccharide (LPS) binding protein opsonizes LPS-bearing particles for recognition by a novel receptor on macrophages. J Exp Med, v. 170, n. 4, p. 1231-41, Oct 1989. ISSN 0022-1007. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub-med/2477488 >.

XIA, Y.; KRUKOFF, T. L. Differential neuronal activation in the hypothalamic paraventricular nucleus and autonomic/neuroendocrine responses to I.C.V. endotoxin. Neuroscience, v. 121, n. 1, p. 219-31, 2003. ISSN 0306-4522 (Print) 0306-4522 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12946713 >.

YAMAMOTO, N. et al. Epigallocatechin gallate induces extracellular degradation of amyloid β -protein by increasing neprilysin secretion from astrocytes through activation of ERK and PI3K pathways. Neuroscience, v. 362, p. 70-78, Oct 2017. ISSN 1873-7544. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28844000 >.

YASIN, S. A. et al. Interleukin-1 beta and interleukin-6 stimulate neurohypophysial hormone release in vitro. J Neuroendocrinol, v. 6, n. 2, p. 179-84, Apr 1994. ISSN 0953-8194. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8049716 >.

YEH, C. T. et al. Platonin preserves blood-brain barrier integrity in septic rats. Acta Anaesthesiol Taiwan, v. 53, n. 1, p. 12-5, Mar 2015. ISSN 1875-452X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25791838 >.

YENDE, S. et al. Risk of cardiovascular events in survivors of severe sepsis. Am J Respir Crit Care Med, v. 189, n. 9, p. 1065-74, May 2014. ISSN 1535-4970. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24456535 >.

ZHANG, Q. et al. Prognostic significance of hypothalamic-pituitary-adrenal axis hormones in early sepsis: a study performed in the emergency department. Intensive Care Med, v. 40, n. 10, p. 1499-508, Oct 2014. ISSN 1432-1238. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25223852 >.

ZHAO, G. J. et al. Incidence, risk factors and impact on outcomes of secondary infection in patients with septic shock: an 8-year retrospective study. Sci Rep, v. 6, p. 38361, 12 2016. ISSN 2045-2322. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27924831 >. ANGUS, D. C. et al. Quality-adjusted survival in the first year after the acute respiratory distress syndrome. **Am J Respir Crit Care Med,** v. 163, n. 6, p. 1389-94, May 2001. ISSN 1073-449X. Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11371406</u> >.

ANNANE, D.; BELLISSANT, E.; CAVAILLON, J. M. Septic shock. Lancet, v. 365, n. 9453, p. 63-78, Jan 1-7 2005. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15639681</u> >.

ATHAYDE, L. A. et al. Blocking central leukotrienes synthesis affects vasopressin release during sepsis. **Neuroscience,** v. 160, n. 4, p. 829-36, Jun 2 2009. ISSN 1873-7544 (Electronic) 0306-4522 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19285113</u> >.

BANKS, W. A.; KASTIN, A. J.; DURHAM, D. A. Bidirectional transport of interleukin-1 alpha across the blood-brain barrier. **Brain Res Bull,** v. 23, n. 6, p. 433-7, Dec 1989. ISSN 0361-9230. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2611685</u> >.

BANKS, W. A.; KASTIN, A. J.; GUTIERREZ, E. G. Interleukin-1 alpha in blood has direct access to cortical brain cells. **Neurosci Lett,** v. 163, n. 1, p. 41-4, Nov 1993. ISSN 0304-3940. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8295729</u> >.

BARICHELLO, T. et al. Cognitive impairment in sepsis survivors from cecal ligation and perforation. **Crit Care Med,** v. 33, n. 1, p. 221-3; discussion 262-3, Jan 2005a. ISSN 0090-3493. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15644673</u> >.

_____. Long-term cognitive impairment in sepsis survivors. **Crit Care Med,** v. 33, n. 7, p. 1671, Jul 2005b. ISSN 0090-3493. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16003096</u> >.

BEISHUIZEN, A.; THIJS, L. G. Endotoxin and the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. **J Endotoxin Res,** v. 9, n. 1, p. 3-24, 2003. ISSN 0968-0519. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12691614</u> >.

BENJAMIM, C. F. et al. Opposing and hierarchical roles of leukotrienes in local innate immune versus vascular responses in a model of sepsis. **J Immunol**, v. 174, n. 3, p. 1616-20, Feb 1 2005. ISSN 0022-1767 (Print) 0022-1767 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15661924</u> >.

BERNSTEIN, K. E. et al. Angiotensin-converting enzyme overexpression in myelomonocytes prevents Alzheimer's-like cognitive decline. **J Clin Invest**, v. 124, n. 3,

p. 1000-12, Mar 2014. ISSN 1558-8238. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24487585</u> >.

BETHIN, K. E.; VOGT, S. K.; MUGLIA, L. J. Interleukin-6 is an essential, corticotropinreleasing hormone-independent stimulator of the adrenal axis during immune system activation. **Proc Natl Acad Sci U S A,** v. 97, n. 16, p. 9317-22, Aug 2000. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10922080</u> >.

BHATNAGAR, S.; COSTALL, B.; SMYTHE, J. W. Hippocampal cholinergic blockade enhances hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. **Brain Res,** v. 766, n. 1-2, p. 244-8, Aug 1997. ISSN 0006-8993. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9359609</u> >.

BHATNAGAR, S.; VINING, C.; DENSKI, K. Regulation of chronic stress-induced changes in hypothalamic-pituitary-adrenal activity by the basolateral amygdala. **Ann N Y Acad Sci,** v. 1032, p. 315-9, Dec 2004. ISSN 0077-8923. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15677440</u> >.

BIENKOWSKI, M. S.; RINAMAN, L. Immune challenge activates neural inputs to the
ventrolateral bed nucleus of the stria terminalis. **Physiol Behav**, v. 104, n. 2, p. 257-65,
Aug 2011. ISSN 1873-507X. Disponível em: <
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21402087 >.

BONE, R. C. The pathogenesis of sepsis. **Ann Intern Med,** v. 115, n. 6, p. 457-69, Sep 15 1991. ISSN 0003-4819 (Print) 0003-4819 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1872494</u> >.

BORGES, B. C.; DA ROCHA, M. J. Participation of the subfornical nucleus in hypothalamic-neurohypophyseal axis activation during the early phase of endotoxic shock. **Neurosci Lett,** v. 404, n. 1-2, p. 227-31, Aug 2006. ISSN 0304-3940. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16815633</u> >.

BOURQUE, C. W. Central mechanisms of osmosensation and systemic osmoregulation. **Nat Rev Neurosci,** v. 9, n. 7, p. 519-31, Jul 2008. ISSN 1471-0048. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18509340</u> >.

BRUHN, F. H. et al. Blocking systemic nitric oxide production alters neuronal activation in brain structures involved in cardiovascular regulation during polymicrobial sepsis. **Neurosci Lett,** v. 453, n. 3, p. 141-6, Apr 2009. ISSN 1872-7972. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19429022</u> >.

BURAS, J. A.; HOLZMANN, B.; SITKOVSKY, M. Animal models of sepsis: setting the stage. **Nat Rev Drug Discov,** v. 4, n. 10, p. 854-65, Oct 2005. ISSN 1474-1776. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16224456</u> >.

CALHOUN, M. E. et al. Comparative evaluation of synaptophysin-based methods for quantification of synapses. **J Neurocytol,** v. 25, n. 12, p. 821-8, Dec 1996. ISSN 0300-4864. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9023727</u> >.

CALLAHAN, M. F.; DA ROCHA, M. J.; MORRIS, M. Sinoaortic denervation does not increase cardiovascular/endocrine responses to stress. **Neuroendocrinology**, v. 56, n. 5, p. 735-44, Nov 1992. ISSN 0028-3835. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1488106 >.

CALSOLARO, V.; EDISON, P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Current evidence and future directions. **Alzheimers Dement,** v. 12, n. 6, p. 719-32, 06 2016. ISSN 1552-5279. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27179961</u> >.

CAMPOS, A. C. et al. Animal models of anxiety disorders and stress. **Revista brasileira de psiquiatria**, v. 35, p. S101-S111, 2013. ISSN 1516-4446.

CARLSON, D. E.; CHIU, W. C.; SCALEA, T. M. Cecal ligation and puncture in rats interrupts the circadian rhythms of corticosterone and adrenocortical responsiveness to adrenocorticotrophic hormone. **Crit Care Med**, v. 34, n. 4, p. 1178-84, Apr 2006. ISSN 0090-3493. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16484905</u> >.

CARNIO, E. C. et al. Vasopressin release during endotoxaemic shock in mice lacking inducible nitric oxide synthase. **Pflugers Arch,** v. 450, n. 6, p. 390-4, Sep 2005. ISSN 0031-6768. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15971084</u> >.

CARTER, D. A.; LIGHTMAN, S. L. Modulation of oxytocin secretion by ascending noradrenergic pathways: sexual dimorphism in rats. **Brain Res,** v. 406, n. 1-2, p. 313-6, Mar 1987. ISSN 0006-8993. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3105813</u> >.

CHARLTON, B. G.; FERRIER, I. N. Hypothalamo-pituitary-adrenal axis abnormalities in depression: a review and a model. **Psychol Med,** v. 19, n. 2, p. 331-6, May 1989. ISSN 0033-2917. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2548224</u> >.

CHAUDHRY, N.; DUGGAL, A. K. Sepsis Associated Encephalopathy. **Adv Med,** v. 2014, p. 762320, 2014. ISSN 2356-6752. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26556425</u> >.

CHOI, D. C. et al. Bed nucleus of the stria terminalis subregions differentially regulate hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: implications for the integration of limbic inputs. **J Neurosci,** v. 27, n. 8, p. 2025-34, Feb 2007. ISSN 1529-2401. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17314298</u> >.

_____. The role of the posterior medial bed nucleus of the stria terminalis in modulating hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis responsiveness to acute and chronic stress. **Psychoneuroendocrinology**, v. 33, n. 5, p. 659-69, Jun 2008. ISSN 0306-4530. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18378095</u> >.

CHOUSTERMAN, B. G.; SWIRSKI, F. K.; WEBER, G. F. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. **Semin Immunopathol,** v. 39, n. 5, p. 517-528, Jul 2017. ISSN 1863-2300. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28555385</u> >.

CHOW, J. C. et al. Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. **J Biol Chem,** v. 274, n. 16, p. 10689-92, Apr 1999. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10196138</u> >.

COHEN, J. The immunopathogenesis of sepsis. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 885-91, 2002 Dec 19-26 2002. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12490963</u> >.

COMIM, C. M. et al. Alterations in inflammatory mediators, oxidative stress parameters and energetic metabolism in the brain of sepsis survivor rats. **Neurochem Res,** v. 36, n. 2, p. 304-11, Feb 2011. ISSN 1573-6903. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21107688</u> >.

CORREA, P. B. et al. Participation of iNOS-derived NO in hypothalamic activation and vasopressin release during polymicrobial sepsis. **J Neuroimmunol,** v. 183, n. 1-2, p. 17-25, Feb 2007. ISSN 0165-5728 (Print) 0165-5728 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17173980</u> >.

CORRÊA, P. B. et al. Participation of iNOS-derived NO in hypothalamic activation and vasopressin release during polymicrobial sepsis. **J Neuroimmunol**, v. 183, n. 1-2, p. 17-25, Feb 2007. ISSN 0165-5728. Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17173980</u> >.

CUNNINGHAM, E. T.; SAWCHENKO, P. E. Reflex control of magnocellular vasopressin and oxytocin secretion. **Trends Neurosci,** v. 14, n. 9, p. 406-11, Sep 1991. ISSN 0166-2236. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1720582</u> >.

DA COSTA, L. H. et al. Vasopressin Impairment During Sepsis Is Associated with Hypothalamic Intrinsic Apoptotic Pathway and Microglial Activation. **Mol Neurobiol**, Sep 2016. ISSN 1559-1182. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27631877</u> >.

DA ROCHA, M. J.; FRANCI, C. R.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Participation of cholinergic and adrenergic synapses of the medial septal area (MSA) in the natriuretic

and kaliuretic responses to intraventricular hypertonic saline (NaCl). **Physiol Behav,** v. 34, n. 1, p. 23-8, Jan 1985. ISSN 0031-9384. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4034692</u> >.

DANEVOVA, V.; KVETNANSKY, R.; JEZOVA, D. Kinetics of oxytocin response to repeated restraint stress and/or chronic cold exposure. **Horm Metab Res**, v. 45, n. 12, p. 845-8, Nov 2013. ISSN 1439-4286. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23888412</u> >.

DAVIES, D. C. Blood-brain barrier breakdown in septic encephalopathy and brain tumours. **J Anat,** v. 200, n. 6, p. 639-46, Jun 2002. ISSN 0021-8782. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12162731</u> >.

DE CARVALHO BORGES, B. et al. Lesion of the anteroventral third ventricle (AV3V) reduces hypothalamic activation and hypophyseal hormone secretion induced by lipopolysaccharide in rats. **Brain Res,** v. 1115, n. 1, p. 83-91, Oct 2006. ISSN 0006-8993. Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16934778</u> >.

DE MAIO, A.; TORRES, M. B.; REEVES, R. H. Genetic determinants influencing the response to injury, inflammation, and sepsis. **Shock**, v. 23, n. 1, p. 11-7, Jan 2005. ISSN 1073-2322 (Print) 1073-2322 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15614125</u> >.

DE SOUZA, P. et al. Impaired vascular function in sepsis-surviving rats mediated by oxidative stress and Rho-Kinase pathway. **Redox Biol,** v. 10, p. 140-147, 12 2016. ISSN 2213-2317. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27744119</u> >.

DENNHARDT, R. et al. Patterns of endocrine secretion during sepsis. **Prog Clin Biol Res,** v. 308, p. 751-6, 1989. ISSN 0361-7742. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2550959</u> >.

DESSON, S. E.; FERGUSON, A. V. Interleukin 1beta modulates rat subfornical organ neurons as a result of activation of a non-selective cationic conductance. **J Physiol**, v. 550, n. Pt 1, p. 113-22, Jul 2003. ISSN 0022-3751. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12879863</u> >.

DIORIO, D.; VIAU, V.; MEANEY, M. J. The role of the medial prefrontal cortex (cingulate gyrus) in the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. **J Neurosci,** v. 13, n. 9, p. 3839-47, Sep 1993. ISSN 0270-6474. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8396170</u> >.

DUNN, F. L. et al. The role of blood osmolality and volume in regulating vasopressin secretion in the rat. **J Clin Invest,** v. 52, n. 12, p. 3212-9, Dec 1973. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4750450</u> >.

EASTWOOD, S. L.; BURNET, P. W.; HARRISON, P. J. Altered synaptophysin expression as a marker of synaptic pathology in schizophrenia. **Neuroscience**, v. 66, n. 2, p. 309-19, May 1995. ISSN 0306-4522. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7477874</u> >.

ELLIS, S.; MOUIHATE, A.; PITTMAN, Q. J. Early life immune challenge alters innate immune responses to lipopolysaccharide: implications for host defense as adults. **FASEB J,** v. 19, n. 11, p. 1519-21, Sep 2005. ISSN 1530-6860. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15972802 >.

_____. Neonatal programming of the rat neuroimmune response: stimulus specific changes elicited by bacterial and viral mimetics. **J Physiol**, v. 571, n. Pt 3, p. 695-701, Mar 2006. ISSN 0022-3751. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16423854</u> >.

EPIS, R. et al. Alpha, beta-and gamma-secretases in Alzheimer's disease. **Front Biosci** (Schol Ed), v. 4, p. 1126-50, Jan 2012. ISSN 1945-0524. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22202113</u> >.

FEIHL, F.; WAEBER, B.; LIAUDET, L. Is nitric oxide overproduction the target of
choice for the management of septic shock? **Pharmacol Ther,** v. 91, n. 3, p. 179-213,
Sep 2001. ISSN 0163-7258. Disponível em: <
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11744067 >.

FERNANDEZ-SOLARI, J. et al. Participation of the endocannabinoid system in the effect of TNF-alpha on hypothalamic release of gonadotropin-releasing hormone. **Ann N Y Acad Sci,** v. 1088, p. 238-50, Nov 2006. ISSN 0077-8923 (Print) 0077-8923 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17192570</u> >.

FLAK, J. N. et al. Opposing effects of chronic stress and weight restriction on cardiovascular, neuroendocrine and metabolic function. **Physiol Behav**, v. 104, n. 2, p. 228-34, Aug 3 2011. ISSN 1873-507X (Electronic) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21396386</u> >.

FLEISCHER, N.; VALE, W. Inhibition of vasopressin-induced ACTH release from the pituitary by glucocorticoids in vitro. **Endocrinology,** v. 83, n. 6, p. 1232-6, Dec 1968. ISSN 0013-7227. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4301832</u> >.

FLIERL, M. A. et al. Disturbances of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and plasma electrolytes during experimental sepsis. **Ann Intensive Care,** v. 1, p. 53, Dec 2011. ISSN 2110-5820. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22208725</u> >.

FU, W. et al. Role of microglial amylin receptors in mediating beta amyloid (A β)-induced inflammation. **J Neuroinflammation**, v. 14, n. 1, p. 199, Oct 2017. ISSN 1742-2094. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28985759</u> >.

GENGA, K. R.; RUSSELL, J. A. Update of Sepsis in the Intensive Care Unit. **J Innate Immun**, v. 9, n. 5, p. 441-455, 2017. ISSN 1662-8128. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28697503</u> >.

GHEORGHIŢĂ, V. et al. Endocrine dysfunction in sepsis: a beneficial or deleterious host response? **Germs,** v. 5, n. 1, p. 17-25, Mar 2015. ISSN 2248-2997. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25763364</u> >.

GIACOMINI, M. G. et al. Septic shock: a major cause of hospital death after intensive care unit discharge. **Revista Brasileira de terapia intensiva**, v. 27, n. 1, p. 51-56, 2015. ISSN 0103-507X.

GIMPL, G.; FAHRENHOLZ, F. The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. **Physiol Rev,** v. 81, n. 2, p. 629-83, Apr 2001. ISSN 0031-9333. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11274341</u> >.

GIUSTI-PAIVA, A.; ELIAS, L. L.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Inhibitory effect of gaseous neuromodulators in vasopressin and oxytocin release induced by endotoxin in rats. **Neurosci Lett,** v. 381, n. 3, p. 320-4, Jun 2005. ISSN 0304-3940. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15896492</u> >.

GLANTZ, L. A.; LEWIS, D. A. Reduction of synaptophysin immunoreactivity in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. Regional and diagnostic specificity. **Arch Gen Psychiatry**, v. 54, n. 7, p. 660-9, Jul 1997. ISSN 0003-990X. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9236550</u> >.

GLENNER, G. G.; WONG, C. W. Alzheimer's disease and Down's syndrome: sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 122, n. 3, p. 1131-5, Aug 1984a. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6236805</u> >.

_____. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 120, n. 3, p. 885-90, May 1984b. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6375662</u> >.

GOEBEL, M. et al. Lipopolysaccharide increases plasma levels of corticotropinreleasing hormone in rats. **Neuroendocrinology**, v. 93, n. 3, p. 165-73, 2011. ISSN 1423-0194 (Electronic) 0028-3835 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21135542 >. GOREVIC, P. D. et al. Isolation and partial characterization of neurofibrillary tangles and amyloid plaque core in Alzheimer's disease: immunohistological studies. **J Neuropathol Exp Neurol,** v. 45, n. 6, p. 647-64, Nov 1986. ISSN 0022-3069. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3772397</u> >.

GRALLE, M.; FERREIRA, S. T. Structure and functions of the human amyloid precursor protein: the whole is more than the sum of its parts. **Prog Neurobiol**, v. 82, n. 1, p. 11-32, May 2007. ISSN 0301-0082. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17428603 >.

GRIFFIN, M. J.; LETSON, H. L.; DOBSON, G. P. Small-volume Adenosine, lidocaine and Mg2+ (ALM) 4 hour infusion leads to 88% survival after 6 days of experimental sepsis in the rat without antibiotics. **Clin Vaccine Immunol**, Aug 2016. ISSN 1556-679X. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27581435</u> >.

HADDAD, J. J.; SAADE, N. E.; SAFIEH-GARABEDIAN, B. Cytokines and neuroimmune-endocrine interactions: a role for the hypothalamic-pituitary-adrenal revolving axis. **J Neuroimmunol,** v. 133, n. 1-2, p. 1-19, Dec 2002. ISSN 0165-5728 (Print) 0165-5728 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12446003</u> >.

HALVERSON, K. et al. Molecular determinants of amyloid deposition in Alzheimer's disease: conformational studies of synthetic beta-protein fragments. **Biochemistry**, v. 29, n. 11, p. 2639-44, Mar 1990. ISSN 0006-2960. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2346740</u> >.

HAN, J. et al. Comparison of 3% and 7.5% Hypertonic Saline in Resuscitation After Traumatic Hypovolemic Shock. **Shock**, v. 43, n. 3, p. 244-9, Mar 2015. ISSN 1540-0514. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26091023</u> >.

HAN, J. S. et al. Decreased glucocorticoid receptor mRNA and dysfunction of HPA axis in rats after removal of the cholinergic innervation to hippocampus. **Eur J Neurosci,** v. 16, n. 7, p. 1399-404, Oct 2002. ISSN 0953-816X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12406000 >.

HARTMAN, R. D. et al. Ontogeny of opioid inhibition of vasopressin and oxytocin release in response to osmotic stimulation. **Endocrinology**, v. 119, n. 1, p. 1-11, Jul 1986. ISSN 0013-7227. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3720659</u> >.

HASHIGUCHI, H. et al. Single and repeated environmental stress: effect on plasma oxytocin, corticosterone, catecholamines, and behavior. **Physiol Behav**, v. 61, n. 5, p. 731-6, May 1997. ISSN 0031-9384 (Print) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9145944</u> >.

HERMAN, J. P. et al. Selective forebrain fiber tract lesions implicate ventral hippocampal structures in tonic regulation of paraventricular nucleus corticotropinreleasing hormone (CRH) and arginine vasopressin (AVP) mRNA expression. **Brain Res,** v. 592, n. 1-2, p. 228-38, Oct 1992. ISSN 0006-8993. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1333341 >.

_____. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. **Front Neuroendocrinol,** v. 24, n. 3, p. 151-80, Jul 2003. ISSN 0091-3022. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14596810 >.

_____. Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitaryadrenocortical axis. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 29, n. 8, p. 1201-13, Dec 2005. ISSN 0278-5846. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16271821</u> >.

HEYLAND, D. K. et al. Long-term health-related quality of life in survivors of sepsis. Short Form 36: a valid and reliable measure of health-related quality of life. **Crit Care Med,** v. 28, n. 11, p. 3599-605, Nov 2000. ISSN 0090-3493. Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11098960</u> >.

HOLLIS, J. H. et al. The trajectory of sensory pathways from the lamina terminalis to the insular and cingulate cortex: a neuroanatomical framework for the generation of thirst. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,** v. 294, n. 4, p. R1390-401, Apr 2008. ISSN 0363-6119. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18234743</u> >.

HOLMES, C. L. et al. Physiology of vasopressin relevant to management of septic shock. **Chest,** v. 120, n. 3, p. 989-1002, Sep 2001. ISSN 0012-3692 (Print) 0012-3692 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11555538</u> >.

HOLMES, C. L.; RUSSELL, J. A.; WALLEY, K. R. Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock: role in prognosis and potential for therapy. **Chest**, v. 124, n. 3, p. 1103-15, Sep 2003. ISSN 0012-3692 (Print) 0012-3692 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12970043</u> >.

INCE, C. et al. THE ENDOTHELIUM IN SEPSIS. **Shock,** v. 45, n. 3, p. 259-70, Mar 2016. ISSN 1540-0514. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26871664</u> >.

IOVINO, M.; STEARDO, L. Vasopressin release to central and peripheral angiotensin II in rats with lesions of the subfornical organ. **Brain Res,** v. 322, n. 2, p. 365-8, Nov 1984. ISSN 0006-8993. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6509326</u> >.

IVANYI, T.; WIEGANT, V. M.; DE WIED, D. Differential effects of emotional and physical stress on the central and peripheral secretion of neurohypophysial hormones in male rats. **Life Sci,** v. 48, n. 13, p. 1309-16, 1991. ISSN 0024-3205 (Print) 0024-3205 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2002757</u> >.

IŞERI, S. O. et al. Oxytocin protects against sepsis-induced multiple organ damage: role of neutrophils. **J Surg Res,** v. 126, n. 1, p. 73-81, Jun 2005. ISSN 0022-4804. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15916978</u> >.

JEZOVÁ, D. et al. Paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus are not equally important for oxytocin release during stress. **Neuroendocrinology**, v. 57, n. 5, p. 776-81, May 1993. ISSN 0028-3835. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8413814</u> >.

JØRGENSEN, H. et al. Serotonergic involvement in stress-induced vasopressin and oxytocin secretion. **Eur J Endocrinol,** v. 147, n. 6, p. 815-24, Dec 2002. ISSN 0804-4643. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12457458</u> >.

KANCZKOWSKI, W. et al. Hypothalamo-pituitary and immune-dependent adrenal regulation during systemic inflammation. **Proc Natl Acad Sci U S A,** v. 110, n. 36, p. 14801-6, Sep 2013. ISSN 1091-6490. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23959899</u> >.

_____. The role of adrenal gland microenvironment in the HPA axis function and dysfunction during sepsis. **Mol Cell Endocrinol,** v. 408, p. 241-8, Jun 2015. ISSN 1872-8057. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25543020</u> >.

KASAHARA, E.; INOUE, M. Cross-talk between HPA-axis-increased glucocorticoids and mitochondrial stress determines immune responses and clinical manifestations of patients with sepsis. **Redox Rep,** v. 20, n. 1, p. 1-10, Jan 2015. ISSN 1743-2928. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25310535</u> >.

KASTING, N. W. Simultaneous and independent release of vasopressin and oxytocin in the rat. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 66, n. 1, p. 22-6, Jan 1988. ISSN 0008-4212. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3370533</u> >.

KIM, S. J. et al. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis/septic shock in the emergency department; a study based on Sepsis-3 definition. **Am J Emerg Med**, May 2018. ISSN 1532-8171. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29861371</u> >.

KONSMAN, J. P. et al. Rat brain vascular distribution of interleukin-1 type-1 receptor immunoreactivity: relationship to patterns of inducible cyclooxygenase expression by

peripheral inflammatory stimuli. **J Comp Neurol,** v. 472, n. 1, p. 113-29, Apr 2004. ISSN 0021-9967. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15024756</u> >.

KRAFTE-JACOBS, B. et al. Circulating methemoglobin and nitrite/nitrate concentrations as indicators of nitric oxide overproduction in critically ill children with septic shock. **Crit Care Med,** v. 25, n. 9, p. 1588-93, Sep 1997. ISSN 0090-3493. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9295837</u> >.

KREEK, M. J.; ZHOU, Y.; LEVRAN, O. Functions of arginine vasopressin and its receptors: importance of human molecular genetics studies in bidirectional translational research. **Biol Psychiatry,** v. 70, n. 6, p. 502-3, Sep 2011. ISSN 1873-2402. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21864735</u> >.

KUPERBERG, S. J.; WADGAONKAR, R. Sepsis-Associated Encephalopathy: The Blood-Brain Barrier and the Sphingolipid Rheostat. **Front Immunol**, v. 8, p. 597, 2017. ISSN 1664-3224. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28670310</u> >.

LACROIX, S.; FEINSTEIN, D.; RIVEST, S. The bacterial endotoxin lipopolysaccharide has the ability to target the brain in upregulating its membrane CD14 receptor within specific cellular populations. **Brain Pathol**, v. 8, n. 4, p. 625-40, Oct 1998. ISSN 1015-6305. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9804372 >.

LANDRY, D. W. et al. Vasopressin deficiency contributes to the vasodilation of septic shock. **Circulation**, v. 95, n. 5, p. 1122-5, Mar 1997. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9054839</u> >.

LEE, H. J. et al. Decreased Interleukin-4 Release from the Neurons of the Locus Coeruleus in Response to Immobilization Stress. **Mediators Inflamm,** v. 2016, p. 3501905, 2016. ISSN 1466-1861. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26903707</u> >.

LILLY, M. P.; GANN, D. S. The hypothalamic-pituitary-adrenal-immune axis. A critical assessment. **Arch Surg,** v. 127, n. 12, p. 1463-74, Dec 1992. ISSN 0004-0010. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1365694</u> >.

LIU, L. et al. The expression of tumour necrosis factor in the hypothalamus after treatment with lipopolysaccharide. **Int J Exp Pathol,** v. 77, n. 1, p. 37-44, Feb 1996. ISSN 0959-9673. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8664145</u> >.

MARKWART, R. et al. Immunosuppression after sepsis: systemic inflammation and sepsis induce a loss of naïve T-cells but no enduring cell-autonomous defects in T-cell function. **PLoS One,** v. 9, n. 12, p. e115094, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25541945</u> >.

MARQUES, F. et al. The choroid plexus response to a repeated peripheral inflammatory stimulus. **BMC Neurosci,** v. 10, p. 135, Nov 2009. ISSN 1471-2202. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19922669</u> >.

MARTINS, T. F. et al. Leukotriene synthesis inhibitor decreases vasopressin release in the early phase of sepsis. **J Neuroimmunol**, v. 238, n. 1-2, p. 52-7, Sep 15 2011. ISSN 1872-8421 (Electronic) 0165-5728 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21885132 >.

MARTÍN, S.; PÉREZ, A.; ALDECOA, C. Sepsis and Immunosenescence in the Elderly Patient: A Review. **Front Med (Lausanne)**, v. 4, p. 20, 2017. ISSN 2296-858X. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28293557</u> >.

MATSUNAGA, W. et al. LPS-induced Fos expression in oxytocin and vasopressin neurons of the rat hypothalamus. **Brain Res,** v. 858, n. 1, p. 9-18, Mar 6 2000. ISSN 0006-8993 (Print) 0006-8993 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10700590</u> >.

MAXIME, V.; SIAMI, S.; ANNANE, D. Metabolism modulators in sepsis: the abnormal pituitary response. **Crit Care Med,** v. 35, n. 9 Suppl, p. S596-601, Sep 2007. ISSN 0090-3493. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17713415</u> >.

MAYR, F. B.; YENDE, S.; ANGUS, D. C. Epidemiology of severe sepsis. **Virulence**, v. 5, n. 1, p. 4-11, Jan 2014. ISSN 2150-5608. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24335434</u> >.

MEDEIROS, R. et al. The role of TNF-alpha signaling pathway on COX-2 upregulation and cognitive decline induced by beta-amyloid peptide. **Behav Brain Res,** v. 209, n. 1, p. 165-73, May 2010. ISSN 1872-7549. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20122965</u> >.

MINAMI, T. et al. Roles of nitric oxide and prostaglandins in the increased permeability of the blood-brain barrier caused by lipopolysaccharide. **Environ Toxicol Pharmacol**, v. 5, n. 1, p. 35-41, Jan 1998. ISSN 1382-6689. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21781848 >.

MOLNÁR, L. et al. Sepsis-associated encephalopathy: A review of literature. **Neurol India**, v. 66, n. 2, p. 352-361, 2018 Mar-Apr 2018. ISSN 0028-3886. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29547154</u> >.

MONNERET, G. et al. ICU-acquired immunosuppression and the risk for secondary fungal infections. **Med Mycol**, v. 49 Suppl 1, p. S17-23, Apr 2011. ISSN 1460-2709. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20718607</u> >.

MORAES, C. A. et al. Activated Microglia-Induced Deficits in Excitatory Synapses Through IL-1 β : Implications for Cognitive Impairment in Sepsis. **Mol Neurobiol**, v. 52, n. 1, p. 653-63, Aug 2015. ISSN 1559-1182. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25257696</u> >.

MORETO, V. et al. Role of heme-oxygenase pathway on vasopressin deficiency during endotoxemic shock-like conditions. **Shock**, v. 26, n. 5, p. 472-6, Nov 2006. ISSN 1073-2322. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17047517</u> >.

NADEAU, S.; RIVEST, S. Role of microglial-derived tumor necrosis factor in mediating CD14 transcription and nuclear factor kappa B activity in the brain during endotoxemia. **J Neurosci,** v. 20, n. 9, p. 3456-68, May 2000. ISSN 1529-2401. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10777809</u> >.

NAKATSURU, K. et al. Interleukin-1 (IL-1) stimulates arginine vasopressin (AVP) release from superfused rat hypothalamo-neurohypophyseal complexes independently of cholinergic mechanism. **Brain Res,** v. 554, n. 1-2, p. 38-45, Jul 1991. ISSN 0006-8993. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1681990</u> >.

NAKAYAMA, S. et al. Small-volume resuscitation with hypertonic saline (2,400 mOsm/liter) during hemorrhagic shock. **Circ Shock,** v. 13, n. 2, p. 149-59, 1984. ISSN 0092-6213. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6744520</u> >.

NAPOLITANO, L. M. Sepsis 2018: Definitions and Guideline Changes. **Surg Infect** (Larchmt), v. 19, n. 2, p. 117-125, 2018 Feb/Mar 2018. ISSN 1557-8674. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29447109</u> >.

NASCIMENTO, D. C. et al. Role of regulatory T cells in long-term immune dysfunction associated with severe sepsis. **Crit Care Med,** v. 38, n. 8, p. 1718-25, Aug 2010. ISSN 1530-0293. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20543670</u> >.

NEPOMUCENO, N. A. et al. Effect of hypertonic saline in the pretreatment of lung donors with hemorrhagic shock. **J Surg Res,** v. 225, p. 181-188, May 2018. ISSN 1095-8673. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29605030</u> >.

NEUMANN, I. D. et al. Brain oxytocin inhibits the (re)activity of the hypothalamopituitary-adrenal axis in male rats: involvement of hypothalamic and limbic brain regions. **Regul Pept,** v. 96, n. 1-2, p. 31-8, Dec 2000. ISSN 0167-0115. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11102649</u> >.

NONAKA, K. O. Involvement of 5-HT3 receptors in the prolactin release induced by immobilization stress in rats. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 23, n.

3, p. 497-503, Apr 1999. ISSN 0278-5846 (Print) 0278-5846 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10378232</u> >.

OLIVEIRA-PELEGRIN, G. R. et al. Role of central NO-cGMP pathway in vasopressin and oxytocin gene expression during sepsis. **Peptides,** v. 31, n. 10, p. 1847-52, Oct 2010. ISSN 1873-5169 (Electronic) 0196-9781 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20621145</u> >.

OLIVEIRA-PELEGRIN, G. R.; BASSO, P. J.; ROCHA, M. J. Cellular bioenergetics changes in magnocellular neurons may affect copeptin expression in the late phase of sepsis. **J Neuroimmunol**, v. 267, n. 1-2, p. 28-34, Feb 2014. ISSN 1872-8421. Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24360909</u> >.

OLIVEIRA-PELEGRIN, G. R. et al. Cleaved caspase-3 expression in hypothalamic magnocellular neurons may affect vasopressin secretion during experimental polymicrobial sepsis. **J Neuroimmunol**, v. 258, n. 1-2, p. 10-6, May 15 2013. ISSN 1872-8421 (Electronic) 0165-5728 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23523151</u> >.

OLIVEIRA-PELEGRIN, G. R.; BRANCO, L. G.; ROCHA, M. J. Central NO-cGMP pathway in thermoregulation and survival rate during polymicrobial sepsis. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 88, n. 2, p. 113-20, Feb 2010. ISSN 1205-7541 (Electronic) 0008-4212 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20237585</u> >.

OLIVEIRA-PELEGRIN, G. R. et al. Central NOS inhibition differentially affects vasopressin gene expression in hypothalamic nuclei in septic rats. **J Neuroimmunol**, v. 227, n. 1-2, p. 80-6, Oct 2010. ISSN 1872-8421. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20643487</u> >.

_____. Thermoregulation and vasopressin secretion during polymicrobial sepsis. **Neuroimmunomodulation,** v. 16, n. 1, p. 45-53, Jan 2009. ISSN 1423-0216. Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19077445</u> >.

_____. Oxytocin affects nitric oxide and cytokine production by sepsis-sensitized macrophages. **Neuroimmunomodulation**, v. 20, n. 2, p. 65-71, 2013. ISSN 1423-0216. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23183119</u> >.

OSTRANDER, M. M. et al. Hypoactivity of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis during recovery from chronic variable stress. **Endocrinology**, v. 147, n. 4, p. 2008-17, Apr 2006. ISSN 0013-7227. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16396985</u> >.

OTA, K. et al. AV3V neurons that send axons to hypothalamic nuclei respond to the systemic injection of IL-1beta. **Am J Physiol,** v. 272, n. 2 Pt 2, p. R532-40, Feb 1997. ISSN 0002-9513. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9124475</u> >.

OZAKTAY, A. C. et al. Effects of interleukin-1 beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor on sensitivity of dorsal root ganglion and peripheral receptive fields in rats. **Eur Spine J,** v. 15, n. 10, p. 1529-37, Oct 2006. ISSN 0940-6719. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16474945</u> >.

PALIN, K. et al. Interleukin-6 activates arginine vasopressin neurons in the supraoptic nucleus during immune challenge in rats. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 296, n. 6, p. E1289-99, Jun 2009. ISSN 0193-1849. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19258490</u> >.

PALLÁS BENEYTO, L. A. et al. [Prognostic value of interleukin 6 for death of patients with sepsis]. **Med Clin (Barc)**, Jul 2016. ISSN 0025-7753. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27422737</u> >.

PANCOTO, J. A. et al. Autonomic dysfunction in experimental sepsis induced by cecal ligation and puncture. **Auton Neurosci**, v. 138, n. 1-2, p. 57-63, Feb 29 2008. ISSN 1566-0702 (Print) 1566-0702 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18060845</u> >.

_____. Autonomic dysfunction in experimental sepsis induced by cecal ligation and puncture. **Auton Neurosci,** v. 138, n. 1-2, p. 57-63, Feb 2008. ISSN 1566-0702. Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18060845</u> >.

PARRILLO, J. E. Pathogenetic mechanisms of septic shock. **N Engl J Med,** v. 328, n. 20, p. 1471-7, May 20 1993. ISSN 0028-4793 (Print) 0028-4793 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8479467</u> >.

PARÉ, W. P.; GLAVIN, G. B. Restraint stress in biomedical research: a review. **Neurosci Biobehav Rev,** v. 10, n. 3, p. 339-70, 1986. ISSN 0149-7634. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3095718</u> >.

PATEL, B. M. et al. Beneficial effects of short-term vasopressin infusion during severe septic shock. **Anesthesiology,** v. 96, n. 3, p. 576-82, Mar 2002. ISSN 0003-3022. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11873030</u> >.

POLITO, A. et al. Hyperglycaemia and apoptosis of microglial cells in human septic shock. **Crit Care,** v. 15, n. 3, p. R131, 2011. ISSN 1466-609X. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21612615</u> >.

_____. Changes in CRH and ACTH synthesis during experimental and human septic shock. **PLoS One,** v. 6, n. 11, p. e25905, 2011. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22073145</u> >.

QUAN, N. et al. Induction of pro-inflammatory cytokine mRNAs in the brain after peripheral injection of subseptic doses of lipopolysaccharide in the rat. **J Neuroimmunol**, v. 93, n. 1-2, p. 72-80, Jan 1999. ISSN 0165-5728. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10378870</u> >.

QUINTANO NEIRA, R. A.; HAMACHER, S.; JAPIASSÚ, A. M. Epidemiology of sepsis in Brazil: Incidence, lethality, costs, and other indicators for Brazilian Unified Health System hospitalizations from 2006 to 2015. **PLoS One,** v. 13, n. 4, p. e0195873, 2018. ISSN 1932-6203. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29652944 >.

QURESHI, S. T. et al. Endotoxin-tolerant mice have mutations in Toll-like receptor 4 (Tlr4). **J Exp Med,** v. 189, n. 4, p. 615-25, Feb 1999. ISSN 0022-1007. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9989976</u> >.

RENAUD, L. P. CNS pathways mediating cardiovascular regulation of vasopressin. **Clin Exp Pharmacol Physiol,** v. 23, n. 2, p. 157-60, Feb 1996. ISSN 0305-1870. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8819645</u> >.

RICHARD, D.; BOURQUE, C. W. Synaptic control of rat supraoptic neurones during osmotic stimulation of the organum vasculosum lamina terminalis in vitro. **J Physiol**, v. 489 (Pt 2), p. 567-77, Dec 1995. ISSN 0022-3751. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8847648</u> >.

RIEDEMANN, T. et al. Corticosteroids: way upstream. **Mol Brain**, v. 3, p. 2, Jan 2010. ISSN 1756-6606. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20180948</u> >.

RITTER, C. et al. Oxidative parameters and mortality in sepsis induced by cecal ligation and perforation. **Intensive Care Med**, v. 29, n. 10, p. 1782-9, Oct 2003. ISSN 0342-4642. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12783160</u> >.

ROCHA, M. J. et al. Sinoaortic denervation alters the molecular and endocrine responses to salt loading. **Neuroendocrinology,** v. 57, n. 4, p. 729-37, Apr 1993. ISSN 0028-3835. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8367035</u> >.

ROCHA, M. J. A.; OLIVEIRA, G. R.; CORRÊA, P. B. Neurohypophyseal hormone secretion during septic shock. New York: Nova Biochemical, 2006. 212.

ROCHA-E-SILVA, M. et al. Hypertonic resuscitation from severe hemorrhagic shock: patterns of regional circulation. **Circ Shock,** v. 19, n. 2, p. 165-75, 1986. ISSN 0092-6213. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3719918</u> >.

RODRIGUEZ, T. T. et al. Prolactin secretion in hypothyroid endotoxemic rats: involvement of L-arginine and nitric oxide synthase. **Shock**, v. 23, n. 5, p. 448-52, May 2005. ISSN 1073-2322 (Print) 1073-2322 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15834311</u> >.

ROTHWELL, P. M.; UDWADIA, Z. F.; LAWLER, P. G. Cortisol response to corticotropin and survival in septic shock. **Lancet**, v. 337, n. 8741, p. 582-3, Mar 1991. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1671944</u> >.

RUSSELL, J. A.; RUSH, B.; BOYD, J. Pathophysiology of Septic Shock. **Crit Care Clin,** v. 34, n. 1, p. 43-61, Jan 2018. ISSN 1557-8232. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29149941</u> >.

SAIA, R. S. et al. Neonatal endotoxin exposure changes neuroendocrine, cardiovascular function and mortality during polymicrobial sepsis in adult rats. **Regul Pept**, v. 169, n. 1-3, p. 21-30, Aug 2011. ISSN 1873-1686. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21549159</u> >.

SCHMITT, U. et al. Detection of behavioral alterations and learning deficits in mice lacking synaptophysin. **Neuroscience,** v. 162, n. 2, p. 234-43, Aug 2009. ISSN 1873-7544. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19393300</u> >.

SCHUMANN, R. R. Function of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein (LBP) and CD14, the receptor for LPS/LBP complexes: a short review. **Res Immunol**, v. 143, n. 1, p. 11-5, Jan 1992. ISSN 0923-2494. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1373512</u> >.

SCHWALM, M. T. et al. Acute brain inflammation and oxidative damage are related to long-term cognitive deficits and markers of neurodegeneration in sepsis-survivor rats. **Mol Neurobiol,** v. 49, n. 1, p. 380-5, Feb 2014. ISSN 1559-1182. Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23990375</u> >.

SHANKAR, G. M.; WALSH, D. M. Alzheimer's disease: synaptic dysfunction and Abeta. **Mol Neurodegener,** v. 4, p. 48, Nov 2009. ISSN 1750-1326. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19930651</u> >.

SHANKS, N.; LAROCQUE, S.; MEANEY, M. J. Neonatal endotoxin exposure alters the development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: early illness and later responsivity to stress. **J Neurosci**, v. 15, n. 1 Pt 1, p. 376-84, Jan 1995. ISSN 0270-6474. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7823142</u> >.

SHANKS, N. et al. Early-life exposure to endotoxin alters hypothalamic-pituitaryadrenal function and predisposition to inflammation. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 97, n. 10, p. 5645-50, May 2000. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10779563</u> >.

SHARSHAR, T. et al. Depletion of neurohypophyseal content of vasopressin in septic shock. **Crit Care Med,** v. 30, n. 3, p. 497-500, Mar 2002. ISSN 0090-3493. Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11990905</u> >.

_____. Apoptosis of neurons in cardiovascular autonomic centres triggered by inducible nitric oxide synthase after death from septic shock. Lancet, v. 362, n. 9398, p. 1799-805, Nov 2003. ISSN 1474-547X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14654318 >.

SHIMADA, A.; HASEGAWA-ISHII, S. Histological Architecture Underlying Brain-Immune Cell-Cell Interactions and the Cerebral Response to Systemic Inflammation. **Front Immunol,** v. 8, p. 17, 2017. ISSN 1664-3224. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28154566</u> >.

SHIMAZU, R. et al. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. **J Exp Med**, v. 189, n. 11, p. 1777-82, Jun 1999. ISSN 0022-1007. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10359581</u> >.

SIAMI, S. et al. Osmoregulation of vasopressin secretion is altered in the postacute phase of septic shock. **Crit Care Med,** v. 38, n. 10, p. 1962-9, Oct 2010. ISSN 1530-0293. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20639747</u> >.

_____. Thirst perception and osmoregulation of vasopressin secretion are altered during recovery from septic shock. **PLoS One,** v. 8, n. 11, p. e80190, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24223220</u> >.

SIBBALD, W. J. et al. Variations in adrenocortical responsiveness during severe bacterial infections. Unrecognized adrenocortical insufficiency in severe bacterial infections. **Ann Surg**, v. 186, n. 1, p. 29-33, Jul 1977. ISSN 0003-4932. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/195542 >.

SINGER, M. et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). **JAMA**, v. 315, n. 8, p. 801-10, Feb 2016. ISSN 1538-3598. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26903338</u> >.

SMITH, L. R.; BROWN, S. L.; BLALOCK, J. E. Interleukin-2 induction of ACTH secretion: presence of an interleukin-2 receptor alpha-chain-like molecule on pituitary

cells. **J Neuroimmunol**, v. 21, n. 2-3, p. 249-54, Feb 1989. ISSN 0165-5728. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2536395</u> >.

SONI, A. et al. Adrenal insufficiency occurring during septic shock: incidence, outcome,
and relationship to peripheral cytokine levels. Am J Med, v. 98, n. 3, p. 266-71, Mar
1995. ISSN 0002-9343. Disponível em: <
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7872343 >.

SPENCER, S. J. et al. Early-life immune challenge: defining a critical window for effects on adult responses to immune challenge. **Neuropsychopharmacology,** v. 31, n. 9, p. 1910-8, Sep 2006. ISSN 0893-133X. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16395304</u> >.

SPINEDI, E. et al. Cytokines stimulate the CRH but not the vasopressin neuronal system: evidence for a median eminence site of interleukin-6 action. **Neuroendocrinology**, v. 56, n. 1, p. 46-53, Jul 1992. ISSN 0028-3835. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1641072</u> >.

SRISKANDAN, S.; ALTMANN, D. M. The immunology of sepsis. **J Pathol,** v. 214, n. 2, p. 211-23, Jan 2008. ISSN 0022-3417 (Print) 0022-3417 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18161754</u> >.

STABILE, A. M. et al. Differential Role of Neurohypophysial Hormones in Hypotensionand Nitric Oxide Production During Endotoxaemia. J Neuroendocrinol, v. 28, n. 6, Jun2016.ISSN1365-2826.Disponívelhttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27037598

STECKERT, A. V. et al. Late brain alterations in sepsis-survivor rats. **Synapse**, v. 67, n. 11, p. 786-93, Nov 2013. ISSN 1098-2396. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23740866</u> >.

SÉBIRE, G. et al. In vitro production of IL-6, IL-1 beta, and tumor necrosis factor-alpha by human embryonic microglial and neural cells. **J Immunol**, v. 150, n. 4, p. 1517-23, Feb 1993. ISSN 0022-1767. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8432992</u> >.

THRASHER, T. N.; KEIL, L. C.; RAMSAY, D. J. Lesions of the organum vasculosum of the lamina terminalis (OVLT) attenuate osmotically-induced drinking and vasopressin secretion in the dog. **Endocrinology**, v. 110, n. 5, p. 1837-9, May 1982. ISSN 0013-7227. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7075541</u> >.

TUON, L. et al. Time-dependent behavioral recovery after sepsis in rats. **Intensive Care Med,** v. 34, n. 9, p. 1724-31, Sep 2008. ISSN 0342-4642. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18542919</u> >.

TURNBULL, A. V.; RIVIER, C. L. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. **Physiol Rev**, v. 79, n. 1, p. 1-71, Jan 1999. ISSN 0031-9333 (Print) 0031-9333 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9922367</u> >.

VAHL, T. P. et al. Comparative analysis of ACTH and corticosterone sampling methods in rats. **Am J Physiol Endocrinol Metab,** v. 289, n. 5, p. E823-8, Nov 2005. ISSN 0193-1849. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15956051</u> >.

VAN DER POLL, T. et al. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. **Nat Rev Immunol,** v. 17, n. 7, p. 407-420, Jul 2017. ISSN 1474-1741. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28436424</u> >.

VOSBECK, K. et al. Priming of polymorphonuclear granulocytes by lipopolysaccharides and its complexes with lipopolysaccharide binding protein and high density lipoprotein. **J Leukoc Biol,** v. 47, n. 2, p. 97-104, Feb 1990. ISSN 0741-5400. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2154525</u> >.

VYAS, D. et al. Early antibiotic administration but not antibody therapy directed against IL-6 improves survival in septic mice predicted to die on basis of high IL-6 levels. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,** v. 289, n. 4, p. R1048-53, Oct 2005. ISSN 0363-6119. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15947070</u> >.

WAHAB, F. et al. Recent advances in the understanding of sepsis-induced alterations in the neuroendocrine system. **Endocr Metab Immune Disord Drug Targets,** v. 13, n. 4, p. 335-47, Dec 2013. ISSN 2212-3873. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24329880</u> >.

_____. Interleukin-1 Receptor Antagonist Decreases Hypothalamic Oxidative Stress During Experimental Sepsis. **Mol Neurobiol,** v. 53, n. 6, p. 3992-8, Aug 2016. ISSN 1559-1182. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26184633</u> >.

_____. Interleukin-1 receptor antagonist decreases cerebrospinal fluid nitric oxide levels and increases vasopressin secretion in the late phase of sepsis in rats. **Endocrine,** v. 49, n. 1, p. 215-21, May 2015. ISSN 1559-0100. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25338201</u> >.

WANG, T. et al. Subsequent infections in survivors of sepsis: epidemiology and outcomes. **J Intensive Care Med**, v. 29, n. 2, p. 87-95, 2014 Mar-Apr 2014. ISSN 1525-1489. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23753224</u> >.

WANG, X. B.; HU, S. J.; JU, G. [Alteration of sensitivity of supraoptic nucleus neurons to cytokine in the hypothalamic slices from the rat after lipopolysaccharide injection].

Sheng Li Xue Bao, v. 52, n. 4, p. 339-42, Aug 2000. ISSN 0371-0874. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11951119</u> >.

WEITZMAN, R. E.; GLATZ, T. H.; FISHER, D. A. The effect of hemorrhage and hypertonic saline upon plasma oxytocin and arginine vasopressin in conscious dogs. **Endocrinology,** v. 103, n. 6, p. 2154-60, Dec 1978. ISSN 0013-7227. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/748039</u> >.

WIEDENMANN, B.; FRANKE, W. W. Identification and localization of synaptophysin, an integral membrane glycoprotein of Mr 38,000 characteristic of presynaptic vesicles. **Cell,** v. 41, n. 3, p. 1017-28, Jul 1985. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3924408</u> >.

WION, D.; LE BERT, M.; BRACHET, P. Messenger RNAs of beta-amyloid precursor protein and prion protein are regulated by nerve growth factor in PC12 cells. **Int J Dev Neurosci,** v. 6, n. 4, p. 387-93, 1988. ISSN 0736-5748. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2903615</u> >.

WRIGHT, S. D. et al. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. **Science,** v. 249, n. 4975, p. 1431-3, Sep 1990. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1698311</u> >.

_____. Lipopolysaccharide (LPS) binding protein opsonizes LPS-bearing particles for recognition by a novel receptor on macrophages. J Exp Med, v. 170, n. 4, p. 1231-41, Oct 1989. ISSN 0022-1007. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2477488 >.

XIA, Y.; KRUKOFF, T. L. Differential neuronal activation in the hypothalamic paraventricular nucleus and autonomic/neuroendocrine responses to I.C.V. endotoxin. **Neuroscience**, v. 121, n. 1, p. 219-31, 2003. ISSN 0306-4522 (Print)

0306-4522 (Linking). Disponível em: < <u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12946713</u> >.

YAMAMOTO, K. et al. Arginine vasopressin increases nitric oxide synthesis in cytokine-stimulated rat cardiac myocytes. **Hypertension**, v. 30, n. 5, p. 1112-20, Nov 1997. ISSN 0194-911X. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9369264</u> >.

YAMAMOTO, N. et al. Epigallocatechin gallate induces extracellular degradation of amyloid β -protein by increasing neprilysin secretion from astrocytes through activation of ERK and PI3K pathways. **Neuroscience**, v. 362, p. 70-78, Oct 2017. ISSN 1873-7544. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28844000</u> >.

YASIN, S. A. et al. Interleukin-1 beta and interleukin-6 stimulate neurohypophysial hormone release in vitro. **J Neuroendocrinol,** v. 6, n. 2, p. 179-84, Apr 1994. ISSN 0953-8194. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8049716</u> >.

YEH, C. T. et al. Platonin preserves blood-brain barrier integrity in septic rats. Acta Anaesthesiol Taiwan, v. 53, n. 1, p. 12-5, Mar 2015. ISSN 1875-452X. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25791838</u> >.

YENDE, S. et al. Risk of cardiovascular events in survivors of severe sepsis. **Am J Respir Crit Care Med,** v. 189, n. 9, p. 1065-74, May 2014. ISSN 1535-4970. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24456535</u> >.

ZHANG, Q. et al. Prognostic significance of hypothalamic-pituitary-adrenal axis hormones in early sepsis: a study performed in the emergency department. **Intensive Care Med,** v. 40, n. 10, p. 1499-508, Oct 2014. ISSN 1432-1238. Disponível em: < <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25223852</u> >.

ZHAO, G. J. et al. Incidence, risk factors and impact on outcomes of secondary infection in patients with septic shock: an 8-year retrospective study. **Sci Rep**, v. 6, p. 38361, 12 2016. ISSN 2045-2322. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27924831>.

ANEXO

1



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO CEUA – FORP/USP

Certificamos que o Protocolo nº 2014.1.828.58.6 sobre a pesquisa intitulada "Alterações neuroimunoendócrinas em animais sobreviventes à sepse", sob a responsabilidade da Profa. Dra. Maria José Alves da Rocha, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, USP, APROVADO em reunião da CEUA de 17/09/2014 (256 animais), com alterações aprovadas em reunião da CEUA de 29/04/2015 (totalizando 512 animais).

We hereby certify that the protocol nº 2014.1.828.58.6 regarding the research entitled **"Neuroimmunoendocrine alterations in sepsis survival animals"**, under the responsibility of Profa. Dra. Maria José Alves da Rocha, is in accordance with the Ethical principles in animal research adopted by the Animal Research Ethics Committee of the School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Brazil, was approved in 17/09/2014 (256 animals), with changes approved in 29/04/2015 (totalizing 512 animals).

Ribeirão Preto, 29 de abril de 2015.

Profa. Dra. Andiara De Rossi Daldegan Coordenadora da CEUA – FORP/USP

CEUA-FORP/USP



12th World Congress on Neurohypophysial Hormones 26-29 July 2017 Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brazil

Rio de Janeiro, June 6th 2017.

Dear Nilton,

We are happy to inform you that you are a recipient of an American Physiological Society Travel Award (US\$500), to be used to offset travel expenses to the 12th World Congress on Neurohypophysial Hormones meeting this July in Rio de Janeiro, Brazil. All the receipts should be delivered to the congress secretariat at the meeting and will be reimbursed later.

Congratulations and best of luck in your career!

leitar

Dr. Silvia Graciela Ruginsk Leitão On behalf of the Local Organizing Committee 12th WCNH Pituitary DOI 10.1007/s11102-017-0812-z



Impairment of osmotic challenge-induced neurohypophyseal hormones secretion in sepsis survivor rats

Nilton Nascimento Santos-Junior¹ · Luís Henrique Angenendt Costa¹ · Carlos Henrique Rocha Catalão¹ · Alexandre Kanashiro² · Tarek Sharshar³ · Maria José Alves Rocha⁴

© Springer Science+Business Media New York 2017

Abstract

Background/Purpose Recent studies have reported that sepsis survivors show impaired central nervous system functions. The osmoregulation in this post-sepsis condition has not been well investigated. In the present study, we evaluated the secretion of neurohypophyseal hormones, arginine vasopressin (AVP) and oxytocin (OT), and water intake induced by osmotic challenge in survivor rats.

Methods Wistar rats were submitted to sepsis by cecal ligation and puncture (CLP). Five days after CLP surgery, the survivor and naive animals were stimulated with an osmotic challenge consisting of hypertonic saline administration. Thirty minutes later, blood and brain were collected for determination of osmolality, nitrite, interleukin (IL)-1 β , IL-6, AVP and OT levels and *c-fos* expression analysis of hypothalamic supraoptic nuclei (SON), respectively. In another set of sepsis survivor animals, water intake was measured for 240 min after the osmotic stimulus.

Results High levels of nitrite and IL-1 β , but not IL-6, were found in the plasma of sepsis survivors and this long-term systemic inflammation was not altered by the osmotic

Maria José Alves Rocha mjrocha@forp.usp.br

- ¹ Department of Neurosciences and Behavioral Sciences, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil
- ² Department of Physiological Sciences, Federal University of São Carlos, São Carlos, SP, Brazil
- ³ Institut Pasteur Human Histopathology and Animal Models Unit, Paris, France
- ⁴ Department of Morphology, Physiology and Basic Pathology, School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Avenida do Café s/n, CEP 14049-900 Ribeirão Preto, SP, Brazil

Published online: 06 June 2017

challenge. Moreover, the AVP and OT secretion (but not the osmolality) and *c-fos* expression in SON were significantly attenuated in CLP survivor animals. Additionally, there was no alteration in the water intake response induced by osmotic challenge in the sepsis survivor group.

Conclusion The results suggest that the inflammatory components mediated a persistent impairment in the component of the osmoregulatory reflex affecting the secretion of neurohypophyseal hormones in sepsis survivor animals.

Keywords Cecal ligation and puncture · Water intake · c-Fos · Hypertonic saline · Cytokines

Introduction

Sepsis is a systemic inflammatory syndrome characterized by exacerbated activation of the innate immune system followed by severe dysfunctions of vital organs [1]. Impairment of neurohypophyseal hormones secretion has been considered one of the main pathophysiological events in sepsis [2, 3]. These hormones are synthesized by magnocellular neurons in hypothalamic supraoptic (SON) and paraventricular nuclei (PVN) and, in physiological conditions, are secreted in response to stimuli such as hyperosmolality, hypovolemia, stress and angiotensin II, playing a critical role in maintaining fluid and electrolytes homeostasis [4]. Recently, studies in sepsis models have shown alterations in the osmoregulatory neurons associated with arginine vasopressin (AVP) secretion and thirst [5]. Furthermore, during the early phase of sepsis, blood AVP and oxytocin (OT) levels are initially increased in response to hypotension/hypovolemia; but with the progression of the disease (late phase), these hormones are found in basal levels, despite the presence of a lasting hypotension [3, 6-8].

🖉 Springer



DR ANDRE S MECAWI (Orcid ID : 0000-0003-4517-6221) DR MARIA JOSÉ ALVES ROCHA (Orcid ID : 0000-0002-5102-4550)

Article type : Original Article

Alterations in hypothalamic synaptophysin and death markers may be associated with vasopressin impairment in sepsis survivor rats

N. N. Santos-Junior¹, C. H. Catalão¹, L. H. Costa¹, B. B. Rossignoli³, R. C. Dos-Santos⁴, D. Malvar⁴, A. S. Mecawi⁴, M. J. Rocha³.

¹Department of Neurosciences and Behavioral Sciences, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto-SP, Brazil.

³Department of Morphology, Physiology and Basic Pathology, School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto-SP, Brazil.

⁴Department of Physiological Sciences, Institute of Biology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropedica 23890-000, Brazil

Corresponding author mail id : mjrocha@forp.usp.br

Abstract

The impairment in arginine vasopressin (AVP) secretion during sepsis is described in clinical and experimental studies and has been associated with oxidative stress, apoptosis, and diminished activation of hypothalamic neurons. Few studies have, however, assessed these abnormalities in sepsis survivors. Here we performed two sets of experiments on Wistar rats that had been subjected to sepsis by cecal ligation and puncture (CLP) or nonmanipulated (naive) as control. In

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as doi: 10.1111/jne.12604

This article is protected by copyright. All rights reserved.