SIMONE MARQUES BOLONHEIS

**ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS EM MÚSCULOS ESQUELÉTICOS DE RATOS
SUBMETIDOS À ISQUEMIA E REPERFUSÃO INTESTINAL**

Tese apresentada ao Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo,
para obtenção do Título de Doutor em
Ciências.

Área de Concentração: **Farmacologia**

Orientador: **Prof. Dr. Marcelo N. Muscará**

São Paulo
-2009-

RESUMO

Bolonheis SM. Alterações bioquímicas em músculos esqueléticos de ratos submetidos à isquemia e reperfusão intestinal [Tese]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2009.

A disfunção de músculos esqueléticos é comum durante a síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) causada por infecções (sepsis). Está associada ao desenvolvimento de fraqueza muscular prolongada e dificuldade no desmame da ventilação mecânica em pacientes internados em UTI. Esta disfunção está relacionada à produção de citocinas, espécies reativas de oxigênio (ROS) e óxido nítrico (NO) nos músculos esqueléticos. Contudo, não existem dados na literatura documentando a ocorrência de disfunção contrátil durante a SIRS causada por isquemia e reperfusão intestinal. Assim, este trabalho teve como objetivo confirmar o modelo de IRI como causador de SIRS e analisar a presença de algumas citocinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10), marcadores da produção de ROS e a via L-arginina-NO em músculo respiratório (diafragma) e de membros inferiores (tíbio anterior) de ratos submetidos a períodos iniciais de reperfusão (2 e 6 h) após isquemia intestinal. Avaliamos também a função da cadeia transportadora de elétrons e a contratilidade do músculo diafragma em animais submetidos a duas horas de reperfusão. Nossos resultados demonstram que a indução de IRI causa aumento na concentração sérica de citocinas, bem como em parâmetros bioquímicos de lesão renal e hipoperfusão tecidual (lactato). Ainda, a IRI aumenta a expressão de citocinas, promove alterações na via L-arginina-NO e causa danos oxidativos em lipídeos e proteínas em ambos os tipos musculares estudados, porém de forma dependente do tecido e do tempo de reperfusão considerado. Ainda, a atividade do complexo I da cadeia transportadora de elétrons (CTE) está aumentada no diafragma após duas horas de reperfusão, o que pode representar uma fonte de produção de ânion superóxido em nosso modelo experimental. Estas alterações não afetam a função contrátil do diafragma após duas horas de reperfusão, mas podem ser importantes para o desenvolvimento de disfunção muscular em tempos posteriores de reperfusão.

Palavras-chave: Isquemia e reperfusão intestinal. Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica. Músculo esquelético. Óxido Nítrico. Estresse oxidativo. Citocinas.

ABSTRACT

Bolonheis SM. Biochemical alterations in skeletal muscle from rats submitted to intestinal ischemia and reperfusion [Doctor Thesis]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2009.

Skeletal muscle dysfunction is a common finding during systemic inflammatory response syndrome (SIRS) caused by infection (sepsis). This dysfunction complicates weaning from mechanical ventilation and causes an intense and prolonged muscle weakness that persists for months after discharge from intensive care units. It is associated with increased production of cytokines, nitric oxide (NO) and reactive oxygen species (ROS) in skeletal muscles. However, there are no available data related to its occurrence in the setting of SIRS caused by intestinal ischemia and reperfusion (IIR). In this way, this project aimed: to confirm SIRS as a consequence of induction of IIR, as well as the involvement of some cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-10), markers of ROS production and the L-arginine-NO pathway in a respiratory muscle (diaphragm) and in a hind limb muscle (*tibialis anterior*) from rats submitted to IIR at early-time points (2 and 6 hours of reperfusion). We have also evaluated the function of electron transport chain (ETC) and contractile force of diaphragms after 2 hours of reperfusion. Results show that induction of IIR causes increase in cytokine concentrations in serum as well as in markers of renal injury and tissue hypoperfusion. In addition, in skeletal muscles, it increases the expression of inflammatory cytokines, causes oxidative damages in lipids and proteins, as well as alterations on L-arginine-NO pathway. Both types of skeletal muscles are affected but in different patterns and depending on reperfusion period. Moreover, the activity of complex I of mitochondrial ETC was increased in diaphragm muscle which may represent a superoxide anion source in our experimental model. These alterations did not affect contractile function of diaphragm muscle after two hours of reperfusion, but must be important to the development of muscular dysfunction at later reperfusion periods.

Keywords: Intestinal ischemia and reperfusion. Systemic inflammatory response syndrome. Skeletal muscle. Nitric oxide. Oxidative stress. Cytokines.

1 INTRODUÇÃO

1.1 ISQUEMIA E REPERFUSÃO

Isquemia é a redução do suprimento sanguíneo que ocorre quando o fluxo arterial está diminuído ou ausente, proporcionando hipóxia celular. Dependendo da gravidade do estado de hipoperfusão tecidual, as células podem se adaptar a baixa oferta de oxigênio, sofrer lesão de leve à moderada ou morrer (Cotran et al., 1996).

A falta de oxigênio afeta primeiramente as mitocôndrias, reduzindo a fosforilação oxidativa e, conseqüentemente, a formação de ATP. Ocorre aumento da glicólise anaeróbica, a qual apresenta menor rendimento na geração de ATP, aumento de ácido láctico e redução de pH intracelular, bem como redução dos estoques de glicogênio. A depleção de ATP causa diminuição dos processos dependentes de energia, entre os quais a atividade da Na^+/K^+ -ATPase, com conseqüentes modificações nas concentrações intracelulares de sódio e cálcio (aumento) e potássio (redução). O aumento intracelular de Na^+ e água, bem como o acúmulo de catabólitos, como fosfatos, lactato e nucleosídeos promovem a formação de edema celular. Outras conseqüências da privação de oxigênio incluem o descolamento de ribossomos do retículo endoplasmático rugoso, formação de vesículas e dissociação de lipoproteínas de membrana. Tais alterações são reversíveis se a oxigenação for restaurada em tempo hábil (Collard e Gelman, 2001; Carden e Granger, 2000).

Contudo, com o aumento do tempo de isquemia, outras alterações podem ocorrer de forma irreversível e incluem o aumento ainda mais intenso do influxo de cálcio e liberação de seus estoques intracelulares (mitocôndria e retículo endoplasmático) principalmente após a restauração da oxigenação. Desta forma, ocorre ativação de enzimas dependentes de Ca^{2+} , tais como fosfolipases ocasionando danos a membranas, proteases, ATPases, as quais causam depleção ainda maior de ATP e endonucleases. Tais modificações estão associadas morfológicamente à intensa vacuolização das mitocôndrias, extenso dano às membranas e tumefação e rompimento de lisossomos. A lesão das membranas lisossomais gera vazamento e ativação de enzimas, com digestão enzimática de componentes celulares. Ocorre, ainda, vazamento de componentes intracelulares para o líquido extracelular, tais como a lactato desidrogenase, a qual é um marcador de lesão tecidual (Collard e Gelman, 2001; Carden e Granger, 2000).

A duração da hipóxia para que ocorra dano irreversível varia de acordo com o tecido. O cérebro precisa de três a cinco minutos de interrupção do fluxo arterial, o fígado necessita de uma a duas horas, enquanto o rim somente sofre lesões irreversíveis com tempos de isquemia superiores a seis horas. Ainda, períodos de isquemia maiores que 30 minutos são suficientes para causar lesões irreversíveis no intestino delgado (Schoenberg e Beger, 1993).

Por sua vez, a reperfusão (restauração do fluxo sanguíneo) é necessária a fim de prevenir lesões celulares irreversíveis. Contudo, a reperfusão pode aumentar ainda mais a lesão tecidual inicial, como demonstrado por Parks e Granger em 1986. Estes autores demonstraram que as lesões na mucosa produzidas por três horas de isquemia intestinal, seguida de uma hora de reperfusão são mais graves que as alterações observadas após quatro horas de isquemia somente.

Durante a isquemia, a quebra do ATP é acompanhada de acúmulo de hipoxantina e conversão da enzima xantina-desidrogenase, a qual utiliza NAD^+ comoceptor final de elétrons, à xantina oxidase (XO), que por sua vez, tem O_2 comoceptor de elétrons. Assim, quando o oxigênio é reintroduzido nas células, a XO degrada hipoxantina e reduz O_2 molecular, gerando grandes quantidades de espécies reativas de oxigênio (ROS), entre as quais, ânion superóxido e peróxido de hidrogênio (McCord e Roy, 1982; Granger, 1988). A fase de reperfusão dos tecidos isquêmicos é também associada com ativação e migração de leucócitos, sendo que tais fenômenos são essenciais para o desenvolvimento das lesões locais (Romson et al., 1983; Grisham et al., 1986). Os polimorfonucleares neutrófilos (PMN) ativados contribuem para a formação de lesões por meio de vários mecanismos, os quais incluem liberação de ROS como resultado do *burst* oxidativo mediado pelo sistema NADPH oxidase, liberação de enzimas proteolíticas e estimulação da liberação de citocinas pelas células locais, o que aumenta ainda mais o recrutamento de células. (Carden e Granger, 2000).

1.2 ISQUEMIA E REPERFUSÃO INTESTINAL (IRI)

A isquemia e reperfusão intestinal (IRI) ocorre quando há ausência ou redução do fluxo sanguíneo para os intestinos, por obstrução ou vasoconstrição de artérias e veias viscerais. Dentre os principais vasos sanguíneos afetados destacam-se a artéria celíaca, a artéria mesentérica superior (AMS) e a artéria mesentérica inferior e/ou veias correspondentes (Kolkman e Geelkerken, 2005).

A etiologia da IRI pode ser classificada em: *a)* Oclusiva: causada pela obstrução mecânica por trombos ou êmbolos, e *b)* Não-oclusiva: originada por vasoconstrição esplâncnica em resposta a hipovolemia, hipotensão ou redução de débito cardíaco (Oldenburg et al., 2004). Nestes casos, a vasoconstrição ocorre para aumentar o fluxo sanguíneo para órgãos vitais para a sobrevivência do organismo, tais como, cérebro, coração, pulmões e rins (Ceppa et al., 2003). Entre os mediadores envolvidos na vasoconstrição incluem-se a adrenalina, sistema renina-angiotensina e endotelina-1 (Yasuhara, 2005; Kolkman e Geelkerken, 2005).

A IRI não oclusiva ocorre precocemente em condições de estresse circulatório. Assim, tem papel importante na fisiopatologia do choque hipovolêmico, presente em traumas, hemorragias, grandes queimados, pancreatite, grandes cirurgias abdominais (transplantes, ressecção de aneurisma de aorta). Pode estar presente também no choque cardiogênico, originado por infarto agudo do miocárdio e no choque séptico (Dias et al., 2008; Guyton e Hall, 2005). Além disso, a vasoconstrição mesentérica pode ser consequência da utilização de agentes vasoconstritores como a noradrenalina em doses elevadas. Outras condições associadas à IRI não-oclusiva são estrangulação de hérnias, hérnia brida, aderência intestinal e enterocolite necrotizante (Mallick et al., 2004).

Embora não seja uma condição muito freqüente, a IRI é associada a altas taxas de mortalidade, que podem variar de 60 a 93% dos casos (Valera 2006). A morbidade associada também é importante, uma vez que o paciente pode apresentar sinais da síndrome do intestino curto, caracterizada por diarreia, má absorção de água, eletrólitos e consequente perda de peso (Schoenberg e Beger, 1993).

Os danos decorrentes da IRI são mediados pela formação de ROS, liberação dos estoques locais de ferro, lesões de microvasculatura, liberação de citocinas e outros mediadores inflamatórios, infiltração e ativação de neutrófilos, agregação plaquetária e ativação do sistema complemento (Carden e Granger, 2000).

1.2.1 Mediadores formados durante a IRI

1.2.1.1 Espécies reativas derivadas do oxigênio (ROS)

As ROS ocorrem naturalmente no organismo, como subproduto do metabolismo. Desempenham vários papéis, participando de processos de sinalização e destruindo

patógenos, porém quando produzidas em excesso, podem causar lesão e morte celular (Augusto, 2006). As principais ROS são o ânion superóxido, seu produto de redução, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila ($\text{OH}\cdot$), o qual pode ser formado a partir do H_2O_2 tanto espontaneamente (reação de Haber-Weiss) como por catálise por metais de transição (Halliwell e Gutteridge, 2007). Estas espécies podem oxidar proteínas, ácidos nucleicos e lipídeos, danificando membranas e alterando funções celulares (Halliwell e Gutteridge, 2007).

Dentre as alterações celulares induzidas pelas ROS destaca-se aqui a peroxidação lipídica (PL), a qual é a deterioração oxidativa de lipídeos poliinsaturados. Entre os lipídeos que são alvos para esta modificação incluem-se as lipoproteínas constituintes de membranas celulares. A PL reduz a fluidez das membranas, aumenta sua permeabilidade e danifica proteínas, levando a inativação de enzimas e canais iônicos. Estes últimos efeitos podem ser mediados pelos produtos gerados pela fragmentação dos peróxidos de lipídeos, entre os quais se destacam o malondialdeído (MDA) e 4-hidroxi-2-trans-nonenal (HNE). A principal ROS envolvida no processo de iniciação da PL é o radical $\text{OH}\cdot$, o qual pode ser formado a partir da decomposição de H_2O_2 , na presença de ferro (Fe^{2+}) em processo conhecido como reação de Fenton (Augusto, 2006; Halliwell e Gutteridge, 2007). As etapas envolvidas na PL estão ilustradas na Figura 1.

Figura 1- O processo de peroxidação lipídica. Na fase de iniciação, um radical reativo como o radical $\text{OH}\cdot$ remove hidrogênio do ácido graxo insaturado do lipídio (LH) produzindo um radical de lipídio ($\text{L}\cdot$). Este reage com O_2 , formando o radical peroxila ($\text{LOO}\cdot$), o qual atrai hidrogênio de outro lipídio. Na fase de propagação, forma-se o hidroperóxido de lipídio (LOOH) e outro $\text{L}\cdot$ que reage com o O_2 , e assim por diante. Depois, na terminação, os dois radicais se combinam e formam um não radical. O LOOH pode sofrer outras reações, a maioria degradativa, que produzem aldeídos e alcanos de diferentes pesos moleculares. Esses produtos são utilizados para monitorar os processos de peroxidação lipídica em condições fisiológicas e patológicas.

FONTE: Augusto, 2006.

A produção de ROS é contrabalançada pelos sistemas antioxidantes celulares, os quais incluem as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno, ácido ascórbico (vitamina C), glutathione reduzida, ubiquinona, ácido úrico, entre outros.

A SOD é uma enzima amplamente distribuída em organismos aeróbios e tem como função catalisar a dismutação do ânion superóxido em H_2O_2 e O_2 . Até o momento, foram caracterizadas três isoformas da enzima. A isoforma contendo zinco e cobre (SOD-1 ou Cu,Zn-SOD) possui 16 kDa e está localizada no citossol das células, onde sua concentração é estimada ser da ordem de 10 μ M. Por outro lado, a SOD contendo manganês (Mn-SOD ou SOD-2) é uma proteína de 24 kDa localizada na mitocôndria, enquanto que a SOD extracelular contendo zinco e cobre no grupo prostético (EC-SOD ou SOD-3), localiza-se no espaço extracelular (McCord e Edeas, 2005).

Em relação à participação de ROS nas lesões IRI, esta foi confirmada pela observação de que a administração de SOD protege a mucosa intestinal durante IRI (Granger et al., 1981; Zimmerman et al., 1988). Tal efeito também foi relatado com a utilização de um mimético estável da SOD (Cuzzocrea et al., 2001). As alterações celulares presentes durante a IRI estão associadas à redução da atividade da SOD e dos estoques celulares de glutathione reduzida (GSH) e ocorrem principalmente durante a reperfusão (Grisham et al., 1986).

1.2.1.2 Citocinas

Citocinas pró- e anti-inflamatórias são produzidas principalmente durante a fase de reperfusão, destacando-se o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α ; Caty et al., 1990), interleucina (IL)-1 β , IL-6 (Sun et al., 1999), IL-8 (Tsuruma et al., 1996) e IL-10 (Souza et al., 2001). Durante a IRI, o estímulo para a ativação da produção de citocinas são as ROS (Granger et al., 1981; Zimmerman et al., 1988) e o próprio estado de hipóxia celular (Shenkar et al., 1993; Karakurum et al., 1994; Koga et al., 1992; Shreenivas et al., 1992; Yan et al., 1995). Estas citocinas, formadas durante a IRI em grandes quantidades, são liberadas diretamente no sangue (Caty et al., 1990) e linfa (Cavriani et al., 2005, 2007) ou podem ser absorvidas após liberação no peritônio (Narita et al., 2004). Todas estas citocinas podem atuar de forma endócrina, isto é, em locais distantes do sítio de produção inicial causando lesões em órgãos distantes (Dinarello e Moldawer, 2000) e sua produção está correlacionada com o grau de lesão das células intestinais (Grotz et al., 1999).

A ativação dos fatores de transcrição, como o fator nuclear kappa B (NF- κ B), faz com que estes se liguem a seqüências promotoras no DNA e aumentem a transcrição de genes de citocinas. O fator de transcrição NF- κ B é um elemento fundamental na regulação de genes envolvidos na síntese de citocinas e moléculas de adesão. A ativação do NF- κ B ocorre quando a proteína inibitória I- κ B se dissocia do complexo formado pelos dois elementos anteriores. Esta dissociação pode ser causada pela fosforilação do I- κ B em resíduos de serina por kinases do complexo IKK, as quais por sua vez, são também reguladas por fosforilação. As ROS, especialmente o H₂O₂, alterariam esta cascata de fosforilação por modificação oxidativa de grupos tiol de enzimas envolvidas nestas vias (Flohe et al., 1997; Halliwell e Gutteridge, 2007).

Dentre as citocinas produzidas durante a IRI, o TNF- α possui papel central no desenvolvimento das lesões intestinais, da inflamação sistêmica e na letalidade após a IRI. Provavelmente, a produção inicial de TNF- α por células residentes intestinais (mastócitos) ou a liberação de estoques pré-formados em mastócitos, células de Paneth e células endócrinas das criptas intestinais (Schmauder-Chock et al., 1994) seja suficiente para induzir moléculas de adesão (selectinas e ICAM-1) e a migração de neutrófilos, os quais aumentam ainda mais a liberação de TNF- α e outras citocinas (Souza et al., 2001). Após sua liberação, o TNF- α é capaz de aumentar a síntese de óxido nítrico, assim como o metabolismo do ácido araquidônico, por ativação das enzimas cicloxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX), aumentando a produção de tromboxano e prostaglandinas (PG), em especial a PGE₂. Apesar de possuir meia vida curta, o TNF- α é capaz de induzir a síntese de outras citocinas, com destaque para IL-6, IL-8, interferon (IFN- γ) e IL-10, além de alterar a produção de corticosteróides endógenos (Dinarello e Moldawer, 2000).

A secreção de IL-1 β é estimulada pelo TNF- α , por componentes do sistema complemento (C5a) e pela própria isquemia (Koga et al., 1992), sendo que as principais células produtoras de IL-1 β são monócitos e macrófagos. A IL-1 estimula a medula óssea, aumentando a produção e liberação de neutrófilos. Além disso, aumenta a síntese de outras citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α , e a expressão de quimiocinas e moléculas de adesão após IRI (Wyble et al., 1996; Dinarello, 2005). Ainda, ativa a transcrição de várias proteínas inflamatórias via ativação de NF- κ B, incluindo isoforma tipo-2 da COX (COX-2) e a isoforma induzível da óxido nítrico sintase (iNOS; Dinarello e Moldawer, 2000). A IL-1 β , juntamente com o NO, estão relacionados à hiporreatividade de vias aéreas após a IRI (Coelho et al., 2007).

Apesar da IL-6 surgir tardiamente em relação às outras citocinas (TNF- α e IL-1 β), o seu tempo de meia vida é maior, permanecendo na circulação e tecidos durante tempos mais prolongados (Shalaby et al., 1989). A IL-6 inibe a apoptose de neutrófilos, aumentando seu número e promove a resposta de fase aguda hepática, induzindo a formação das proteínas de fase aguda da inflamação (Dinarello e Moldawer, 2000). Possui papel regulatório da resposta inflamatória, atuando como mediador pró- e anti-inflamatório (Xing et al., 1998). Assim, induz a liberação do receptor solúvel de TNF- α e do antagonista de receptor de IL-1 β , reduzindo a ação de tais citocinas (Tilg et al., 1994). É bem documentado que a IL-6 medeia resposta aguda durante hemorragia, trauma, sepse e que altas concentrações de IL-6 circulante correlacionam-se positivamente com a taxa de mortalidade (Roumen et al., 1993; Schluter et al., 1991). Além disso, após a oclusão de AMS em animais com deficiência de IL-6 (IL-6 *knock-out*), houve atenuação da expressão de moléculas de adesão e redução da lesão celular mediada por neutrófilos, reduzindo a taxa de mortalidade (Cuzzocrea et al., 1999). Estes fatos indicam a importância da IL-6 no desenvolvimento da MODS que acompanha a IRI. A liberação de IL-6 em modelo de IRI é modulada por TNF- α e IL-1 β (Yao et al., 1997).

A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória, que inibe a produção e liberação de citocinas pró-inflamatórias por macrófagos e células T *helper* (Fiorentino et al., 1991a,b) e aumenta os níveis do antagonista de receptor de IL-1 β , reduzindo, desta forma, as ações desta citocina (Cassatella et al., 1994; Mosser e Zhang, 2008). Durante a IRI, a síntese de IL-10 pode ser ativada pela IL-1 e, em menor grau, pelo TNF- α (Souza et al., 2003). Os efeitos da IL-10 na IRI são caracterizados pela redução da produção e liberação de TNF- α , na tentativa de reduzir as ações deletérias de tal citocina. Além disso, as lesões decorrentes da IRI no intestino e a infiltração de neutrófilos no pulmão são diminuídas (Lane et al., 1997; Souza et al., 2003). Contudo, apesar de reduzir a agressão da lesão local, em órgãos à distância e, de maneira geral, diminuir a disfunção orgânica frente a situações de estresse como traumas e queimaduras, a IL-10 é capaz de causar intensa imunossupressão. Desta forma, níveis aumentados de IL-10 são correlacionados com maior mortalidade devido a infecções secundárias e sepse (Sherry et al., 1996; Lyons et al., 1997).

1.2.1.3 Outros mediadores

Durante a reperfusão ocorre também aumento na produção de eicosanóides, dentre os quais se destacam a PGE₂, prostaciclina, tromboxano e leucotrienos, especialmente LTB₄ (Mangino et al., 1989; Karasawa et al., 1991). Tais mediadores participam dos processos fisiopatológicos estimulando a migração e ativação de PMN, ativando plaquetas e contribuindo para o aumento de permeabilidade vascular local (Arumugam et al., 2003). Ainda, ocorre participação do fator ativador de plaquetas (PAF; Filep et al., 1991) e do óxido nítrico (Davenpeck et al., 1994; Cuzzocrea et al., 2002; Naito et al., 2004).

A inflamação intestinal decorrente da IRI promove ativação de neutrófilos circulantes (Grisham et al., 1986) e liberação das citocinas produzidas no intestino para a corrente sanguínea e sistema linfático (Cavriani et al., 2005, 2007). Tais eventos são responsáveis pelo desenvolvimento da síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) e disfunção de múltiplos órgãos (MODS), as quais serão descritas a seguir.

1.3 SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA (SIRS) E DISFUNÇÃO DE MÚLTIPLOS ÓRGÃOS (MODS)

Como descrito anteriormente, a indução de IRI causa lesões locais e à distância, especialmente após a reperfusão. Entre os órgãos afetados incluem-se pulmão (Fullerton et al., 1993), fígado (Poggetti et al., 1992), rins (Rothenbach et al., 1997) e coração (Horton e White, 1993). Estudos em nosso laboratório mostraram que após duas horas de reperfusão ocorrem alterações na expressão e atividade de óxido nítrico sintase (NOS), bem como redução da expressão protéica de SOD-1 em cérebro de ratos (Varriano, 2008).

A liberação de citocinas provenientes do intestino na corrente sanguínea, principalmente TNF- α , IL-1 β , IL-6, bem como a ativação de neutrófilos, aumento da expressão de moléculas de adesão em endotélio de órgãos distantes e conseqüente migração de neutrófilos para estes sítios iniciam o desenvolvimento da SIRS. Em decorrência destes processos, citocinas, ROS, NO e outros mediadores inflamatórios são produzidos em diferentes órgãos, especialmente pulmão, fígado, rins e coração, o que culmina em disfunção de múltiplos órgãos e sistemas.

A SIRS pode se originar de uma grande variedade de insultos, tais como: infecções (neste caso é denominada sepse), pancreatite, traumas múltiplos, choque hemorrágico,

queimaduras extensas, lesão de órgãos mediada por complexos imunes, bem como isquemia e reperfusão. Em humanos, considera-se um quadro de SIRS quando há a presença de duas ou mais das seguintes manifestações clínicas: (1) temperatura corporal maior que 38 °C ou menor que 36 °C; (2) frequência cardíaca maior que 90 batimentos por minuto; (3) taquipnéia, manifestada por frequência respiratória maior do que 20 inspirações por minutos ou hiperventilação, indicada por PaCO₂ menor que 32 mmHg; (4) contagem de leucócitos superior a 12000 ou inferior a 4000 células/mm³ ou presença de mais de 10% de formas neutrófilas imaturas (bastonetes). Tais anormalidades devem ocorrer na ausência de outras causas conhecidas, tais como, quimioterapia, neutropenia induzida e leucopenia idiopática (American College of Chest Physicians, 1992).

Na tentativa de conter a SIRS, ocorre concomitantemente uma resposta anti-inflamatória compensatória denominada de CARS (*compensatory anti-inflammatory response syndrome*; Cavaillon, 2002). Esta resposta promove intensa imunossupressão e maior possibilidade de desenvolvimento de infecções secundárias e sepse. Dentre os mediadores liberados durante a CARS destacam-se a IL-10 (Lyons et al., 1997), o receptor solúvel de TNF- α (sTNFR), o antagonista de receptores para IL-1 (IL-1Ra), e o fator de crescimento TGF- β . As concentrações plasmáticas aumentadas destes mediadores estão correlacionadas positivamente a um prognóstico ruim (Adib-Conquy e Cavaillon, 2009)

O desenvolvimento de disfunção de múltiplos órgãos é uma complicação freqüente da SIRS e é a maior causa de mortalidade em pacientes em UTIs. Estas disfunções incluem lesão pulmonar aguda, estados de choque, insuficiência renal e hepática, distúrbios neurológicos e da coagulação (Marshall, 2001).

A lesão pulmonar aguda é caracterizada por aumento de permeabilidade e infiltração de neutrófilos ativados (Fullerton et al., 1993) e origina a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), a qual evolui com elevada morbidade e mortalidade.

A falência respiratória decorrente de SIRS e MODS é consequência das alterações pulmonares, associadas à disfunção de músculos respiratórios, especialmente do diafragma, como será descrito a seguir.

1.4 DISFUNÇÃO DE MÚSCULOS ESQUELÉTICOS NA DECORRÊNCIA DE SIRS E MODS

1.4.1 Músculos esqueléticos: aspectos básicos

O músculo esquelético é composto por células contráteis multinucleadas, extremamente alongadas, denominadas fibras musculares, unidas por tecido de sustentação formado por colágeno. As fibras musculares podem ser classificadas de acordo com o tipo de cadeia pesada da miosina (*MHC*; do inglês: *myosin heavy chain*) presente, o que determina, por sua vez, a velocidade de conversão do ATP em ADP e, conseqüentemente a velocidade de contração. As fibras que contém *MHC* do tipo I são fibras de contração lenta ao passo que as fibras *MHC* II (IIa, IIb e IIc) são de contração rápida. As fibras também são classificadas de acordo com a forma de obtenção de energia e resistência à fadiga em: fibras oxidativas resistentes a fadiga (Ia, IIa), glicolíticas não-resistentes (IIb) e intermediárias com resistências variáveis a fadiga (IIc; Lent, 2002; Neder e Nery, 2002)].

Os músculos esqueléticos são formados por diferentes proporções de fibras, de acordo com a função desempenhada pelos mesmos. Assim, por exemplo, o músculo diafragma é formado por mistura de fibras do tipo Ia (37%), IIa (31%) IIc (24%) e IIb (8%), sendo considerado músculo de contração rápida resistente à fadiga (Metzger et al., 1985; Sieck et al., 1995). Por outro lado, o músculo tibial anterior é composto por fibras tipo IIb (68%), IIc (24%) e IIa (7%), o que o caracteriza como músculo de contração rápida, altamente fatigável (Hämäläinen e Pette, 1993).

A contração muscular tem início com os processos de transmissão neuromuscular. Quando o potencial de ação propagado invade o terminal nervoso motor, determinando a abertura de canais para Ca^{2+} dependentes de voltagem, múltiplos quanta de acetilcolina (ACh) são liberado (Katz, 1969). A ACh liberada poderá, então, ser hidrolisada pela acetilcolinesterase ou interagir com receptores pré ou pós-sinápticos (Galindo, 1972).

A interação da ACh com receptores nicotínicos pós-sinápticos promove o surgimento de potencial despolarizante, denominado potencial de placa terminal. A seguir, as regiões próximas à placa motora são excitadas e o potencial de ação (PA) muscular é propagado por toda a extensão do sarcolema. Assim que o PA atinge os túbulos T, canais para Ca^{2+} dependentes de voltagem do tipo L se abrem, permitindo a entrada de tais íons. Ancorados à membrana do retículo sarcoplasmático encontram-se outros canais de Ca^{2+} denominados receptores para rianodina. Sensíveis à entrada de Ca^{2+} , estes receptores alteram sua

conformação e liberam ainda mais Ca^{2+} . A entrada destes íons inicia os mecanismos moleculares da contração muscular, os quais envolvem a ligação do Ca^{2+} às proteínas contráteis e formação das pontes cruzadas entre os filamentos de actina e as cadeias pesadas (cabeças) da miosina. O relaxamento das fibras musculares ocorre pela redução da concentração citosólica de Ca^{2+} , promovida pelo bombeamento dos íons por meio das Ca^{2+} -ATPases do retículo sarcoplasmático, conhecidas como SERCA-1 (fibras rápidas) e SERCA-2a (fibras lentas; Guyton e Hall, 2006; Lent, 2002).

1.4.2 Disfunção muscular durante a SIRS e MODS

Anormalidades neuromusculares e neurofisiológicas, conhecidas como polineuropatia e miopatia do doente grave, freqüentemente afetam pacientes internados em UTIs promovendo significativa morbidade ao paciente com retardo no desmame da ventilação mecânica e fraqueza muscular intensa (Garnacho-Montero et al., 2005; Latronico et al., 2005; De Jonghe et al., 2007). A principal característica é fraqueza muscular flácida, difusa, envolvendo todos os músculos de membros (superiores e inferiores), flexores do pescoço, faciais e o diafragma. Outra particularidade é aumento da suscetibilidade à fadiga muscular. Estima-se que 30 a 85 % dos pacientes graves desenvolvam tais alterações (Bolton, 2005; Bird, 2007). Os fatores de risco e apresentações clínicas das desordens neuromusculares dos pacientes graves podem ser muito semelhantes e, em grande parte dos pacientes, é encontrada uma combinação de neuro e miopatia, tornando difícil a distinção clínica entre estas duas entidades. Desta forma, é sugerido que tais termos possam ser combinados (polineuromiopia) e estudados conjuntamente (Bird, 2007).

O acompanhamento de pacientes que tiveram SDRA revelou que os mesmos apresentavam limitações funcionais, principalmente em testes de caminhada, as quais persistiram um ano após a alta da UTI. Estas limitações eram resultado de perda de massa e fraqueza muscular, as quais estavam presentes mesmo após recuperação da capacidade pulmonar (Herridge et al., 2003). Contudo, Fletcher et al. (2003) relataram que a duração da disfunção muscular pode chegar a cinco anos, depois da alta hospitalar.

O desenvolvimento de disfunção neuromuscular durante SIRS e MODS é associado ao uso de bloqueadores neuromusculares, corticoesteróides, antibióticos aminoglicosídeos, imobilização no leito e sedação prolongada (Lacomis et al., 1998). Contudo, a ausência de tais fatores em alguns pacientes mostra que a própria inflamação sistêmica pode ser responsável

pelo surgimento da disfunção. A duração e gravidade da MODS correlacionam-se positivamente com o desenvolvimento da polineuromiopia, principalmente quando ocorre falência neurológica, respiratória e, em menor grau, cardiovascular (Bednarik et al., 2005). Cabe ressaltar que a maioria dos estudos de disfunção em músculos esqueléticos durante a SIRS foi realizada em pacientes sépticos e em modelos animais de sepse e endotoxemia.

Os mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento da disfunção muscular não estão completamente elucidados. Contudo, acredita-se que os seguintes estejam relacionados ao desenvolvimento da miopia: (a) alteração na transmissão dos potenciais de ação ao longo do sarcolema e túbulos T; (b) alteração na função do retículo sarcoplasmático; (c) alteração nas proteínas contráteis em relação à sensibilidade ao cálcio; (d) alterações na energética celular, com redução do ATP disponível para a contração; (e) quebra da integridade das proteínas de citoesqueleto, proteínas contráteis e do sarcolema (Lanone et al., 2005; Supinski e Callahan, 2007). Tais alterações estão relacionadas à produção de citocinas, especialmente o TNF- α , NO, ROS, bem como alterações da bioenergética muscular e imobilização prolongada (Bird, 2007).

Por outro lado, acredita-se que a neuropatia seja decorrente da ação de citocinas e espécies reativas produzidas durante a SIRS, as quais afetariam a microcirculação produzindo hipóxia endoneural e degeneração axonal.

A seguir serão descritos os principais mediadores relacionados à patogênese da disfunção neuromuscular durante a SIRS.

1.4.2.1 Mediadores responsáveis pela disfunção muscular durante a SIRS

A disfunção muscular durante a sepse é causada principalmente por citocinas e produção aumentada de ROS e NO. A seguir, estes mediadores e suas ações sobre a musculatura esquelética serão detalhados.

1.4.2.1.1 Óxido nítrico e estresse oxidativo/nitrosativo

O óxido nítrico (NO) é um composto gasoso, altamente difusível e de meia-vida biológica curta (5 a 10 segundos; Furchgott, 1988; Ignarro et al., 1988). Ele é sintetizado pela

enzima NO sintase (NOS), que catalisa a conversão do aminoácido L-arginina em NO e L-citrulina (Palmer et al., 1988), reação esta ilustrada pelo Esquema 1.

Esquema 1- Oxidação da L-arginina a L-citrulina catalisada pelas NOS. Primeiramente, a L-arginina (L-arg) é oxidada ao intermediário L-N^G-hidroxi-arginina (NOH-L-arg) que é convertido em L-citrulina (L-cit) e NO. Ambos os passos requerem oxigênio molecular (O_2), além de fosfato de nicotinamida-adenina dinucleotídeo (NADPH), tetraidrobiopterina (BH_4), flavina-adenina dinucleotídeo (FAD), flavina mononucleotídeo (FMN) e ferroprotoporfirina IX (heme) como cofatores.

FONTE: adaptado de Marletta, 2004.

Os efeitos induzidos pelo NO podem ser mediados pela ativação da guanilato ciclase (GC) solúvel, com conseqüente aumento das concentrações intracelulares de guanosina monofosfato cíclico (GMPc; Ignarro et al., 1988). Outros efeitos do NO podem ser decorrentes da interação direta ou indireta do mediador com outras metaloproteínas (aconitase, hemoglobina, citocromo c oxidase) ou com moléculas que possuem resíduos tióis (Wallace e Leiper, 2002). O NO também ativa diretamente canais de potássio dependentes de Ca^{2+} de alta condutância (Bolotina et al., 1994) e canais de potássio dependentes de Ca^{2+} de baixa condutância (Kitamura et al., 1993). O NO reage rapidamente com o oxigênio molecular produzindo N_2O_3 , o qual após dismutação gera íons nitrito e nitrato em soluções aquosas (Feelisch, 1993). A presença de altas concentrações de NO favorece sua reação com o ânion superóxido, com possível formação de íon peroxinitrito (Beckman e Koppenol, 1996). O peroxinitrito, após protonação para gerar o ácido peroxinitroso, é um poderoso agente oxidante que pode modificar a estrutura química de lipídeos e proteínas (Beckman e Koppenol, 1996). A decomposição do peroxinitrito gera o radical $\text{OH}\cdot$, capaz de iniciar a peroxidação de lipídeos, bem como o radical $\text{NO}_2\cdot$, o qual pode promover nitração de resíduos de aminoácidos aromáticos, como a tirosina e o triptofano. Além disso, pode ocorrer a

dimerização destes resíduos e, por exemplo, a formação de ditirosina (Eiserich et al., 1996; Malencik e Anderson, 2003).

Três isoformas de NOS foram purificadas e clonadas e bem caracterizadas (Bredt et al., 1991; Hevel et al., 1991; Pollock et al., 1991). Todas requerem NADPH, tetrahidrobiopterina (BH₄), flavina adenina nucleotídeo (FAD) e flavina mononucleotídeo (FMN) como cofatores (Förstermann et al., 1993).

A NOS tipo 1 (neuronal; nNOS) está presente em vários tipos celulares e fornece NO para processos de neurotransmissão e neuromodulação centrais e periféricos. A NOS tipo 3 (endotelial; eNOS), descrita originalmente em células endoteliais, está envolvida na regulação do tônus vascular basal, fluxo sanguíneo, inibição da adesão e agregação plaquetárias. A atividade enzimática destas isoformas é dependente de Ca²⁺-calmodulina e as mesmas liberam NO em intervalos curtos de tempo (Moncada et al., 1991; Moncada e Higgs, 1993). Por outro lado, a isoforma tipo 2, ou induzida (iNOS), está geralmente presente em vários tipos celulares como macrófagos, hepatócitos, células epiteliais, células endoteliais, pulmão e músculo esquelético sob condições patológicas (Lyons et al., 1992; Geller et al., 1993; Robbins et al., 1994; Gath et al., 1996). Ela é independente de Ca²⁺ e sua transcrição gênica é induzida por lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) e citocinas tais como, TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IFN- γ em diversos tipos celulares (Förstermann et al., 1993; Szabó e Thiemermann, 1995). A iNOS sintetiza grandes quantidades de NO por longos períodos de tempo e teria não apenas a função de molécula citotóxica contra microorganismos e células tumorais, mas também participaria nos processos patológicos de vasodilatação e dano tissular (Szabó, 1995; Vincent et al., 2000).

A existência de uma NOS nas mitocôndrias foi relatada no final da década passada (Bates et al., 1996; Ghafourifar e Ritcher, 1997; Tatoyan e Giulivi, 1998). Contudo, ainda existem controvérsias a respeito de sua caracterização e papel fisiológico (Lacza et al., 2009). Acredita-se que a mesma seja uma variante da nNOS resultante de modificações pós-transcricionais alternativas (nNOSa; Elfering et al., 2002) e que o NO produzido pela mesma regule a respiração mitocondrial e outras funções da organela (Ghafourifar e Cadenas, 2005; Poderoso, 2009).

A expressão gênica das isoformas de NOS pode ser regulada por uma série de condições. Por exemplo, e como mencionado acima, a administração de LPS, citocinas ou indução de sepse promove aumento de transcrição de iNOS e redução do conteúdo de RNAm

e proteína de nNOS e NOS em vários tipos celulares, incluindo músculo esquelético (Gath et al., 1997), aorta, pulmão (Scott et al., 2002) e cérebro (Lee et al., 1995).

A atividade enzimática das várias isoformas de NOS pode ser regulada por modificações pós-traducionais, tais como fosforilação de resíduos específicos, o que pode inibir a atividade, como no caso da fosforilação de Ser847 na nNOS (Komeima et al., 2000) ou fosforilação em Ser635, Ser1179 e Thr497, que induzem aumento da atividade da eNOS (Boo et al., 2003; Lin et al., 2003). Outros fatores envolvidos na regulação da atividade das NOS são a disponibilidade de cofatores e substratos e a presença de inibidores endógenos.

Neste contexto, a enzima arginase metaboliza L-arginina a ornitina e uréia, competindo, assim, pelo mesmo substrato com as NOS (Mori e Gotoh, 2004). Duas isoformas de arginase foram descritas, sendo codificadas por diferentes genes e apresentando padrões distintos de distribuição tecidual e subcelular. A arginase tipo I, ou hepática, é altamente expressa no fígado como enzima citosólica, sendo importante componente do ciclo da uréia. A arginase tipo II é expressa em tecidos extra-hepáticos e está envolvida na síntese de ornitina, prolina e glutamato (Mori e Gotoh, 2004). Em músculos esqueléticos, a arginase é co-expressa com nNOS e guanilato ciclase (Buchwalow et al., 2005).

Dentre os inibidores endógenos incluem-se as argininas metiladas, tais como N^G-monometil-L-arginina (L-NMMA) e dimetilarginina assimétrica (ADMA), as quais são sintetizadas e liberadas pelas células endoteliais e inibem competitivamente as NOS (MacAllister et al., 1994). Outro inibidor, presente constitutivamente em vários tipos celulares é a proteína inibidora da nNOS (PIN), de peso molecular 10 kDa, a qual se associa com resíduos específicos da nNOS, desestabilizando o dímero, inibindo, assim a atividade dessa isoforma (Jaffrey e Snyder, 1996).

A geração de NO e outros oxidantes derivados deste, tais como dióxido de nitrogênio (NO₂) e ânion peroxinitrito (ONOO⁻), pode ser investigada pelo estudo de um importante biomarcador de sua presença, a nitração de resíduos tirosina em proteínas. Entretanto, ressalta-se que a nitração de tirosina pode ocorrer também na presença de hemoproteínas que possuem atividade de peroxidase, tais como mieloperoxidase (MPO), enzima abundante em grânulos azurófilos de neutrófilos. Na presença de H₂O₂, estas enzimas oxidam íon nitrito a dióxido de nitrogênio, e resíduos de tirosina ao radical tirosila. A combinação desses radicais produz a 3-nitrotirosina (3-NT; Beckamn e Koppenol, 1996; Augusto, 2006). A formação de 3-NT é ilustrada pela Figura 2.

Figura 2- Mecanismos para a produção de proteínas nitradas (P-TyrNO₂). Os mecanismos mais eficientes parecem ser os que produzem radicais tirosila de proteínas (P-Tyr•) em paralelo com NO₂•, como peroxinitrito/dióxido de carbono e a atividade peroxidase de hemoproteínas.

FONTE: Augusto, 2006.

Em relação à presença das NOS em músculos esqueléticos, Kobzik et al. (1994) demonstraram que a nNOS estava presente em fibras musculares esqueléticas do tipo II (contração rápida) de ratos. O mesmo grupo constatou a presença da eNOS em músculos esqueléticos de ratos, sendo que a expressão de tal isoforma não estava restrita a um tipo específico de fibra muscular, porém encontrava-se associada a fração mitocondrial (Kobzik et al., 1995). Em 1996, Silvagno e colaboradores verificaram que músculos esqueléticos expressam nNOS na forma de um variante resultante de modificação pós-transcricional alternativa, a μ NOS, a qual possui peso molecular (164 kDa) ligeiramente maior que a nNOS (160 kDa), decorrente da inserção de 102 pares de bases (34 aminoácidos) entre os exons 16 e 17. A expressão constitutiva de nNOS e eNOS em músculos esqueléticos de membros inferiores de ratos foi confirmada por Hussain et al. (1997) através de técnicas de *Western blot* e medida da atividade enzimática.

A presença constitutiva da iNOS em músculos esqueléticos de ratos foi relatada por Punkt et al. (2002), confirmando os achados anteriores em cobaias (Gath et al., 1996), camundongos (Gath et al., 1999) e humanos (Park et al., 1996). Contudo, a expressão desta isoforma em ratos é restrita a um tipo de fibra rápida oxidativo-glicolítica, a qual é considerada híbrida e co-expressa *MHC* IIa e IIb. Ressalta-se que tais fibras constituem uma população muito pequena nos músculos esqueléticos (Punkt et al., 2002).

O NO produzido no músculo esquelético, exerce efeitos sobre a função contrátil por meio de estimulação da via guanilato ciclase-GMPc-proteína quinase dependente de GMPc (Kobzik et al., 1994) e modificação de grupos químicos (por exemplo: S-nitrosilação). Esta última ação pode ser exemplificada pelo efeito sobre a Ca^{2+} -ATPase presente no retículo sarcoplasmático (Aghdasi et al., 1997a,b) e os receptores rianodina (Heunks et al., 2001).

Em concentrações baixas, o NO atua em receptores de rianodina, nos quais a probabilidade de abertura do canal é aumentada por S-nitrosilação (Xu et al., 1998). Contudo, em concentrações maiores, o canal é inibido, reduzindo a liberação de Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático (Hart e Dulhunty, 2000). A respiração de mitocôndrias isoladas de músculos esqueléticos é inibida pelo NO e peroxinitrito, os quais atuam no citocromo c oxidase (Cleeter et al., 1994; Borutaité e Brown, 1996) e no complexo I (Clementi et al., 1998), respectivamente. Outras enzimas envolvidas na obtenção de energia tais como a aconitase (Stadler et al., 1991) e creatina quinase (Wolosker et al., 1996) também são inibidas pelo NO. Tais efeitos reduzem a formação de ATP, interferindo com a função contrátil, altamente dependente de energia (Reid, 1998). Em 1994, Kobzik e colaboradores constataram que o NO endógeno limita a força de contração muscular. Tal efeito foi confirmado por Reid e colaboradores em 1998, utilizando músculos diafragma de ratos.

O NO também atua na SERCA (Klebl et al., 1998; Viner et al., 1995, 1999) e diretamente sobre as proteínas contráteis. Alguns investigadores sugerem que o NO inibe diretamente a interação entre o Ca^{2+} e os miofilamentos contráteis (Aghdasi et al., 1997) ou afeta diretamente o padrão de deslizamento dos miofilamentos, reduzindo a velocidade máxima de encurtamento da fibra muscular por meio da diminuição da atividade de ATPase da *MHC* (Galler et al., 1997).

Neste contexto, vários relatos demonstram a participação do NO na redução da contratilidade muscular durante a sepse. O aumento do NO ocorre tanto via iNOS (Boczkowski et al., 1996; Krause et al., 1998) como por ativação de isoformas constitutivas (El-Dwairi et al., 1998) e está associado à redução da força de contração em modelos animais

de sepse e endotoxemia. Há, ainda, aumento na formação de 3-nitrotirosina (Barreiro et al., 2002) e lesão de sarcolema dependente da formação de NO (Lin et al., 1998). Aumentos na expressão de RNAm para iNOS e da atividade desta enzima foram também encontrados em amostras de músculos esqueléticos extraídos de pacientes sépticos por biópsia (Lanone et al., 2000). Por outro lado, também em humanos com sepse foram relatadas reduções na atividade dependente de cálcio e expressão de nNOS (Lanone et al., 2001; Capasso et al., 2008). Tais resultados mostram que as alterações na via L-arginina-NO e as ações deletérias do NO sobre o músculo esquelético durante a inflamação sistêmica ainda são controversas e parecem depender da isoforma considerada e, conseqüentemente da quantidade e ambiente onde o gás é formado.

1.4.2.1.2 Espécies reativas derivadas do oxigênio (ROS)

A produção de ROS em músculos esqueléticos foi primeiramente detectada por Commoner et al. em 1954, porém evidências substanciais de que a mesma estaria associada à função contrátil somente foram relatadas por Davies et al. em 1982. Tais pesquisadores observaram que a contração muscular era acompanhada por aumento na produção de radicais livres e peroxidação de lipídeos. O músculo esquelético é capaz de produzir ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila em condições de repouso, mesmo na ausência de qualquer alteração patológica (para revisão ver Reid, 2008).

As fontes de ânion superóxido no músculo esquelético incluem a cadeia respiratória mitocondrial (Boveris e Chance, 1973), NADPH oxidase presente em sarcolema (Javesghani et al., 2002) ou retículo sarcoplasmático (Xia et al., 2003), fosfolipase A₂ dependente ou independente de cálcio (Nethery et al., 1999; Gong et al., 2006) além da xantina oxidase presente nas fibras musculares (Whidden et al., 2009). Durante processos inflamatórios locais e sistêmicos, os neutrófilos ativados também produzem ROS após migração para os músculos (Piper et al., 1998).

Em concentrações fisiológicas, as ROS atuam em vários locais no músculo esquelético, modulando a função do sarcolema, regulação do cálcio, interação dos miofilamentos e metabolismo mitocondrial. As alterações promovidas pelas ROS incluem oxidação de DNA mitocondrial e nuclear, oxidação de grupos heme, carbonilação de proteínas e oxidação de resíduos tiol. O grupamento tiol do aminoácido cisteína pode sofrer reações oxidativas e formar pontes dissulfeto (Halliwell e Gutteridge, 2007). A oxidação de

tais grupamentos químicos pode alterar a função das proteínas, interferindo com os sítios ativos ou alterando a estrutura e disponibilidade de sítios regulatórios. Dentre as proteínas que são passíveis de sofrer oxidação em resíduos tiol incluem-se os receptores de rianodina (Aghdasi et al., 1997a,b), SERCA (Xu et al., 1997), troponina (Putkey et al., 1993), tropomiosina (Williams et al., 1982), miosina (Konczol et al., 1998) e actina (Dalledonne et al., 1995). Outras proteínas passíveis de sofrer oxidação por ROS incluem canais de potássio no sarcolema, proteínas mitocondriais e proteínas reguladoras do metabolismo da glicose (Reid, 2008).

Vários relatos mostram a participação de ROS na disfunção de músculos respiratórios durante a sepse ou após administração de LPS (Shindoh et al., 1992; Van Surell et al., 1992, Callahan et al., 2001).

1.4.2.1.2.1 Cadeia respiratória mitocondrial como fonte de ROS no músculo esquelético

As mitocôndrias (MIT) são as maiores organelas intracelulares e possuem duas membranas, a interna e a externa, as quais definem dois compartimentos: o espaço intermembranas e a matriz. A membrana externa define a superfície lisa exterior da organela e a membrana interna contém os componentes da cadeia transportadora de elétrons (CTE). As MIT são as usinas produtoras de energia da célula e produzem ATP por processos de fosforilação oxidativa (FOx). As proteínas envolvidas na FOx incluem quatro complexos enzimáticos (C I-IV; Figura 3), que possuem múltiplas subunidades e compõem a CTE, além da ATPsintase (Complexo V) e do translocador de nucleotídeo de adenina. O NADH proveniente do ciclo de Krebs é oxidado pelo C-I (NADH desidrogenase), enquanto que o succinato é oxidado pelo C-II (succinato desidrogenase). Os elétrons coletados nestes sítios são transferidos para a coenzima Q (CoQ), para produzir CoQ reduzida. Elétrons desta CoQ são transferidos para C-III (citocromo bc1), em seguida para citocromo c (cyt c), seguido pelo C-IV (citocromo c oxidase) e finalmente para o O₂, gerando água. A energia gerada pelo fluxo de elétrons é utilizada para bombear prótons da matriz para o espaço intermembranas. O gradiente eletroquímico resultante é usado para reintroduzir prótons através da subunidade FO do C-V (ATP sintase) e converter fosfato inorgânico e ADP à ATP (Nelson e Cox, 2005).

Figura 3- Representação do consumo de oxigênio, síntese de ATP e produção do ânion radical superóxido pelas mitocôndrias. Os elétrons provenientes dos nutrientes, coletados na forma de NADH e FADH₂, são transportados por complexos multiprotéicos (cadeia transportadora de elétrons, localizada na membrana interna da mitocôndria) até o complexo da citocromo oxidase (complexo IV). Esta transfere os elétrons ao O₂ produzindo água. Este processo bombeia prótons e gera um gradiente eletroquímico que estimula a ATP sintase a produzir ATP. Elétrons escapam e reduzem o O₂ ao radical superóxido, principalmente nos complexos I, II e CoQ.

FONTE: Augusto, 2006.

Sob condições fisiológicas, cada molécula de O₂ é reduzida a água por quatro elétrons (redução tetravalente) no C-IV, porém 2-4% do O₂ podem gerar ânion superóxido, o qual é posteriormente dismutado a H₂O₂. Esta reação ocorre principalmente nos complexos I e III da CTE, porque a passagem de elétrons por estes complexos promove a formação de radical •Q⁻, o qual pode reduzir o O₂ a ânion superóxido. As ROS derivadas do oxigênio parcialmente reduzido são normalmente produzidas na mitocôndria e neutralizadas pelo sistema antioxidante mitocondrial, formado principalmente pela SOD-2 e glutathiona peroxidase (Jassem et al., 2002).

1.4.2.1.3 Citocinas

Os músculos esqueléticos produzem baixos níveis de citocinas quando em repouso. Entre elas destaca-se o TNF-α (Saghizadeh et al., 1996), IL-1β (Belec et al., 1997), IL-6 (Keller et al., 2001) e IL-10 (Palacio et al., 2002). Porém, os níveis teciduais de TNF-α, IL-1β e IL-6 podem ser aumentados após administração de LPS ou indução de sepse. Neste

contexto, Frost et al. (2002) relataram que após LPS, mioblastos em cultura apresentaram aumento de RNAm para TNF- α e IL-6, sugerindo assim, que as células musculares respondem aos estímulos circulantes produzindo citocinas e que estas não seriam produzidas somente por células inflamatórias infiltradas no músculo esquelético em decorrência da inflamação sistêmica, mas também pelas próprias fibras musculares. Este resultado foi confirmado *in vivo* por Borghe et al. (2009), os quais indicam que a produção de citocinas pelas células musculares contribuiria para o aumento dos níveis plasmáticos destas durante a endotoxemia.

A produção de TNF- α pelas fibras musculares de diafragma em resposta ao LPS ou a citocinas circulantes (TNF- α , IL-1 β , IFN- γ) é associada à redução da força de contração (Shindoh et al., 1995). Tal redução na força promovida pelo TNF- α pode ocorrer em decorrência do aumento de proteólise por ativação da via ubiquitina- proteassomo, reduzindo a massa muscular (Li et al., 1998, 2000). Esta ação do TNF- α é observada em processos crônicos, como câncer e em pacientes que experimentam múltiplas infecções durante uma mesma internação hospitalar.

Por outro lado, o TNF- α reduz a força de contração de forma aguda sem alterar transientes de cálcio, provavelmente atuando diretamente nos miofilamentos contráteis (Reid et al., 2002). Além disso, o TNF- α é capaz de estimular, a transcrição gênica de iNOS em células musculares. Este efeito ocorre, *in vitro*, somente na presença de outras citocinas, tais como IL-1 β e IFN- γ (Williams et al., 1994). Assim a ação do TNF- α sobre a contratilidade muscular pode ser devida à produção de outros mediadores, entre eles, o NO (Alloatti et al., 2000) e ROS (Li et al., 2000) os quais modulam a disfunção muscular em grande variedade de situações inflamatórias entre elas a endotoxemia e a sepse.

No músculo esquelético a sinalização celular induzida pela ligação do TNF circulante ao seu receptor tipo 1 (TNFR1; Liu et al., 1996) é dependente da formação de ROS, especialmente H₂O₂ (Sen et al., 1997; Li et al., 1998, 1999, 2000). Os resultados de Li et al. (1999) mostram que ROS geradas pelo complexo I da cadeia respiratória mitocondrial são essenciais para a ativação do NF- κ B pelo TNF- α , em miotubos.

Por sua vez, a IL-1 β reduz a síntese protéica muscular (Cooney et al., 1999). Ainda, contribui para o aumento de expressão e atividade do ubiquitina-proteassomo em músculos esqueléticos após queimaduras extensas, aumentando proteólise muscular (Ni et al., 2007). A IL-1 β ativa NF- κ B e induz, assim, a expressão de iNOS e outras proteínas envolvidas no processo inflamatório (Adams et al., 2002).

Outra citocina encontrada em músculos esqueléticos é a IL-6, a qual regula as vias de proteólise comandadas pela catepsina e pela ubiquitina, induzindo atrofia muscular em condições crônicas, como a imobilização prolongada (Tsujinaka et al., 1996). Esta citocina é produzida pelos músculos esqueléticos em grandes quantidades e liberada após exercício físico, juntamente com aumento da expressão de seu receptor, IL-6R (Nielsen e Pedersen, 2008). Ainda, a IL-6 estimula a translocação do transportador de glicose GLUT-4, aumentando, assim, a captação de glicose pelas células musculares (Carey et al., 2006). A expressão de IL-6 é aumentada em diafragma e tibial anterior após a administração de LPS (Demoule et al., 2006).

A IL-10, outra citocina presente na circulação durante a SIRS, ainda é pouco estudada em músculos esqueléticos. Seu papel fisiológico no músculo esquelético ainda não foi elucidado (Palácio et al., 2002), porém ela é capaz de reduzir a expressão de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e IL-18) no diafragma em modelo experimental de pneumonia bacteriana (Divangahi et al., 2007).

Desta forma, e pelo exposto até aqui, os estudos que demonstram a existência de disfunção muscular durante a SIRS foram realizados em sua maioria em pacientes sépticos e em modelos animais de sepse. Apesar disso, os mecanismos responsáveis pelo surgimento da polineuromiopia do doente grave ainda não foram totalmente elucidados e sua patogênese permanece obscura.

Ainda, de acordo com o nosso conhecimento sobre o assunto, não há na literatura estudos avaliando alterações em músculos esqueléticos em decorrência da SIRS causada por isquemia e reperfusão intestinal.

em **6 CONCLUSÃO**

Nossos resultados demonstram que a indução de isquemia e reperfusão intestinal promove aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias, alterações na via L-arginina-NO e modificações oxidativas em músculo diafragma e tibial anterior de ratos, de forma dependente do tempo de reperfusão. Ainda, as diferentes isoformas de NOS e SOD, bem como espécies reativas geradas pela cadeia transportadora de elétrons podem estar envolvidas nas alterações encontradas em lipídeos e proteínas. Estas alterações não afetam a contratilidade muscular do diafragma após duas horas de reperfusão, mas podem ser importantes para o desenvolvimento de disfunção muscular em tempos posteriores de reperfusão.

Concluindo, podemos afirmar que o estudo das alterações em músculos esqueléticos durante a IRI é importante, uma vez que a fisiopatologia da disfunção muscular durante a SIRS ainda não está completamente elucidada. Há necessidade de se buscar tratamentos eficazes ou mesmo a prevenção desta disfunção, na tentativa de reduzir a morbi/mortalidade dos pacientes que apresentam a síndrome da resposta inflamatória sistêmica e disfunção de múltiplos órgãos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams V, Nehrhoff B, Späte U, Linke A, Schulze PC, Baur A, Gielen S, Hambrecht R, Schuler G. Induction of iNOS expression in skeletal muscle by IL-1 β and NF- κ B activation: an in vitro and in vivo study. *Cardiovasc Res.* 2002; 54(1):95-104.

Adib-Conquy M, Cavaillon J-M. Compensatory anti-inflammatory response syndrome *Thromb Haemost.* 2009; 101:36-47.

Aghdasi B, Reid MB, Hamilton SL. Nitric oxide protects the skeletal muscle calcium release channel from oxidation-induced activation. *J Biol Chem.* 1997a; 272:25462-7.

Aghdasi B, Zhang J-Z, Wy Y, Reid MB, Hamilton SL. Multiple classes of sulfhydryls modulate the skeletal muscle Ca²⁺ release channel. *J Biol Chem.* 1997b; 272(6):3739-48.

Alloatti G, Penna C, Mariano F, Camussi G. Role of NO and PAF in the impairment of skeletal muscle contractility induced by TNF- α . *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000; 279(6):R2156-63.

Altavilla D, Squadrito F, Ammendolia L, Squadrito G, Campo GM, Canale P, Ioculano M, Musolino C, Alonci A, Sardella A, Urna G, Saitta A, Caputi AP. Monocytes and lymphocytes as active participants in the pathogenesis of experimental shock. *Inflamm Res.* 1996; 45:398-404.

American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest.* 1992; 101:1644-55.

Arumugam TV, Arnold N, Proctor LM, Newman M, Reid RC, Hansford KA, Fairlie DP, Shiels IA, Taylor SM. Comparative protection against rat intestinal reperfusion injury by a new inhibitor of sPLA₂, COX-1 and COX-2 selective inhibitors, and an LTC₄ receptor antagonist. *Br J Pharmacol.* 2003; 140:71-80.

Augusto O. *Radicais livres: bons, maus e naturais.* São Paulo: Oficina de Textos; 2006. 120 p.

Bakker J, Gris P, Coffernils M, Kahn RJ, Vincent JL: Serial blood lactate levels can predict the development of multiple organ failure following septic shock. *Am J Surg.* 1996; 171:221-6.

*De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journal: Sample References. C2003-Available from: <http://icmje.org> [2007 May 22].

Balon TW, Nadler JL. Nitric oxide release is present from incubated skeletal muscle preparations. *J Appl Physiol*. 1994; 77(6):2519-21.

Balon TW, Nadler JL. Evidence that nitric oxide increases glucose transport in skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 1997; 82(1):359-63.

Barreiro E, Comtois AS, Gea J, Laubach VE, Hussain SNA. Protein tyrosine nitration in the ventilatory muscles: Role of nitric oxide synthases. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2002; 26:438-46.

Barreiro E, Gea J, Corominas JP, Hussain SNA. Nitric oxide synthases and protein oxidation in the quadriceps femoris of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2003; 29:771-8.

Bates TE, Loesch A, Burnstock G, Clark JB. Mitochondrial nitric oxide synthase: a ubiquitous regulator of oxidative phosphorylation? *Biochem Biophys Res Commun*. 1996; 218:40-4.

Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol*. 1996; 271:C1424-37.

Bednarik J, Vondracek P, Dusek L, Moravcova E, Cundrle I. Risk factors for critical illness polyneuropathy. *J Neurol*. 2005;252:343-51.

Bélec L, Authier FJ, Chazaud B, Piédouillet C, Barlovatz-Meimon G, Gherardi RK. Interleukin (IL)-1 beta and IL-1 beta mRNA expression in normal and diseased skeletal muscle assessed by immunocytochemistry, immunoblotting and reverse transcriptase-nested polymerase chain reaction. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1997; 56(6):651-63.

Benson DW, Hasselgren PO, Hiyama DT, James JH, Li S, Rigel DF, Fischer JE. Effect of sepsis on calcium uptake and content in skeletal muscle and regulation in vitro by calcium of total and myofibrillar protein breakdown in control and septic muscle: results from a preliminary study. *Surgery*. 1989; 106(1):87-93.

Bhattacharyya J, Thompson, KD, Sayeed MM. Skeletal muscle Ca^{2+} flux and catabolic response during sepsis. *Am J Physiol*. 1993; 265:R487-93.

Bird SJ. Diagnosis and management of critical illness polyneuropathy and critical illness myopathy. *Curr Treat Options Neurol*. 2007; 9:85-92.

Boczkowski J, Lanone S, Ungureanu-Longrois D, Danialou G, Fournier T, Aubier M. Induction of diaphragmatic nitric oxide synthase after endotoxin administration in rats. *J Clin Invest*. 1996; 98:1550-9.

Boczkowski J, Lisdero CL, Lanone S, Samb A, Carreras MC, Boveris A, Aubier M, Poderoso JJ. Endogenous peroxynitrite mediates mitochondrial dysfunction in rat diaphragm during endotoxemia. *FASEB J*. 1999; 13:1637-47.

Bolonheis SM. Óxido nítrico produzido durante a sepse intensifica a redução nos valores da razão de “train-of-four” (TOF) induzida por d-tubocurarina e pancurônio [dissertação]. Maringá: Departamento de Farmácia e Farmacologia da Universidade Estadual de Maringá; 2003.

Bolotina VM, Najibi S, Palacino JJ, Pagano PJ, Cohen RA. Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. *Nature*. 1994; 368:850-3.

Bolton CF. Neuromuscular manifestations of critical illness. *Muscle Nerve*. 2005; 32:140-63.

Boo YC, Sorescu GP, Bauer PM, Fulton D, Kemp BE, Harrison DG, Sessa WC, Jo H. Endothelial NO synthase phosphorylated at SER635 produces NO without requiring intracellular calcium increase. *Free Radic Biol Med*. 2003; 35:729-41.

Borge BÅ, Kalland KH, Olsen S, Bletsa A, Berggreen E, Wiig H. Cytokines are produced locally by myocytes in rat skeletal muscle during endotoxemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009; 296:H735-44.

Borutaité V, Brown GC. Rapid reduction of nitric oxide by mitochondria, and reversible inhibition of mitochondrial respiration by nitric oxide. *Biochem J*. 1996; 315:295-9.

Bose R, Sutherland GR, Pinsky C. Biological and methodological implications of prostaglandin involvement in mouse brain lipid peroxidation measurements. *Neurochem Res*. 1989; 14(3):217-20.

Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J*. 1973; 134(3):707-16.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976; 7:248-54.

Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD, Rothstein G. Measurement of cutaneous inflammation: Stimulation of neutrophil content with an enzyme marked. *J Invest Dermatol*. 1982; 78:206-9.

Brealey D, Brand M, Hargreaves I, Hoenales S, Land J, Smolenski R, Davies N, Cooper CE, Singer M. Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock. *Lancet*. 2002; 360:219-23.

Brealey D, Karyampudi S, Jacques TS, Novelli M, Stidwill R, Taylor V, Smolenski RT, Singer M. Mitochondrial dysfunction in a long-term rodent model of sepsis and organ failure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004; 286:R491-7.

Bredt DS, Hwang PM, Glatt CE, Lowenstein C, Reed RR, Snyder SH. Cloned and expressed nitric oxide synthase resembles cytochrome P-450 reductase. *Nature*. 1991; 351:714-8.

Bredt DS, Snyder SH. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990; 87:682-5.

Bülbring E. Observations on the isolated phrenic nerve diaphragm preparation of the rat. *Br J Pharmacol*. 1946; 1:38-61.

Buchwalow IB, Minin EA, Samoilova VE, Boecker W, Wellner M, Schmitz W, Neumann J, Punkt K. Compartmentalization of NO signalling cascade in skeletal muscles. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005; 330(2):615-21.

Cadenas E. Mitochondrial free radical production and cell signalling. *Mol Aspects Med*. 2004; 25(1-2):17-26.

Callahan LA, Nethery D, Stofan D, DiMarco A, Supinski G. Free radical-induced contractile protein dysfunction in endotoxin-induced sepsis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2001; 24(2):210-7.

Capasso M, Di Muzio A, Pandolfi A, Pace M, Di Tomo P, Ragno M, Uncini A. Possible role for nitric oxide dysregulation in critical illness myopathy. *Muscle Nerve*. 2008; 37:196-202.

Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol*. 2000; 190(3):255-66.

Carey AL, Steinberg GR, Macaulay SL, Thomas WG, Holmes AG, Ramm G, Prelovsek O, Hohnen-Behrens C, Watt MJ, James DE, Kemp BE, Pedersen BK, Febbraio MA. IL-6 increases insulin stimulated glucose disposal in humans and glucose uptake and fatty acid oxidation in vitro via AMPK. *Diabetes*. 2006; 55:2688-97.

Carlson DL, Willis MS, White DJ, Horton JW, Giroir BP. Tumor necrosis factor- α -induced caspase activation mediates endotoxin-related cardiac dysfunction. *Crit Care Med*. 2005; 33(5):1021-8.

Cassatella MA, Meda L, Gasperini S, Calzetti F, Bonora S. Interleukin 10 (IL-10) upregulates IL-1 receptor antagonist production from lipopolysaccharide-stimulated human polymorphonuclear leukocytes by delaying mRNA degradation. *J Exp Med*. 1994; 179(5):1695-9.

Caty MG, Guice KS, Oldham KT, Remick DG, Kunkel SI. Evidence for tumor necrosis factor-induced pulmonary microvascular injury after intestinal ischemia-reperfusion injury. *Ann Surg*. 1990; 212(6):694-700.

Cavaillon J-M. 'Septic plasma': an immunosuppressive milieu. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 166:1417-8.

Cavriani G, Domingos HV, Soares AL, Trezena AG, Ligeiro-Oliveira AP, Oliveira-Filho RM, Sudo-Hayashi LS, Lima WT. Lymphatic system as a path underlying the spread of lung and gut injury after intestinal ischemia/reperfusion in rats. *Shock*. 2005; 23(4):330-6.

Cavriani G, Domingos HV, Oliveira-Filho RM, Sudo-Hayashi LS, Vargaftig BB, Lima WT. Lymphatic thoracic duct ligation modulates the serum levels of IL-1 β and IL-10 after intestinal ischemia/reperfusion in rats with the involvement of tumor necrosis factor- α and nitric oxide. *Shock*. 2007; 27(2):209-13.

Cavriani G, Oliveira-Filho RM, Trezena AG, da Silva ZL, Domingos HV, de Arruda MJ, Jancar S, Tavares de Lima W. Lung microvascular permeability and neutrophil recruitment are differently regulated by nitric oxide in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion. *Eur J Pharmacol*. 2004; 494(2-3):241-9.

Ceppa EP, Fuh KC, Bulkley GB. Mesenteric hemodynamic response to circulatory shock. *Curr Opin Crit Care*. 2003; 9:127-32.

Cleeter, MW, Cooper JM, Darley-Usmar VM, Moncada S, Schapira AH. Reversible inhibition of cytochrome c oxidase, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, by nitric oxide. Implications for neurodegenerative diseases. *FEBS Lett*. 1994; 345(1):50-4.

Clementi E, Brown GC, Feelisch M, Moncada S. Persistent inhibition of cell respiration by nitric oxide: crucial role of S-nitrosylation of mitochondrial complex I and protective action of glutathione. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95(13):7631-6.

Coelho FR, Cavriani G, Soares AL, Teixeira SA, Almeida PCL, Sudo-Hayashi LS, Muscará MN, Oliveira-Filho RM, Vargaftig BB, Tavares-de-Lima W. Lymphatic-borne IL-1 β and the inducible isoform of nitric oxide synthase trigger the bronchial hyporesponsiveness after intestinal ischemia/reperfusion in rats. *Shock*. 2007; 28(6):694-9.

Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology*. 2001; 94(6):1133-8.

Commoner B, Townsend J, Pake GE. Free radicals in biological materials. *Nature*. 1954; 174:689-91.

Cooney RN, Maish GO 3rd, Gilpin T, Shumate ML, Lang CH, Vary TC. Mechanism of IL-1 induced inhibition of protein synthesis in skeletal muscle. *Shock*. 1999; 11(4):235-41.

Cooper CE, Giulivi C. Nitric oxide regulation of mitochondrial oxygen consumption II: molecular mechanism and tissue physiology. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007; 292:C1993-C2003.

Cotran RS, Kumar V, Robbins SL, Schoen FL. Lesão celular e morte celular. In: _____. Robbins: Patologia estrutural e funcional. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p. 1-30.

Cuzzocrea S, De Sarro G, Costantino G, Ciliberto G, Mazzon E, De Sarro A, Caputi AP. IL-6 knockout mice exhibit resistance to splanchnic artery occlusion shock. *J Leukoc Biol*. 1999; 66(3):471-80.

Cuzzocrea S, Chatterjee PK, Mazzon E, Dugo L, De Sarro A, Van de Loo FAJ, Caputi AP, Thiemermann C. Role of induced nitric oxide in the initiation of the inflammatory response after postischemic injury. *Shock*. 2002; 18(2):169-76.

Cuzzocrea S, Mazzon E, Dugo L, Caputi AP, Aston K, Riley DP, Salvemini D. Protective effects of a new stable, highly active SOD mimetic, M40401 in splanchnic artery occlusion and reperfusion. *Br J Pharmacol*. 2001; 132(1):19-29.

Dahn MS, Lange MP, McCurdy B, Mahaffey S. Metabolic function of the isolated rat liver in chronic sepsis. *J Surg Res*. 1995; 59:287-91.

Dairou J, Pluvinage B, Noiran J, Petit E, Vinh J, Haddad I, Mary J, Dupret J-M, Rodrigues-Lima F. Nitration of a critical tyrosine residue in the allosteric inhibitor site of muscle glycogen phosphorylase impairs its catalytic activity. *J Mol Biol*. 2007; 372:1009-21.

Dalledonne I, Milzani A, Colombo R. H₂O₂-treated actin: assembly and polymer interactions with cross-linking proteins. *Biophys J*. 1995; 69:2710-9.

Danjo W, Fujimura N, Ujike Y. Effect of pentoxifylline on diaphragmatic contractility in septic rats. *Acta Med Okayama*. 2008; 62(2):101-7.

Davenpeck KL, Gauthier TW, Lefer AM. Inhibition of endothelial-derived nitric oxide promotes P-selectin expression and actions in the rat microcirculation. *Gastroenterology*. 1994; 107:1050-8.

Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun*. 1982; 107:1198-205.

D'Avila JCP, Santiago APSA, Amâncio RT, Galina A, Oliveira MF, Bozza FA. Sepsis induces brain mitochondrial dysfunction. *Crit Care Med*. 2008; 36:1925-32.

De Jonghe B, Bastuji-Garin S, Durand M-C, Malissin I, Rodrigues P, Cerf C, Outin H, Sharshar T. Respiratory weakness is associated with limb weakness and delayed weaning in critical illness. *Crit Care Med*. 2007; 35:2007-15.

Demoule A, Divangahi M, Yahiaoui L, Danialou G, Gvozdic D, Labbe K, Bao W, Petrof BJ. Endotoxin triggers nuclear factor- κ B dependent up-regulation of multiple proinflammatory genes in the diaphragm. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006; 174:646-53.

Dias FS, Rezende E, Mendes CL, Réa-Neto A. Choque circulatório. Rio de Janeiro: Revinter; 2008. 786 p.

Dinarello CA. Interleukin-1 β . *Crit Care Med*. 2005; 33(12 Suppl):S460-2.

Dinarello CA, Moldawer LL. Cytokines and the inflammatory response. In: _____. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis. 2nd ed. Thousand Oaks: AMGEN; 2000. p. 3-22.

Divangahi M, Demoule A, Danialou G, Yahiaoui L, Bao W, Xing Z, Petrof BJ. Impact of IL-10 on diaphragmatic cytokine expression and contractility during *Pseudomonas* infection. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2007; 36:504-12.

Eiserich, JP, Butler J, van der Vliet A, Cross CE, Halliwell B. Nitric oxide rapidly scavenges tyrosine and tryptophan radicals. *Biochem J*. 1995; 310:745-9.

El-Dwairi Q, Comtois A, Guo Y, Hussain SN. Endotoxin-induced skeletal muscle contractile dysfunction: contribution of nitric oxide synthases. *Am J Physiol*. 1998; 274:C770-9.

Elfering SL, Sarkela TM, Giulivi C. Biochemistry of mitochondrial nitric-oxide synthase. *J Biol Chem*. 2002; 277(41):38079-86.

Evans DA, Jacobs DO, Wilmore DW. Tumor necrosis factor enhances glucose uptake by peripheral tissue. *Am J Physiol*. 1989; 257:R1182-9.

Feelisch M. Biotransformation to nitric oxide of organic nitrates in comparison to other nitrovasodilators. *Eur Heart J*. 1993; 14:123-32.

Ferraz JG, Sharkey KA, Reuter BK, Asfaha S, Tigley AW, Brown ML, McKnight W, Wallace JL. Induction of cyclooxygenase 1 and 2 in the rat stomach during endotoxemia: role in resistance to damage. *Gastroenterology*. 1997; 113(1):195-204.

Filep J, Braquet P, Mózes T. Significance of platelet-activating factor in mesenteric ischemia-reperfusion. *Lipids*. 1991; 26:1336-9.

Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol*. 1991; 147(11):3815-22.

Fiorentino DF, Zlotnik A, Vieira P, Mosmann TR, Howard M, Moore KW, O'Garra A. IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *J Immunol*. 1991; 146(10):3444-51.

Fletcher SN, Kennedy DD, Ghosh IR, MisraVP, Kiff K, Coakley JH, Hinds CJ. Persistent neuromuscular and neurophysiologic abnormalities in long-term survivors of prolonged critical illness. *Crit Care Med*. 2003; 31(4):1012-6.

Flohé L, Brigelius-Flohé R, Saliou C, Traber MG, Packer L. Redox regulation of NF-kappa B activation. *Free Rad Biol Med*. 1997; 22(6):1115-26.

Förstermann U, Nakane M, Tracey WR, Pollock JS. Isoforms of nitric oxide synthase: functions in the cardiovascular system. *Eur Heart J*. 1993; 14:10-5.

Fredriksson K, Fläring U, Guillet C, Wernerman J, Rooyackers O. Muscle mitochondrial activity increases rapidly after an endotoxin challenge in human volunteers. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2009; 53:299–304.

Frost RA, Lang CH. Skeletal muscle cytokines: regulation by pathogen-associated molecules and catabolic hormones. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2005; 8:255-63.

Frost, RA, Nystrom GJ, Lang CH. Lipopolysaccharide regulates proinflammatory cytokine expression in mouse myoblasts and skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2002; 283: R698-709.

Fugere NA, Ferrington DA, Thompson LV. Protein nitration with aging in the rat semimembranosus and soleus muscles. *J Gerontol*. 2006; 61A(8):806-12.

Fullerton DA, Hahn AR, Koike K, Banerjee A, Harkan AH. Intracellular mechanisms of pulmonary vasomotor dysfunction in acute lung injury caused by mesenteric ischemia-reperfusion. *Surgery*. 1993; 114:360-6.

Furchgott RF. Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrite: the basis for the proposal that the acid-activable inhibitory factor from retractor penis is inorganic nitrite and the endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide. In. Vanhoutte PM, editor. *Vasodilatation: Vascular Smooth Muscle, Peptides, Autonomic Nerves and Endothelium*. New York: Raven Press; 1988. p. 401-414.

Galea E, Reis DJ, Feinstein DL. Cloning and expression of inducible nitric oxide synthase from rat astrocytes. *J Neurosci Res*. 1994; 37:406-14.

Galindo A. The role of prejunctional effects in myoneural transmission. *Anesthesiology*. 1972; 36:598-608.

Galler S, Hilber K, Gobesberger A. Effects of nitric oxide on force-generating proteins of skeletal muscle. *Pflugers Arch*. 1997; 434:242-5.

Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R, García-Garmendía JL, Madrazo-Osuna J, Ortiz-Leyba C. Effect of critical illness polyneuropathy on the withdrawal from mechanical ventilation and the length of stay in septic patients. *Crit Care Med*. 2005; 33:349-54.

Gath I, Closs EI, Godtel-Armbrust U, Schmitt S, Nakane M, Wessler I, Förstermann U. Inducible NO synthase II and neuronal NO synthase I are constitutively expressed in different structures of guinea pig skeletal muscle: implications for contractile function. *FASEB J*. 1996; 10:1614-20.

Gath I, Ebert J, Godtel-Armbrust U, Ross R, Reske-Kunz AB, Förstermann U. NO synthase II in mouse skeletal muscle is associated with caveolin 3. *Biochem J*. 1999; 340:723-8.

Gath I, Godtel-Armbrust U, Förstermann U. Expressional downregulation of neuronal-type NO synthase I in guinea pig skeletal muscle in response to bacterial lipopolysaccharide. *FEBS Lett.* 1997; 410(2-3):319-23.

Geller DA, Nussler AK, Di Silvio M, Lowenstein CJ, Shapiro RA, Wang SC, Simmons RL, Billiar TR. Cytokines, endotoxin, and glucocorticoids regulate the expression of inducible nitric oxide synthase in hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci.* 1993; 90:522-6.

Ghafourifar P, Cadenas E. Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends Pharmacol Sci.* 2005; 26(4):190-5.

Ghafourifar P, Ritcher C. Nitric oxide synthase activity in mitochondria. *FEBS Lett.* 1997; 418:291-6.

Gong MC, Arbogast S, Guo Z, Mathenia J, Su W, Reid MB. Calcium-independent phospholipase A2 modulates cytosolic oxidant activity and contractile function in murine skeletal muscle cells. *J Appl Physiol.* 2006; 100(2):399-405.

Gow AJ, Duran D, Malcolm S, Ischiropoulos H. Effects of peroxynitrite-induced protein modifications on tyrosine phosphorylation and degradation. *FEBS Lett.* 1996; 385:63-6.

Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol.* 1988; 255:H1269-75.

Granger DN, Rutili G, McCord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology.* 1981; 81(1):22-9.

Grisham MB, Hernandez LA, Granger DN. Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischemia. *Am J Physiol.* 1986; 251:G567-74.

Grotz MRW, Deitch EA, Ding J, Xu D, Huang Q, Regel G. Intestinal cytokine response after gut ischemia: role of gut barrier failure. *Ann Surg.* 1999; 229(4):478-86.

Guo Y, Greenwood MT, Petrof BJ, Hussain SNA. Expression and regulation of protein inhibitor of neuronal nitric oxide synthase in ventilatory muscles. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1999; 20:319-26.

Guyton AC, Hall JE. Choque circulatório e fisiologia do seu tratamento. In: _____. *Tratado de Fisiologia Médica.* Rio de Janeiro: Elsevier; 2006. p. 278-88.

Guyton AC, Hall JE. Contração do músculo esquelético. In: _____. *Tratado de Fisiologia Médica.* Rio de Janeiro: Elsevier; 2006. p. 72-84.

Guyton AC, Hall JE. Excitação do músculo esquelético: transmissão neuromuscular e acoplamento excitação-contração. In: _____. *Tratado de Fisiologia Médica.* Rio de Janeiro: Elsevier; 2006. p. 85-91.

Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Oxford University Press; 2007.

Hämäläinen N, Pette D. The histochemical profiles of fast fiber types IIB, IID and IIA in skeletal muscles of mouse, rat and rabbit. *J Histochem Cytochem*. 1993;41(5):733-43.

Hamar J, Racz I, Ciz M, Lojek A, Pallinger É, Füresz J. Time course of leukocyte response and free radical release in an early reperfusion injury of the superior mesenteric artery. *Physiol. Res*. 2003; 52:417-23.

Hart JD, Dulhunty AF. Nitric oxide activates or inhibits skeletal muscle ryanodine receptors depending on its concentration, membrane potential and ligand binding. *J Membr Biol*. 2000; 173(3):227-36.

Herridge MS, Cheung AM, Tansey CM, Matte-Martyn A, Diaz-Granados N, Al-Saidi F, Cooper AB, Guest CB, Mazer D, Mehta S, Stewaer TE, Barr A, Cook D, Slutsky AS. One-year outcomes in survivors of the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2003; 348(8):683-93.

Heunks LMA, Machiels HA, Dekhuijzen PNR, Prakash YS, Sieck GC. Nitric oxide affects sarcoplasmic calcium release in skeletal myotubes. *J Appl Physiol*. 2001; 91(5):2117-24.

Hevel J, White KA, Marletta MA. Purification of the inducible murine macrophage nitric oxide synthase. *J Biol Chem*. 1991; 266:22789-91.

Higaki Y, Hirshman MF, Fujii N, Goodyear LJ. Nitric oxide increases glucose uptake through a mechanism that is distinct from the insulin and contraction pathways in rat skeletal muscle. *Diabetes*. 2001; 50(2):241-7.

Horton JW, White DJ. Free radical scavengers prevent intestinal ischemia-reperfusion-mediated cardiac dysfunction. *J Surg Res*. 1993; 55:282-9.

Hussain SNA. Respiratory muscle dysfunction in sepsis. *Mol Cell Biochem*. 1998; 179:125-34.

Hussain SNA, El-Dwairi Q, Abdul-Hussain MN, Sakkaï D. Expression of nitric oxide synthase isoforms in normal ventilatory and limb muscles. *J Appl Physiol*. 1997; 83(2):348-53.

Ignarro LJ, Byrins RE, Wood KS. Biochemical and pharmacological properties of endothelium-derived relaxing factor and its similarity to nitric oxide radical. In: Vanhoutte PM, editor. *Vasodilatation: Vascular Smooth Muscle, Peptides, Autonomic Nerves and Endothelium*. New York: Raven Press; 1988. p. 427-436.

Jaffrey SR, Snyder SH. PIN: an associated protein inhibitor of neuronal nitric oxide synthase. *Science*. 1996; 274:774-7.

Jassem W, Fuggle SV, Rela M, Koo DD, Heaton ND. The role of mitochondria in ischemia/reperfusion injury. *Transplantation*. 2002; 73(4):493-9.

Javesghani D, Magder SA, Barreiro E, Quinn MT, Hussain SNA. Molecular characterization of a superoxide-generating NAD(P)H oxidase in the ventilatory muscles. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 165(3):412-8.

Jin MB, Shimahara Y, Yamaguchi T, Ichimiya M, Kinoshita K, Oka T, Yamaoka Y, Ozawa K. The effect of a bolus injection of TNF- α and IL-1 β on hepatic energy metabolism in rats. *J Surg Res.*, 1995; 58:509-15.

Kamisaki Y, Wada K, Bian K, Balabanli B, Davis K, Martin E, Behbod F, Lee Y-C, Murad F. An activity in rat tissues that modifies nitrotyrosine-containing proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95:11584-9.

Karakurum M, Shreenivas R, Chen J, Pinsky D, Yan SD, Anderson M, Sunouchi K, Major J, Hamilton T, Kuwabara K. Hypoxic induction of interleukin-8 gene expression in human endothelial cells. *J Clin Invest*. 1994; 93:1564-70.

Karasawa A, Guo J-P, Ma X-L, Tsao PS, Lefer AM. Protective actions of a leukotriene B₄ antagonist in splanchnic ischemia and reperfusion in rats. *Am J Physiol*. 1991; 261:G191-8.

Katz B. The release of neurotransmitter substances. Liverpool: Liverpool University Press; 1969. 70 p.

Keller C, Steensberg A, Pilegaard H, Osada T, Saltin B, Pedersen BK, Neufer PD. Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. *FASEB J*. 2001; 15(14):2748-50.

Kilinc K, Kilinc A, Wolf RE, Grisham MB. Myoglobin-catalyzed tyrosine nitration: No need for peroxynitrite. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001; 285:273-6.

Kitamura K, Lian Q, Carl A, Kuriyama H. S-nitrosocysteine, but not sodium nitroprusside, produces apamin-sensitive hyperpolarization in rat gastric fundus. *Br J Pharmacol*. 1993; 109:415-23.

Klebl BM, Ayoub AT, Pette D. Protein oxidation, tyrosine nitration, and inactivation of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase in low-frequency stimulated rabbit muscle. *FEBS Lett*. 1998; 422(3):381-4.

Kobzik L, Reid MB, Bredt DS, Stamler JS. Nitric oxide in skeletal muscle. *Nature*. 1994; 372:546-8.

Kobzik L, Stringer B, Balligand J-L, Reid MB, Stamler JS. Endothelial type nitric oxide synthase in skeletal muscle fibers: mitochondrial relationships. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995; 211(2):375-81.

Koga S, Ogawa S, Kuwabara K, Brett J, Leavy JA, Ryan J, Koga Y, Plocinski J, Benjamin W, Burns DK. Synthesis and release of interleukin 1 by reoxygenated human mononuclear phagocytes. *J Clin Invest.* 1992; 90:1007-15.

Kolkamn JJ, Geelkerken RH. Splanchnic ischemia. In: Fink MP, Abraham E, Vincent J-L, Kochanek PM. *Textbook of Critical Care.* 5.ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p. 2021-9.

Komeima K, Hayashi Y, Naito Y, Watanabe Y. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase by calcium/calmodulin-dependent protein kinase IIalpha through Ser847 phosphorylation in NG108-15 neuronal cells. *J Biol Chem.* 2000; 275:28139-43.

Konczol F, Lorinczy D, Belagyi J. Effect of oxygen free radicals on myosin in muscle fibres. *FEBS Lett.* 1998; 427:341-4.

Kong S-K, Yim MB, Stadtman ER, Chock PB. Peroxynitrite disables the tyrosine phosphorylation regulatory mechanism: Lymphocyte-specific tyrosine kinase fails to phosphorylate nitrated cdc2(6-20)NH₂ peptide. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996; 93:3377-82.

Krause KM, Moody MR, Andrade FH, Taylor AA, Miller CC, Kobzik L, Reid MB. Peritonitis causes diaphragm weakness in rats. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 157:1277-82.

Lacomis D, Petrella JT, Giuliani MJ. Causes of neuromuscular weakness in the intensive care unit: a study of ninety-two patients. *Muscle Nerve.* 1998; 21:610-7.

Lacza Z, Pankotai E, Busija DW. Mitochondrial nitric oxide synthase: current concepts and controversies. *Front Biosci.* 2009; 14:4436-43

Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970; 15(5259):680-5.

Lane JS, Todd KE, Lewis MPN, Gloor B, Ashley SW, Reber HA, McFadden DW, Chandler CF. Interleukin-10 reduces the systemic inflammatory response in a murine model of intestinal ischemia/reperfusion. *Surgery.* 1997; 122:288-94.

Lanone S, Manivet P, Callebort J, Launay JM, Payen D, Aubier M, Boczkowski J, Mebazaa A. Inducible nitric oxide synthase (NOS2) expressed in septic patients is nitrated on selected tyrosine residues: implications for enzymic activity. *Biochem J.* 2002; 366(Pt 2):399-404.

Lanone S, Mebazaa A, Heymes C, Henin D, Poderoso YP, Zedda C, Billiar T, Payen D, Aubier M, Boczkowski J. Muscular contractile failure in septic patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 162(6):2308-15.

Lanone S, Mebazaa A, Heymes C, Valleur P, Mechighel P, Payen D, Aubier M, Boczkowski J. Sepsis is associated with reciprocal expressional modifications of constitutive nitric oxide

synthase (NOS) in human skeletal muscle: down-regulation of NOS1 and up-regulation of NOS3. *Crit Care Med.* 2001; 29(9):1720-5.

Lanone S, Taillé C, Boczkowski J, Aubier M. Diaphragmatic fatigue during sepsis and septic shock. *Intensive Care Med.* 2005; 31(12):1611-7.

Latronico N, Shehu I, Seghelini E. Neuromuscular sequelae of critical illness. *Curr Opin Crit Care.* 2005; 11:381-90.

Lawler JM, Song W. Specificity of antioxidant enzyme inhibition in skeletal muscle to reactive nitrogen species donors. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 294:1093-100.

Lee S, Barbanel G, Rivier C. Systemic endotoxin increases steady-state gene expression of hypothalamic nitric oxide synthase: comparison with corticotropin-releasing factor and vasopressin gene transcripts. *Brain Res.* 1995; 705:136-48.

Lennard TW, Shenton BK, Borzotta A, Donnelly PK, White M, Gerrie LM, Proud G, Taylor RM. The influence of surgical operations on components of the human immune system. *Br J Surg.* 1985; 72:771-6.

Lent R. O corpo se move: Movimentos, músculos e reflexos. In:_. *Cem Bilhões de Neurônios: Conceitos Básicos de Neurociências.* Rio de Janeiro: Atheneu; 2002. p. 341-73.

Li YP, Atkins CM, Sweatt JD, Reid MB. Mitochondria mediate tumor necrosis factor- α /NF- κ B signaling in skeletal muscle myotubes. *Antioxid Redox Signal.* 1999; 1(1):97-104.

Li YP, Reid MB. NF- κ B mediates the protein loss induced by TNF- α in differentiated skeletal muscle myotubes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000; 279(4):R1165-70.

Li YP, Schwartz RJ, Waddell ID, Holloway BR, Reid MB. Skeletal muscle myocytes undergo protein loss and reactive oxygen-mediated NF- κ B activation in response to tumor necrosis factor α . *FASEB J.* 1998; 12(10):871-80.

Lin M-C, Ebihara S, El Dwairi Q, Hussain SNA, Yang L, Gottfried SB, Comtois A, Petrof BJ. Diaphragm sarcolemmal injury is induced by sepsis and alleviated by nitric oxide synthase inhibition. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 158:1656-63.

Lin MI, Fulton D, Babbitt R, Fleming I, Busse R, Pritchard KA Jr, Sessa WC. Phosphorylation of threonine 497 in endothelial nitric-oxide synthase coordinates the coupling of L-arginine metabolism to efficient nitric oxide production. *J Biol Chem.* 2003; 278:44719-26.

Liu ZG, Hsu H, Goeddel DV, Karin M. Dissection of TNF receptor 1 effector functions: JNK activation is not linked to apoptosis while NF- κ B activation prevents cell death. *Cell.* 1996; 87(3):565-76.

Lopes-Martins RAB, Marcos RL, Leonardo PS, Prianti AC, Muscara MN, Aimbire F, Frigo L, Iversen VV, Bjordal JM. Effect of low-level laser (Ga-Al-As 655 nm) on skeletal muscle fatigue induced by electrical stimulation in rats. *J Appl Physiol*. 2006; 101:283-8.

Luss H, Li R-K, Shapiro RA, Tzeng E, McGowan FX, Yoneyama T, Hatakeyama K, Geller DA, Mickle DAG, Simmons RL, Billiar TR. Dedifferentiated human ventricular cardiac myocytes express inducible nitric oxide synthase mRNA but not protein in response to IL-1, TNF, IFN γ , and LPS. *J Mol Cell Cardiol*. 1997; 29:1153-65.

Lyons A, Kelly JL, Rodrick ML, Mannick JA, Lederer JA. Major injury induces increased production of interleukin-10 by cells of the immune system with a negative impact on resistance to infection. *Ann Surg*. 1997; 226(4):450-8.

Lyons CR, Orloff GJ, Cunningham JM. Molecular cloning and functional expression of an inducible nitric oxide synthase from a murine macrophage cell line. *J Biol Chem*. 1992; 267(9):6370-4.

MacAllister RJ, Fickling SA, Whitley GS, Vallance P. Metabolism of methylarginines by human vasculature; implications for the regulation of nitric oxide synthesis. *Br J Pharmacol*. 1994; 112(1):43-8.

Malencik DA, Anderson SR. Dityrosine as a product of oxidative stress and fluorescent probe. *Amino Acids*. 2003; 25:233-47.

Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Dig Dis Sci*. 2004; 49(9):1359-77.

Mangino MJ, Anderson CB, Murphy MK, Brunt E, Turk J. Mucosal arachidonate metabolism and intestinal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol*. 1989; 257:G299-307.

Marik PE, Raghavan M. Stress-hyperglycemia, insulin and immunomodulation in sepsis. *Intensive Care Med*. 2004; 30:748-56.

Marletta MA. Nitric oxide synthase: aspects concerning structure and catalysis. *Cell*. 1994; 78(6):927-30.

Marshall JC. Inflammation, coagulopathy, and the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med*. 2001; 29:S99-106.

McCord JM, Edeas, MA. SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biomed Pharmacother*. 2005; 59(4):139-42.

McCord JM, Roy RS. The pathophysiology of superoxide: roles in inflammation and ischemia. *Can J Physiol Pharmacol*. 1982; 60(11):1346-52.

Mehta VK, Hao W, Brooks-Worrell BM, Palmer JP. Low-dose interleukin 1 and tumor necrosis factor individually stimulate insulin release but in combination cause suppression. *Eur J Endocrinol*.1994; 130:208-14.

Meregalli A, Oliveira RP, Friedman G: Occult hypoperfusion is associated with increased mortality in hemodynamically stable, high-risk, surgical patients.*Crit Care*. 2004; 8:R60-5.

Metzger JM, Scheidt KB, Fitts RH. Histochemical and physiological characteristics of the rat diaphragm. *J Appl Physiol*. 1985; 58(4):1085-91.

Mizock BA, Falk JL: Lactic acidosis in critical illness. *Crit Care Med*. 1992; 20:80-93.

Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev*. 1991; 43(2):109-42.

Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*. 1993; 329(27):2002-12.

Mori M, Gotoh T. Arginine metabolic enzymes, nitric oxide and infection. *J Nutr*. 2004; 134:2820S-5S.

Mosser DM, Zhang X. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol Rev*. 2008; 226:205-18.

Naito Y, Takagi T, Ichikawa H, Tomatsuri N, Kuroda M, Isozaki Y, Katada K, Uchiyama K, Kokura S, Yoshida N, Okanue T, Yoshikawa TA. A novel potent inhibitor of inducible nitric oxide, ONO-1714, reduces intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. *Nitric Oxide*. 2004; 10:170-7.

Narita K, Kuwabara Y, Fujii Y. Lung injury after intestinal ischemia-reperfusion may be avoided by the reduced absorption of locally produced cytokines. *Surg Today*. 2004; 34:937-42.

Neder JA, Nery LE. Músculo esquelético. In:_. *Fisiologia Clínica do Exercício*. São Paulo: Artes Médicas; 2002.

Nelson DL, Cox MM. Oxidative phosphorylation and photophosphorylation. In:_. *Lehninger: Principles of Biochemistry*. 4. ed. New York: W.H. Freeman and Company; 2006; p. 690-724.

Nethery D, Stofan D, Callahan L, Dimarco A, Supinski G. Formation of reactive oxygen species by the contracting diaphragm is PLA2 dependent. *J Appl Physiol*. 1992; 73:1797-804.

Nezu Y, Tagawa M, Sakaue Y, Hara Y, Tsuchida S, Ogawa R. Kinetics of endotoxin concentration and tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-6 activities in the systemic and portal circulation during small intestinal ischemia and reperfusion in dogs. *Am J Vet Res*. 2002; 63:1680-6.

Ni B, Zhou J, Dong Y, Peng J, Wu X, Li R, Chen M, Zhou C, Tan YL, Wu Y. Interleukin-1 up-regulates the expression and activity of 26S proteasome in burned rat. *Burns*. 2007; 33:621-7.

Nielsen S, Pedersen BK. Skeletal muscle as an immunogenic organ. *Curr Opin Pharmacol*. 2008; 8:346–351.

Nguyen HB, Rivers EP, Knoblich BP, Jacobsen G, Muzzin A, Ressler JA, Tomlanovich MC: Early lactate clearance is associated with improved outcome in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med*. 2004; 32:1637-42.

Oldenburg WA, Lau LL, Rodenberg TJ, Edmonds HJ, Burger CD. Acute mesenteric ischemia. *Arch Intern Med*. 2004; 164:1054-62.

Palacio J, Gáldiz JB, Bech JJ, Mariñán M, Casadevall C, Martínez P, Gea J. Interleukin 10 and tumor necrosis factor alpha gene expression in respiratory and peripheral muscles. Relation to sarcolemmal damage. *Arch Bronconeumol*. 2002; 38(7):311-6.

Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, 1988; 333(6174):664-6.

Park CS, Park R, Krishna G. Constitutive expression and structural diversity of inducible isoform of nitric oxide synthase in human tissues. *Life Sci*. 1996; 59:219-25.

Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol*. 1986; 250:G749-53.

Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an endocrine organ: Focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev*. 2008; 88:1379-1406.

Petit F, Bagby GJ, Lang CH. Tumor necrosis factor mediates zymosan-induced increase in glucose flux and insulin resistance. *Am J Physiol*. 1995; 268:E219-28.

Piper RD, Pitt-Hyde ML, Anderson LA, Sibbald WJ, Potter RF. Leukocyte activation and flow behavior in rat skeletal muscle in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 157:129-34.

Poderoso JJ, Fernandez S, Carreras MC, Tchercanski D, Acevedo C, Rubio M, Peralta J, Boveris A. Liver oxygen uptake dependence and mitochondrial function in septic rats. *Circ Shock*. 1994; 44(4):175-82.

Poggetti RS, Moore FA, Moore EE, Banerjee A. Liver injury is a reversible neutrophil-mediated event following gut ischemia. *Arch Surg*. 1992; 127(2):175-81.

Pollock JS, Förstermann U, Mitchell JA, Warner TD, Schmidt HHW, Nakane M, Murad F. Purification and characterization of particulate endothelium-derived relaxing factor synthase

from cultured and native bovine aortic endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88:10480-4.

Protti A, Carré J, Frost MT, Taylor V, Stidwill R, Rudiger A, Singer M. Succinate recovers mitochondrial oxygen consumption in septic rat skeletal muscle. *Crit Care Med*. 2007; 35(9):2150-5.

Punkt K, Naupert A, Wellner M, Asmussen G, Schmidt C, Buchwalow IB. Nitric oxide synthase II in rat skeletal muscles. *Histochem Cell Biol*. 2002;118:371-9.

Putkey JA, Dotson DG, Mouawad P. Formation of inter- and intramolecular disulfide bonds can activate cardiac troponin C. *J Biol Chem*. 1993; 268:6827-30.

Qin Z, Reszka KJ, Fukai T, Weintraub NL. Extracellular superoxide dismutase (ecSOD) in vascular biology: an update on exogenous gene transfer and endogenous regulators of ecSOD. *Transl Res*. 2008; 151(2):68-78.

Raymond RM, Harkema JM, Emerson TE. Mechanism of increased glucose uptake by skeletal muscle during *E. coli* endotoxin shock in the dog. *Circ Shoc*. 1981; 8:77-93.

Reid MB. Role of nitric oxide in skeletal muscle: synthesis distribution and functional importance. *Acta Physiol Scand*. 1998; 162(3):401-9.

Reid MB. Free radicals and muscle fatigue: Of ROS, canaries, and the IOC. *Free Rad Biol Med*. 2008; 44:169-79.

Reid MB, Lännergren J, Westerblad H. Respiratory and limb muscle weakness induced by tumor necrosis factor: involvement of muscle myofilaments. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 166:479-84.

Robbins RA, Barnes PJ, Springall DR, Warren JB, Kwon OJ, Buttery DK, Wilson AJ, Geller DA, Polak JM. Expression of inducible nitric oxide in human lung epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994; 202(1):209-18.

Roh MS, Moldawer LL, Ekman LG, Dinarello CA, Bistrian BR, Jeevanandam M, Brennan MF. Stimulatory effect of interleukin-1 upon hepatic metabolism. *Metabolism*. 1986; 35:419-24.

Romanosky AJ, Bagby GJ, Bockman EL, Spitzer JJ. Increased muscle glucose uptake and lactate release after endotoxin administration. *Am J Physiol*. 1980; 239(2):E311-6.

Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork A, Lucchesi BR. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation*. 1983; 67:1016-23.

Rosser DM, Manji M, Cooksley H, Bellingan G. Endotoxin reduces maximal oxygen consumption in hepatocytes independent of any hypoxic insult. *Intensive Care Med.* 1998; 24(7):725-9.

Rothenbach P, Turnage RH, Iglesias J, Riva A, Bartula L, Myers SI. Downstream effects of splanchnic ischemia-reperfusion injury on renal function and eicosanoid release. *J Appl Physiol.* 1997; 82(2):530-6.

Roumen RM, Hendriks T, van der Ven-Jongekrijg J, Nieuwenhuijzen GA, Sauerwein RW, van der Meer JW, Goris RJ. Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma. Relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. *Ann Surg.* 1993; 218:769-76.

Saghizadeh M, Ong JM, Garvey WT, Henry RR, Kern PA. The expression of TNF alpha by human muscle. Relationship to insulin resistance. *J Clin Invest.* 1996; 97(4):1111-6.

Schlüter B, König B, Bergmann U, Müller FE, König W. Interleukin 6-a potential mediator of lethal sepsis after major thermal trauma: evidence for increased IL-6 production by peripheral blood mononuclear cells. *J Trauma.* 1991; 31:1663-70.

Schmauder-Chock EA, Chock SP, Patchen ML. Ultrastructural localization of tumour necrosis factor-alpha. *Histochem J.* 1994; 26(2):142-51.

Schmeling DJ, Caty MG, Oldham KT, Guice KS, Hinshaw DB. Evidence for neutrophil-related acute lung injury after intestinal ischemia-reperfusion. *Surgery.* 1989; 106(2):195-201.

Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med.* 1993; 21(9):1376-86.

Scott JA, Mehta S, Duggan M, Bihari A, McCormack DG. Functional inhibition of constitutive nitric oxide synthase in a rat model of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002; 165:1426-32.

Sen CK, Khanna S, Reznick AZ, Roy S, Packer L. Glutathione regulation of tumor necrosis factor-alpha-induced NF-kappa B activation in skeletal muscle-derived L6 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997; 237(3):645-9.

Seo HG, Takata I, Nakamura M, Tatsumi H, Suzuki K, Fujii J, Taniguchi N. Induction of nitric oxide synthase and concomitant suppression of superoxide dismutases in experimental colitis in rats. *Arch Biochem Biophys.* 1995; 324(1):41-7.

Shalaby MR, Waage A, Espevik T. Cytokine regulation of interleukin 6 production by human endothelial cells. *Cell Immunol.* 1989; 121:372-82

Shen W, Hintze TH, Wolin MS. Nitric Oxide: An important signaling mechanism between vascular endothelium and parenchymal cells in the regulation of oxygen consumption. *Circulation.* 1995; 92:3505-12.

Shenkar R, Abraham E. Effects of hemorrhage on cytokine gene transcription. *Lymphokine Cytokine Res.* 1993; 12:237-47.

Sherry RM, Cue JI, Goddard JK, Parramore JB, DiPiro JT. Interleukin-10 is associated with the development of sepsis in trauma patients. *J Trauma.* 1996; 40(4):613-7.

Shi W, Meininger CJ, Haynes TE, Hatakeyama K, Wu G. Regulation of tetrahydrobiopterin synthesis and bioavailability in endothelial cells. *Cell Biochem Biophys.* 2004; 41(3):415-34.

Shimahara Y, Ozawa K, Ida T, Ukikusa M, Tobe T. Role of mitochondrial enhancement in maintaining hepatic energy charge level in endotoxin shock. *J Surg Res.* 1982; 33:314-23.

Shimizu S, Ishii M, Kawakami Y, Kiuchi Y, Momose K, Yamamoto T. Presence of excess tetrahydrobiopterin during nitric oxide production from inducible nitric oxide synthase in LPS-treated rat aorta. *Life Sci.* 1999; 65(26):2169-79.

Shindoh C, Dimarco A, Nethery D, Supinski G. Effect of PEG-superoxide dismutase on the diaphragmatic response to endotoxin. *Am Rev Respir Dis.* 1992; 73(3):979-86.

Shindoh C, Hida W, Ohkawara Y, Yamauchi K, Ohno I, Takishima T, Shirato K. TNF- α mRNA expression in diaphragm muscle after endotoxin administration. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995; 152:1690-6.

Shreeniwas R, Koga S, Karakurum M, Pinsky D, Kaiser E, Brett J, Wolitzky BA, Norton C, Plocinski J, Benjamin W. Hypoxia-mediated induction of endothelial cell interleukin-1 α . An autocrine mechanism promoting expression of leukocyte adhesion molecules on the vessel surface. *J Clin Invest.* 1992; 90:2333-9.

Skillman JJ, Bushnell LS, Hedley-White J. Peritonitis and respiratory failure after abdominal operations. *Ann Surg.* 1969; 170:122-7.

Sieck GC, Zhan W-Z, Prakash YS, Daood MJ, Watchki JF. SDH and actomyosin ATPase activities of different fiber types in rat diaphragm muscle. *J Appl Physiol.* 1995; 79(5):1629-39.

Silvagno F, Xia H, Bredt DS. Neuronal nitric oxide synthase- μ , an alternatively spliced isoform expressed in differentiated skeletal muscle. *J Biol Chem.* 1996; 271(19):11204-8.

Smith MA, Reid MB. Redox modulation of contractile function in respiratory and limb skeletal muscle. *Respir Physiol Neurobiol.* 2006; 151(2-3):229-41.

Soop A, Albert J, Weitzberg E, Bengtsson A, Lundberg JO, Sollevi A. Complement activation, endothelin-1 and neuropeptide Y in relation to the cardiovascular response to endotoxin-induced systemic inflammation in healthy volunteers. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2004; 48(1):74-81.

Souza DG, Cassali GD, Poole S, Teixeira MM. Effects of inhibition of PDE4 and TNF- α on local and remote injuries following ischaemia and reperfusion injury. *Br J Pharmacol.* 2001; 134(5):985-94.

Souza DG, Guabiraba R, Pinho V, Bristow A, Poole S, Teixeira MM. IL-1-driven endogenous IL-10 production protects against the systemic and local acute inflammatory response following intestinal reperfusion injury. *J Immun.* 2003; 170: 4759-66.

Souza DG, Soares AC, Pinho V, Torloni H, Reis LF, Teixeira MM, Dias AA. Increased mortality and inflammation in tumor necrosis factor-stimulated gene-14 transgenic mice after ischemia and reperfusion injury. *Am J Pathol.* 2002; 160:1755-65.

Souza JM, Peluffo G, Radi R. Protein tyrosine nitration—Functional alteration or just a biomarker? *Free Radic Biol Med.* 2008; 45:357–66.

Song S-K, Karl IE, Ackerman JJH, Hotchkiss RS. Increased intracellular Ca^{2+} : A critical link in the pathophysiology of sepsis? *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993;90:3933-7.

Stadler J, Billiar TR, Curran RD, Stuehr DJ, Ochoa JB, Simmons RL. Effect of exogenous and endogenous nitric oxide on mitochondrial respiration of rat hepatocytes. *Am J Physiol.* 1991; 260(5 Pt 1):C910-6.

Stallion A, Kou TD, Latifi SQ, Miller KA, Dahms BB, Dudgeon DL, Levine AD. Ischemia/reperfusion: a clinically relevant model of intestinal injury yielding systemic inflammation. *J Pediatr Surg.* 2005; 40:470-7.

Sun Z, Wang X, Lasson Å, Börjesson A, Leveau P, Haraldsen P, Andersson R. Roles of platelet-activating factor, interleukin-1 β and interleukin-6 in intestinal barrier dysfunction induced by mesenteric arterial ischemia and reperfusion. *J Surg Res.* 1999; 87:90-100.

Supinski GS, Callahan LA. Free radical-mediated skeletal muscle dysfunction in inflammatory conditions. *J Appl Physiol.* 2007; 102(5):2056-63.

Swain G, Le T, Tigley AW, Beck P. Hypothalamic nitric oxide synthase is depressed in cholestatic rats. *Am J Physiol.* 1997; 272:G1034-40.

Szabó C. Alterations in nitric oxide production in various forms of circulatory shock. *New Horiz.* 1995;3(1):2-32.

Szabó C, Thiemermann C. Regulation of the expression of the inducible isoform of nitric oxide synthase. *Adv Pharmacol.* 1995; 34:113-53.

Tabuchi Y, Shinka S, Ishida H. The effects of anesthesia and surgery on count and function of neutrophils. *J Anesth.* 1989; 3(2):123-31.

Tanaka J, Kono Y, Shimahara Y, Sato T, Jones RT, Cowley RA, Trump BF. A study of oxidative phosphorylative activity and calcium- induced respiration of rat liver mitochondria following living *Escherichia coli* injection. *Adv Shock Res.* 1982; 7:77-90.

Tatoyan A , Giulivi C. Purification and characterization of a nitric oxide synthase from rat liver mitochondria. *J Biol Chem.* 1998; 273(18):11644-8.

Teixeira SA, Castro GM, Papes F, Martins ML, Rogério F, Langnone F, Santos LMB, Arruda P, de Nucci G, Muscara MN. Expression and activity of nitric oxide synthases isoforms in rat brain during the development of experimental allergic encephalomyelitis. *Brain Res Mol Brain Res.* 2002; 99(1):17-25.

Thompson J, van Furth R. The effect of glucocorticosteroids on the kinetics of mononuclear phagocytes. *J Exp Med.* 1970; 131(3):429-42.

Tilg H, Trehu E, Atkins MB, Dinarello CA, Mier JW. Interleukin- 6 (IL-6) as an anti-inflammatory cytokine: induction of circulating IL-1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor p55. *Blood.* 1994; 83:113-8

Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, Merryweather J, Wolpe S, Milsark IW, Hariri RJ, Fahey TJ 3rd, Zentella A, Albert JD, et al. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science.* 1986; 234:470-4.

Tsujinaka T, Fujita J, Ebisui C, Yano M, Kominami E, Suzuki K, Tanaka K, Katsume A, Ohsugi Y, Shiozaki H. Interleukin 6 receptor antibody inhibits muscle atrophy and modulates proteolytic systems in interleukin 6 transgenic mice. *J Clin Invest.* 1996; 97:244-9.

Tsuruma T, Yagihashi A, Hirata K, Matsuno T, Zou XM, Sasaki K, Asanuma K, Endo T. Evaluation of plasma IL-8 (CINC) concentration during ischemia and after reperfusion in the small intestine. *Transplant Proc.* 1996; 28(3):1917-8.

Turnage RH, Bagnasco J, Berger J, Guice KS, Oldham KT, Hinshaw DB. Hepatocellular oxidant stress following intestinal ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res.* 1991; 51(6):467-71.

Valera JM. Isquemia intestinal. *Gastr Latinoam.* 2006; 17(1):59-65.

Vallance P, Leiper J. Blocking NO synthesis: how, where and why? *Nature.* 2002; 1:939-50.

Van den Berghe G. Neuroendocrine pathobiology of chronic illness. *Crit Care Clin.* 2002; 18:509-28.

Van Surell C, Boczkowski J, Pasquier C, Du Y, Franzini E, Aubier M. Effects of N-acetylcysteine on diaphragmatic function and malondialdehyde content in *E. coli* endotoxemic rats. *Am Rev Resp Dis.* 1992; 146(3):730-4.

Varriano AA. Alterações clínicas e bioquímicas decorrentes do estresse crônico imprevisível e do estresse oxidativo em ratos [tese]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2008.

Vassilakopoulos T, Govindaraju K, Parthenis D, Eidelman DH, Watanabe Y, Hussain SNA. Nitric oxide production in the ventilatory muscles in response to acute resistive loading. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2007; 292:L1013-22.

Vincent J-L, Puri VK, Carlson RW, Weil MH. Acute respiratory failure in patients with generalized peritonitis. *Resuscitation*. 1980; 10:283-90.

Vincent J-L, Zhang H, Szabó C, Preiser JC. Effects of nitric oxide in septic shock. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 161(6):1781-5.

Viner RI, Ferrington DA, Williams TD, Bigelow DJ, Schöneich C. Protein modification during biological aging: selective tyrosine nitration of the SERCA2a isoform of the sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase in skeletal muscle. *Biochem J*. 1999; 340:657-69.

Walker CB, Bruce DM, Heys SD, Gough DB, Binnie NR, Eremin O. Minimal modulation of lymphocyte and natural killer cell subsets following minimal access surgery. *Am J Surg*. 1999; 177: 48-54.

Wasserman DH. Four grams of glucose. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008; 295:E11-21.

Wendt S, Schlattner U, Wallimann T. Differential effects of peroxynitrite on human mitochondrial creatine kinase isoenzymes. *J Biol Chem*. 2003; 278(2):1125-30.

Whidden MA, McClung JM, Falk DJ, Hudson MB, Smuder AJ, Nelson WB, Powers SK. Xanthine oxidase contributes to mechanical ventilation-induced diaphragmatic oxidative stress and contractile dysfunction. *J Appl Physiol*. 106: 385–94, 2009.

Williams AB, Decourten-Myers GM, Fischer JE, Luo G, Sun X, Hasselgren P-O. Sepsis stimulates release of myofilaments in skeletal muscle by a calcium-dependent mechanism. *FASEB J*. 1999;13:1435-43.

Williams DL Jr, Swenson CA. Disulfide bridges in tropomyosin: Effect on ATPase activity of actomyosin. *Eur J Biochem*. 1982; 127:495-9.

Williams G, Brown T, Becker L, Prager M, Giroir BP. Cytokine-induced expression of nitric oxide synthase in C2C12 skeletal muscle myocytes. *Am J Physiol*. 1994; 267:R1020-5.

Wolosker H, Panizzutti R, Engelender S. Inhibition of creatine kinase by S-nitrosoglutathione. *FEBS Lett*. 1996; 392:274-6.

Wyble CW, Desai TR, Clark ET, Hynes KL, Gewertz BL. Physiologic concentrations of TNFalpha and IL-1beta released from reperfused human intestine upregulate E-selectin and ICAM-1. *J Surg Res.* 1996; 63(1):333-8.

Xia R, Webb JA, Gnall LL, Cutler K, Abramson JJ. Skeletal muscle sarcoplasmic reticulum contains a NADH-dependent oxidase that generates superoxide. *Am J Physiol.* 2003; 285(1):C215-21.

Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, Achong MK. IL-6 is an anti-inflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest.* 1998; 101:311-20.

Xu KY, Zweier JL, Becker LC. Hydroxyl radical inhibits sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase function by direct attack on the ATP binding site. *Circ Res.* 1997; 80:76-81.

Yan SF, Tritto I, Pinsky D, Liao H, Huang J, Fuller G, Brett J, May L, Stern D. Induction of interleukin 6 (IL-6) by hypoxia in vascular cells. Central role of the binding site for nuclear factor-IL-6. *J Biol Chem.* 1995; 270:11463-71.

Yao YM, Bahrami S, Redl H, Fuerst S, Schlag G. IL-6 release after intestinal ischemia/reperfusion in rats is under partial control of TNF. *J Surg Res.* 1997; 70:21-6.

Yasuhara H. Acute mesenteric ischemia: the challenge of gastroenterology. *Surg Today.* 2005; 35:185-95.

Zhang Y, Pilon G, Marette A, Baracos VE. Cytokines and endotoxin induce cytokine receptors in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000; 279:E196-205.

Zimmerman BJ, Grisham MB, Granger DN. Mechanisms of oxidant-mediated microvascular injury following reperfusion of the ischemic intestine. *Basic Life Sci.* 1988; 49:881-6.

Zink W, Kaess M, Hofer S, Plachky J, Zausig YA, Sinner B, Weigand MA, Fink RHA, Graf BM. Alterations in intracellular Ca^{2+} -homeostasis of skeletal muscle fibers during sepsis. *Crit Care Med.* 2008; 36(5):1559-63.