

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Participação do óxido nítrico na expressão de vasopressina e
ocitocina durante sepse polimicrobiana experimental**

Gabriela Ravanelli de Oliveira Pelegrin

Ribeirão Preto
2009

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Participação do óxido nítrico na expressão de vasopressina e
ocitocina durante sepse polimicrobiana experimental**

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Biociências Aplicadas à Farmácia para
obtenção do Título de Doutor em
Biociências Aplicadas à Farmácia

Área de Concentração: Biociências
Aplicadas à Farmácia.

**Orientada: Gabriela Ravanelli de
Oliveira Pelegrin**

**Orientadora: Profa. Dra. Maria José
Alves da Rocha**

Ribeirão Preto
2009

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

Oliveira-Pelegrin, Gabriela Ravanelli de

Participação do óxido nítrico na expressão de vasopressina e
ocitocina durante sepse polimicrobiana experimental. Ribeirão
Preto, 2009.

118p. : il. ; 30cm.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração:
Biociências Aplicadas à Farmácia.

Orientadora: Rocha, Maria José Alves da.

1. Hipotálamo
2. Hipotensão
3. L-NAME
4. Aminoguanidina
5. ODQ

FOLHA DE APROVAÇÃO

Autora: Gabriela Ravanelli de Oliveira Pelegrin

Título: Participação do óxido nítrico na expressão de vasopressina e ocitocina durante sepse polimicrobiana experimental.

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Biociências aplicadas à Farmácia
para obtenção do Título de Doutor
em Biociências aplicadas à Farmácia

Área de concentração: Biociências
aplicadas à Farmácia

Orientadora: Profa. Dra. Maria José
Alves da Rocha

Aprovado em:

Banca examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Neuroendocrinologia II, do Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. A realização desse trabalho foi financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Proc. n° 02/11766-0, 05/50162-0 e 07/08532-0).

Dedico esse trabalho à minha querida e amada FAMÍLIA...

*...minha mãe **Leni**, que sempre me lembra que as escolhas determinam a felicidade e por isso devem ser feitas com seriedade e responsabilidade,*

*...meu pai **Toninho**, que a cada dia me mostra que fazer o que gosta é o segredo do sucesso e da realização dos sonhos,*

*...minha irmã **Marina**, que com suas poucas palavras me mostra que sempre existe um pouco mais além do que parece ser o limite,*

*...meu esposo **Daniel**, que me ensina que a paciência é uma arte fundamentada no amor, na amizade, compreensão e companheirismo.*

AGRADECIMENTOS

À querida amiga e orientadora **Majô** pela confiança, paciência, apoio constante e dedicação em ensinar que as adversidades são vencidas com responsabilidade e Ética.

“...a ciência de ensinar só triunfa integralmente no orientador que sabe amparar, esperar e repetir.”

(Emmanuel)

À querida amiga **Nadir Fernandes** pela atenção, carinho e imprescindível auxílio durante os experimentos com animais.

Ao **Mauro Ferreira** pela disponibilidade em solucionar problemas técnicos.

À **Lucimeire Resende** pela atenção e dedicação em resolver questões burocráticas.

Aos professores que abriram as portas de seus laboratórios e permitiram o uso de equipamentos imprescindíveis para a realização desse trabalho:

Prof. Dr. David Murphy, Laboratories of Integrative Neurosciences and Endocrinology (LINE), University of Bristol, Bristol, United Kingdom.

Profa. Dra. Evelin Capelari Cárnio, Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto – USP

Prof. Dr. José Antunes Rodrigues, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

Prof. Dr. Klaus Hartfelder, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

Prof. Dr. Luiz Guilherme Branco, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP

Prof. Dr. Sérgio Akira, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP

Profa. Dra. Zilá Simões, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

Aos técnicos desses laboratórios pelo auxílio no uso dos equipamentos e nas metodologias usadas:

Marcelo Batalhão, Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto – USP

Antonio Zanardo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP

Marina Holanda, Maria Valci Silva e Milene Mantovani Lopes, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da FCFRP-USP, **Rosana, Ana Lúcia, Eleni, Carlos Armando** pela atenção de sempre.

Ao Prof. Dr. Auro Nomizo pela amizade, atenção e dedicação durante o Estágio Supervisionado em Docência do Programa de Aperfeiçoamento de Ensino.

Aos amigos de Comissão Organizadora do II SINPOSPq (Simpósio Internacional de Pós-Graduação e Pesquisa da FCFRP-USP), **Adriana, Camila, Carla, Daniel, Letícia, Luciano, Maurício, Paula, Raquel, Saulo, Vicente e Wagner** pela união, determinação, alegria e amizade em todos os momentos. E aos docentes da FCFRP - USP que apoiaram e incentivaram esse importante aprendizado de organizar um evento científico internacional.

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Lúcia Helena Faccioli, presidente da Comissão de Biotério da FCFRP-USP e a Profa. Dra. Regina Celia Cândido, presidente da Comissão de Bolsas do Programa de Pós-Graduação em Biociências aplicadas à Farmácia pela oportunidade de participar dessas comissões.

Aos funcionários dos Biotérios pelo belo e importante trabalho que executam para manter a saúde dos animais para experimento.

Aos amigos e colegas de trabalho por compartilhar conhecimentos, angústias e alegrias do dia-a-dia:

Fábio, Paulo, Camila, Thalita, Walter, Wesley, Josilene, Adriana, Angelo, Pollyanna,

João Alexandre, Carla e Erick, Lab. Prof. Dra. Maria José, FORP-USP

Song Yao, Sabine Gouraud e Vagner Antunes, University of Bristol, Bristol, UK.

Wagner Reis e Beatriz Borges, Lab. Prof. Dr. Antunes, FMRP-USP

Rafael Saia e Juliana, Lab. Prof. Dra. Evelin, EERP-USP

Maria Ida Ravanelli, Lab. Prof. Dr. Guilherme Branco, FORP-USP

Eveline, Ana Paula e Priscila, Lab. Prof. Dra. Christie Panissi, FORP-USP

Renata, Flávia, Thaís e Vicente, Lab. Prof. Dr. Sérgio Akira, FCFRP-USP

e especialmente a

Letícia Athayde (FORP-USP) e Sergio Azevedo (FMRP-USP) pela amizade,

pela atenção e brilhante participação em alguns experimentos.

À FAPESP pelo apoio financeiro.

Enfim, muito obrigada a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

RESUMO

OLIVEIRA-PELEGRIN, G. R. Participação do óxido nítrico na expressão de vasopressina e ocitocina durante sepse polimicrobiana experimental. 2009. 118f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

Sepse induz exagerada produção de mediadores inflamatórios, como o óxido nítrico (NO), e causa alterações cardiovasculares, neuroendócrinas e de temperatura corporal (Tc). Na fase tardia da sepse existe liberação basal de vasopressina (AVP), apesar da hipotensão persistente. Uma hipótese para isso seria a inibição da síntese de AVP pelo aumento da produção de NO. Nossa objetivo foi investigar a possível participação do NO, produzido centralmente pelas isoformas de NO sintase (NOS), na expressão de AVP e ocitocina (OT), na resposta cardiovascular e de Tc durante sepse experimental. Ratos Wistar receberam injeção i.c.v. de L-NAME, inibidor não seletivo de NOS ($250\mu\text{g}/\mu\text{L}$), ou de aminoguanidina (AG, $250\mu\text{g}/\mu\text{L}$), inibidor seletivo da isoforma induzida (NOSi). Outro grupo recebeu inibidor da guanilato ciclase solúvel (ODQ, $0,25\mu\text{g}/\mu\text{L}$). Grupos controles receberam veículos (salina ou DMSO1%). Trinta minutos após as injeções, foi induzido sepse por ligadura e perfuração cecal (CLP) ou operação fictícia. Os animais foram divididos em 4 grupos: 1) avaliação da sobrevida, 2) determinação da Tc, 3) aferição da pressão arterial (PAM) e frequência cardíaca (FC) e 4) avaliação de parâmetros hidroeletrolíticos e secreção de AVP e OT. A CLP promoveu alta mortalidade, aumentou NO progressivamente, diminuiu PAM e aumentou FC. A concentração plasmática de AVP (AVPp) aumentou na fase inicial da sepse e por seu efeito antipirético pode ter contribuído para a hipotermia observada. A razão de expressão para ambos os hormônios diminuiu nos núcleos supraóticos (SON) e paraventriculares (PVN). Na fase tardia AVPp estava basal e sua expressão nos SON e PVN mais diminuída do que na fase inicial. A expressão de OT diminuiu somente no SON. O pré-tratamento com L-NAME aumentou a sobrevida, reduziu a produção de NO até 20h, aumentou PAM e Tc, e manteve a FC semelhante ao grupo veículo. AVPp aumentou simultaneamente à diminuição da razão de expressão em ambos os núcleos. Na fase tardia, o grupo L-NAME apresentou NO aumentado e expressão de AVP diminuída, aparentemente contribuindo para AVPp basal e hipotensão. O L-NAME diminuiu a razão de expressão de OT na fase inicial, mas aumentou na fase tardia. A inibição de NOSi pela AG aumentou ainda mais a sobrevida e Tc. Apesar de não bloquear a produção de NO a AG aumentou a expressão de AVP e OT e manteve AVPp constante e acima da basal. Injeção i.c.v de AG aumentou PAM somente na fase inicial da sepse. O pré-tratamento com ODQ foi o mais eficiente em aumentar a sobrevida e Tc após CLP. Entretanto, não alterou o aumento progressivo de NO, e ainda diminuiu a expressão de AVP e OT. A AVPp basal após ODQ contribuiu para a hipotensão observada durante todo o período. Esses resultados mostram que aumento central de NO após CLP inibe a expressão de AVP e OT independente de GMPc no SON e parcialmente dependente no PVN. A inibição da expressão de AVP na fase tardia da sepse resulta em concentração basal do hormônio contribuindo para a hipotensão. Em nossos experimentos o controle da temperatura corporal teve maior contribuição no aumento da sobrevida durante sepse polimicrobiana do que a regulação neuroendócrina e/ou cardiovascular.

Palavras-chaves: hipotálamo, hipotensão, L-NAME, aminoguanidina, ODQ.

ABSTRACT

OLIVEIRA-PELEGRIN, G.R. **Involvement of nitric oxide in vasopressin and oxytocin expression during experimental polymicrobial sepsis.** 2009. 118f. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

Sepsis induces massive production of inflammatory mediators, such as nitric oxide (NO), and causes cardiovascular, neuroendocrine and body temperature (T_b) alterations. In the late phase of sepsis there is a basal vasopressin (AVP) release despite the persisting hypotension. One reason could be the inhibition of AVP synthesis by the increase in NO production. Our aim was to investigate the possible involvement of NO, produced centrally by NO synthase (NOS) isoforms, on AVP and oxytocin (OT) expression, cardiovascular response and T_b during experimental sepsis. Male Wistar rats received an i.c.v. injection of the non-selective NOS inhibitor L-NAME (250µg/µL), or of aminoguanidine (AG,250µg/µL), a selective inhibitor of its inducible isoform (iNOS). Another group received soluble guanylate cyclase inhibitor (ODQ,0.25µg/µL). Control groups received vehicles (saline or DMSO1%). Thirty minutes after the injections, sepsis was induced by cecal ligation and puncture (CLP), or the rats were sham operated. The animals were divided into 4 groups for: 1) assessment of survival, 2) determination of T_b, 3) measurement of blood pressure (MAP) and heart rate (HR), and 4) evaluation of hydroelectrolytic parameters and AVP and OT secretion. The CLP promoted high mortality and progressive increase in NO levels. It also decreased MAP and increased HR. The AVP plasma concentration (AVPp) increased in the early phase of sepsis and its antipyretic effect may have contributed to the observed hypothermia. The expression ratio of both hormones was reduced in the supraoptic (SON) and paraventricular (PVN) nuclei. In the late phase, AVPp was basal and its expression decreased in both nuclei more than in the initial phase. The OT expression decreased only in the SON. L-NAME pretreatment increased the survival and reduced the NO production until 20h. MAP and T_b were increased, while HR remained similar to that observed in the vehicle control group. AVPp increased simultaneously to the decrease of its expression ratio in both nuclei. In the late phase, the L-NAME group showed NO levels increased and decreased AVP expression, apparently contributing to basal AVPp and hypotension. The L-NAME decreased OT expression ratio in the initial phase, but increased in the late phase. Inhibition of iNOS by AG further increased the survival and T_b. Even though AG did not block NO production, it increased AVP and OT expression and kept AVPp constant and above the baseline. AG pretreatment increased MAP only in the initial phase of sepsis. The ODQ pretreatment was more efficient to increase survival and T_b after CLP. However it neither altered the progressive NO increase nor the decrease in AVP and OT expression ratio. The basal AVPp after ODQ contributed to hypotension observed during the studied period. These results show that the increased central NO levels observed after CLP inhibit cGMP-independent hormone expression in the SON and partially dependent in the PVN. Inhibition of AVP expression, in the late phase of sepsis, results in basal concentrations of this hormone further contributing to hypotension. In our experiments the control of body temperature during polymicrobial sepsis had greater contribution in survival than the neuroendocrine and/or cardiovascular regulation.

Key words: hypothalamus, hypotension, L-NAME, aminoguanidine, ODQ.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cirurgia de ligadura e perfuração cecal.....	16
Figura 2. Foto ilustrativa do procedimento de dissecção de núcleos hipotalâmicos	23
Figura 3. Efeito do pré-tratamento intracerebroventricular com inibidores das enzimas óxido nítrico sintases e guanilato ciclase solúvel na sobrevida.	31
Figura 4. Efeito do pré-tratamento intracerebroventricular com inibidores das enzimas óxido nítrico sintases na temperatura corporal.	33
Figura 5. Índice hipotérmico da variação da temperatura corporal.....	34
Figura 6. Efeito do pré-tratamento intracerebroventricular com inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel na temperatura corporal.	35
Figura 7. Efeito do pré-tratamento intracerebroventricular com inibidores das enzimas óxido nítrico sintases e guanilato ciclase solúvel na pressão arterial média (PAM).	37
Figura 8. Índice de hipotensão da variação da pressão arterial média.	38
Figura 9. Efeito do pré-tratamento intracerebroventricular com inibidores das enzimas óxido nítrico sintases e guanilato ciclase solúvel frequência cardíaca (FC).	40
Figura 10. Índice FC da variação da frequência cardíaca.	41
Figura 11. Concentração plasmática de glicose (mg/dL).	43
Figura 12. Concentração plasmática de creatinina (mg/dL).	45
Figura 13. Efeito de inibidores das isoformas da enzima óxido nítrico sintase na porcentagem de hematócrito.....	47
Figura 14. Efeito do inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel na porcentagem de hematócrito.	48
Figura 15. Efeito de inibidores das isoformas da enzima óxido nítrico sintase na concentração de proteínas plasmáticas (g/dL).	50
Figura 16. Efeito do inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel na concentração de proteínas plasmáticas (g/dL).	51
Figura 17. Efeito de inibidores das isoformas da enzima óxido nítrico sintase na osmolalidade plasmática (mOsm/Kg).	53
Figura 18. Efeito do inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel na osmolalidade plasmática (mOsm/Kg).	54
Figura 19. Efeito de inibidores das isoformas da enzima óxido nítrico sintase na concentração de sódio sérico (meq/Kg).	56
Figura 20. Efeito do inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel na concentração de sódio sérico (meq/Kg).	57
Figura 21. Efeito de inibidores das isoformas da enzima óxido nítrico sintase na concentração de nitrato plasmático (µM).	59
Figura 22. Efeito do inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel na concentração de nitrato plasmático (µM).....	60
Figura 23. Efeito de inibidores das isoformas da enzima óxido nítrico sintase na concentração de vasopressina plasmática (pg/mL).	62
Figura 24. Efeito do inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel na concentração de vasopressina plasmática (pg/mL).	63
Figura 25. Gel de análise dos produtos da RT-PCR.	64
Figura 26. Curva de dissociação dos produtos de qPCR.	65
Figura 27. Eficiência de amplificação (E) e coeficiente de correlação (R^2) dos genes alvos e de referência	66
Figura 28. Estimação da estabilidade de genes referência.	67
Figura 29. Expressão relativa de vasopressina nos núcleos supraóticos (SON) do hipotálamo.	69
Figura 30. Expressão relativa de vasopressina nos núcleos paraventriculares (PVN) do hipotálamo.	71
Figura 31. Expressão relativa de ocitocina nos núcleos supraóticos (SON) do hipotálamo.	73
Figura 32. Expressão relativa de ocitocina nos núcleos paraventriculares (PVN) do hipotálamo.	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características dos “ <i>primers</i> ” usados nas reações de RT-PCR e qPCR	25
Tabela 2. Concentração plasmática de glicose (mg/dL).....	43
Tabela 3. Concentração plasmática de creatina (mg/dL).....	45
Tabela 4. Porcentagem de hematócrito nos grupos L-NAME, Aminoguanidina (AG) e veículo (salina)	47
Tabela 5. Porcentagem de hematócrito nos grupos ODQ e veículo (DMSO 1%)	48
Tabela 6. Concentração de proteínas plasmáticas (g/dL) nos grupos L-NAME, Aminoguanidina (AG) e veículo (salina).	50
Tabela 7. Concentração de proteínas plasmáticas (g/dL) nos grupos ODQ e veículo (DMSO 1%).....	51
Tabela 8. Osmolalidade plasmática (mOsm/Kg) nos grupos L-NAME, Aminoguanidina (AG) e veículo (salina).....	53
Tabela 9. Osmolalidade plasmática (mOsm/Kg) nos grupos ODQ e veículo (DMSO 1%).....	54
Tabela 10. Concentração de sódio sérico (meq/Kg) nos grupos L-NAME, Aminoguanidina (AG) e veículo (salina).	56
Tabela 11. Concentração de sódio sérico (meq/Kg) nos grupos ODQ e veículo (DMSO 1%)	57
Tabela 12. Concentração de nitrato plasmático (μ M) nos grupos L-NAME, Aminoguanidina (AG) e veículo (salina).	59
Tabela 13. Concentração de nitrato plasmático (μ M) nos grupos ODQ e veículo (DMSO 1%).....	60
Tabela 14. Concentração de vasopressina plasmática (pg/mL) nos grupos L-NAME, Aminoguanidina (AG) e veículo (salina).....	62
Tabela 15. Concentração de vasopressina plasmática (pg/mL) nos grupos ODQ e veículo (DMSO 1%)	63
Tabela 16. Características dos genes analisados por qPCR	64
Tabela 17. Eficiência de amplificação em qPCR	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Δ - variação	<i>n</i> – número de animais
^{125}I – isótopo radioativo de iodo	NA – noradrenalina
18S – RNA ribossomal subunidade 18S	NADPH – nicotinamida adenina dinucleotídeo
ACTb – β actina	fosfato, forma reduzida
AG – Aminoguanidina	NCBI – <i>National Center for Biotechnology Information</i>
ANP – peptídeo natriurético atrial	NF- $\kappa\beta$ - factor nuclear kappa B
AP – área postrema	NO – óxido nítrico
ATP – adenosina trifosfato	NOS – enzima óxido nítrico sintase
AVP – arginina-vasopressina	NOSe – NOS endotelial
BASES – <i>Brazilian Sepsis Epidemiological Study</i>	NOSi – NOS induzida
BHE – barreira hematoencefálica	NOSmt – NOS mitocondrial
bp – pares de bases	NOSn – NOS neuronal
bpm – batimentos por minuto	NTS – núcleo do trato solitário
cDNA – DNA complementar	$^{\circ}\text{C}$ – graus Celsius
CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais	ODQ – 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3,-a]quinoxalin-1-one
CLP – <i>cecal ligation and puncture</i> ou ligadura e	OF – operação fictícia
perfuração cecal	OT – ocitocina
CO – monóxido de carbono	OVLT – <i>organum vasculosum da lamina terminalis</i>
C_q – ciclos de quantificação	ou órgão vasculoso da lámina terminal
CVO – órgãos circumventriculares	PAF – fator ativador de plaquetas
DEPC - dietilpirocetonato	PAM – pressão arterial média
DMSO – dimetilsulfóxido	PB – núcleo parabraquial
DNA – ácido desoxiribonucléico	PCR - reação da polimerase em cadeia
DTT – ditioreitol	PGs – prostaglandinas
E – eficiência de amplificação	PVN – núcleos paraventriculares
EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético	qPCR – reação da polimerase em cadeia
FC – frequência cardíaca	quantitativa
Fos – <i>feline osteosarcoma</i>	R^2 – coeficiente de correlação
G - gauge	RefSeq - <i>Reference Sequence database</i>
<i>g</i> – gravidade	REST-MCS - <i>Relative Expression Software Tool - Multiple Condition Solver</i>
GABA - Ácido gama-aminobutírico	RNA – ácido ribonucléico
GAPDH – gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase	RNAm - RNA mensageiro
GCs – enzima guanilato ciclase solúvel	RT-PCR - <i>Reverse Transcriptase Polimerase Chain Reaction</i>
GMPc - 3',5'-Monofosfato de Guanosina Cíclica	RVLM – medula ventrolateral bulbar
<i>h</i> - hora (s)	seg – segundos
HCl – ácido clorídrico	SFO – órgão subfornicial
HO – heme oxigenase	SNA – sistema nervoso autônomo
i.c.v. – intracerebroventricular	SNC – sistema nervoso central
i.p. – intraperitoneal	SNK – Student Newman-Keuls
IFN- γ - interferon gama	SNK – Student- Newman-Keuls
IL – interleucina	SON – núcleos supraóticos
ILAS – Instituto Latino-Americano de Sepse	TAE – tampão tris-acetato
LC – Locus coeruleus	T_{amb} – temperatura ambiente
LCR – líquido cefalorraquidiano	Tb – <i>body temperature</i>
L-NAME – L-N ^G -Nitroarginina metil éster	TBE – tribroetanol
L-NMMA - N ^G -Monometil-L-Arginina	Tc – temperatura corporal
LPS – lipopolissacarídeo	TE – tampão tris-HCl-EDTA
LTA – ácido lipoteicóico	TNF α - fator de necrose tumoral alfa
LTs - leucotrienos	UI – unidades internacionais
mEq/L – mili equivalente por litro	
MgCl ₂ – cloreto de magnésio	
min – minuto (s)	
mmHg – milímetros de mercúrio	

INTRODUÇÃO

A presença de microorganismos patogênicos ou potencialmente patogênicos, como bactérias gram-negativas ou gram-positivas, fungos, parasitas ou vírus, em tecidos, ou fluidos ou cavidades corporais normalmente estéreis leva à infecção. Todo processo infeccioso desencadeia uma resposta inflamatória do hospedeiro, cuja magnitude pode ser diferente em cada indivíduo. A complexa interação entre o organismo e o agente infeccioso resulta no processo fisiopatológico que antigamente foi definido como septicemia e hoje é denominado sepse (BONE, 1991; BONE et al., 1992; BARON et al., 2006; VINCENT, KORKUT, 2008). As diferentes etapas desse processo foram inicialmente definidas por William Osler em 1892 (apud (BARON et al., 2006)). Em 1991 na Conferência de Consenso de Sepse foram padronizados parâmetros para identificação de cada uma dessas etapas (BONE et al., 1992). Esses parâmetros vêm sendo reavaliados nas subsequentes conferências e hoje compõem as diretrizes da “*Surviving Sepsis Campaign*” para diagnóstico precoce e tratamento adequado em cada etapa do processo fisiopatológico da sepse, com o objetivo único de diminuir a taxa de mortalidade (LEVY et al., 2003; SILVA et al., 2006; DELLINGER et al., 2008; VINCENT, KORKUT, 2008).

O desenvolvimento de alterações clínicas, hematológicas, bioquímicas e imunológicas associadas à infecção caracteriza a sepse, a qual quando complicada pela disfunção orgânica é denominada sepse severa. O choque séptico se refere a um estado de falência circulatória aguda com hipotensão arterial apesar da reposição volêmica fazendo-se necessário a terapia vasopressora para manutenção de uma pressão arterial a valores aceitáveis. A hipotensão, normalmente associada à alteração na perfusão tecidual, é definida como pressão arterial sistólica abaixo de 90mmHg ou redução de 40mmHg da pressão arterial média basal (BONE et al., 1992; LEVY et al., 2003; VINCENT, KORKUT, 2008).

No entanto, essa estratificação do processo fisiopatológico da sepse é muito simplista diante das múltiplas facetas dessa condição multifatorial, na qual existe interação de vários componentes, inclusive genético (HOLMES et al., 2003; TRENTZSCH et al., 2003; SALOMAO et al., 2009). Por isso, na conferência de 2003, para melhor caracterizar a gravidade do paciente em sepse foi proposto o conceito “PIRO” (*Predisposition, Insult infection,*

Response, Organ dysfunction), o qual considera, além da resposta inflamatória, também outros fatores que podem contribuir para o desenvolvimento e o desfecho do quadro séptico, como co-morbidades, idade, fatores genéticos, o processo infeccioso *per se* (tipo de microorganismo e local da infecção) e a função dos órgãos ou o grau de acometimento dos mesmos (LEVY et al., 2003; DELLINGER et al., 2008; VINCENT, KORKUT, 2008).

Sepse severa e choque séptico são as maiores causas de mortes em Unidades de Terapia Intensiva em todo o mundo (BONE, 1991; PARRILLO, 1993; BONE et al., 1997; ANGUS, WAX, 2001). No Brasil, Silva et al. (SILVA et al., 2004) encontraram incidência de 57 casos de sepse por 1000 pacientes por dia ao avaliarem cinco hospitais das regiões sul e sudeste no período de maio de 2001 a janeiro de 2002. De acordo com o Instituto Latino-Americano de Sepse (ILAS), em 2003 no Brasil aconteceram 398.000 casos e 227.000 mortes por choque séptico.

1.1. Fisiopatologia da sepse

A interação de vários componentes como infecciosos, imunológicos, endócrinos, hemodinâmicos, cardiovasculares e até mesmo genéticos (HOLMES et al., 2003; TRENTZSCH et al., 2003; DE MAIO et al., 2005; SALOMAO et al., 2009), pode levar a uma resposta exacerbada do organismo com produção de vários mediadores inflamatórios e consequentes alterações fisiológicas (BONE, 1991; PARRILLO, 1993; BONE et al., 1997; ANNANE et al., 2005; ROCHA et al., 2006).

A resposta inflamatória é, geralmente, causada pela ação de componentes da parede de bactérias, como o lipopolissacarídeo (LPS) das gram-negativas, ou o ácido lipoteicóico (LTA) das gram-positivas, embora também possa ser causada por fungos, vírus e parasitas (PARRILLO, 1993; GLAUSER et al., 1994; SANDS et al., 1997; THIEMERMANN, 1997; SALOMAO et al., 2002; HANNA, 2003). Em 85% dos casos de choque séptico há co-infecção de gram-negativas e gram-positivas (HANNA, 2003).

O fator de necrose tumoral α (TNF- α), as interleucinas (IL) 1, IL-6, IL-8, IL-12, interferon- γ (IFN- γ), óxido nítrico (NO), fator ativador de plaquetas (PAF),

leucotrienos e prostaglandinas (PGs) são alguns dos mediadores inflamatórios produzidos durante a sepse. Muitos desses apresentam interações complexas, podendo ser sinérgicas ou antagônicas, atuando para aumentar a resposta do hospedeiro à infecção e limitar a inflamação ou romper a homeostase por estimular a produção de outros mediadores (BONE, 1991; RIOS-SANTOS et al., 2003; BENJAMIM et al., 2005). A liberação excessiva de mediadores inflamatórios durante a sepse pode direta ou indiretamente ativar neurônios envolvidos em diferentes funções orgânicas, como autonômicas, neuroendócrinas e comportamentais (MCCANN et al., 2000; ENGBLOM et al., 2002; KOVACS, 2002).

1.2. Modelos de experimentais de sepse

A sepse em humanos é uma síndrome complexa e terapeuticamente desafiadora, na qual diversos sistemas orgânicos estão interligados e desequilibrados. Vários modelos experimentais têm sido desenvolvidos para o estudo dos aspectos fisiopatológicos e das consequências sistêmicas da sepse, assim como para investigação de agentes potencialmente terapêuticos e seus mecanismos de ação.

O modelo experimental ideal para sepse não existe, porque nenhum mimetiza completamente a complexidade clínica e a heterogeneidade de pacientes sépticos (ESMON, 2004; GARRIDO et al., 2004; DEITCH, 2005; RITTIRSCH et al., 2007). Entretanto, a sepse polimicrobiana por CLP tem sido um dos modelos experimentais mais amplamente usados e atualmente considerado como o “padrão ouro” (*“gold standard”*) na pesquisa de sepse (DEITCH, 2005; HUBBARD et al., 2005; RITTIRSCH et al., 2007). A presença de microbiota variada (bactéria gram-negativas, gram-positivas, aeróbias, anaeróbias) do próprio organismo, injúria tecidual, foco infeccioso, liberação de produtos bacterianos e progressão da infecção relacionam o modelo de CLP a problemas clínicos como perfurações colônicas e diverticulite (GARRIDO et al., 2004; HUBBARD et al., 2005; ROCHA et al., 2006; RITTIRSCH et al., 2007). Esse modelo experimental ainda apresenta vantagens como relativa simplicidade, reproduzibilidade e possibilidade de controlar o grau de

contaminação bacteriana na cavidade peritoneal, e consequentemente, a mortalidade, pela mudança do tamanho da agulha e/ou número de perfurações realizadas no ceco. Em contrapartida, variabilidades na mortalidade podem ser encontradas mesmo quando protocolos iguais são usados devido a fatores aos quais, na maioria das vezes, não são considerados como, por exemplo, diferenças no tamanho da incisão na pele e músculo, no comprimento ligado do ceco e volume de conteúdo fecal extravasado para a cavidade peritoneal (BAKER et al., 1983; DEITCH, 1998; SINGLETON, WISCHMEYER, 2003; GARRIDO et al., 2004; DEITCH, 2005; HUBBARD et al., 2005; ROCHA et al., 2006; RITTIRSCH et al., 2007). Por isso, a padronização do procedimento de indução da sepse polimicrobiana por CLP tem relevante importância na consistência e reproduzibilidade dos resultados.

1.3. Hormônios neurohipofisários: vasopressina e ocitocina

Os hormônios nonapeptídeos vasopressina (AVP) e ocitocina (OT) são sintetizados nos neurônios magnocelulares dos núcleos supraópticos (SON) e paraventriculares (PVN) do hipotálamo ou em agrupamentos de células espalhadas pelo hipotálamo lateral e medial, denominadas núcleos acessórios (DU VIGNEAUD, 1954; GEORGE, JACOBOWITZ, 1975; CUNNINGHAM, SAWCHENKO, 1991). As vesículas neurosecretórias são transportadas ao longo de axônios que se projetam desses núcleos para a neurohipófise. Os hormônios ficam estocados nas dilatações bulbosas das terminações nervosas na neurohipófise, as quais estão localizadas sobre as superfícies dos capilares para dentro dos quais AVP e OT são liberados mediante estímulos que geram potenciais de ação nas magnocélulas hipotalâmicas e se propagam axonalmente (SAWCHENKO, SWANSON, 1983; CUNNINGHAM, SAWCHENKO, 1991). Os estímulos mais potentes para liberação desses hormônios são aumento de osmolalidade plasmática, hipotensão e hipovolemia (DUNN et al., 1973; CUNNINGHAM, SAWCHENKO, 1991; KADEKARO et al., 1992). Outros estímulos como aumento de angiotensina II, febre, endotoxinas, prostaglandinas (PGs), interleucina 1 (IL-1), náusea e estresse também são capazes de estimular a liberação dos hormônios AVP e OT (NAITO et al., 1991;

PITTMAN, BAGDAN, 1992; PITTMAN, WILKINSON, 1992; HOLMES et al., 2001; GIUSTI-PAIVA et al., 2002; KOVACS, 2002).

Os nonapeptídeos AVP e OT diferem em apenas dois aminoácidos e apesar dos genes desses hormônios serem muito semelhantes também na organização intron-exon, a seqüência promotora 5' de ambos é diferente, consequentemente, a regulação e função são diferentes (IVELL, RICHTER, 1984). Contudo, a grande semelhança estrutural explica a parcial similaridade funcional entre AVP e OT. A vasopressina desempenha importante função na regulação da pressão arterial por ser um potente vasoconstritor (CUNNINGHAM, SAWCHENKO, 1991; HOLMES et al., 2001). A ocitocina causa queda da pressão arterial possivelmente por estimular a liberação do peptídeo atrial natriurético (ANP) (GUTKOWSKA et al., 2000; ANTUNES-RODRIGUES et al., 2004). Ambos AVP e OT ainda atuam como neurotransmissores com ações regulatórias da temperatura corporal (antipiréticos endógenos do sistema nervoso central), da pressão sanguínea e no controle comportamental (KOVACS, DE WIED, 1983; DE WIED et al., 1993; KOVACS, DE WIED, 1994; PITTMAN et al., 1998)

1.4. Hormônios neurohipofisários na sepse

A secreção de vasopressina apresenta uma resposta bifásica durante sepse clínica e experimental sendo muito mais estudada do que a ocitocina nesse contexto. Na fase inicial da sepse, estudos clínicos e experimentais relatam elevada concentração plasmática de AVP, mas no decorrer desse processo fisiopatológico, apesar da significativa queda da pressão arterial, a secreção de AVP diminui e as concentrações permanecem inadequadamente baixas, o que contribui para a hipotensão e choque vasodilatatório (LANDRY et al., 1997; GIUSTI-PAIVA et al., 2003; SHARSHAR et al., 2003; WESTPHAL et al., 2004; CORREA et al., 2007; PANCOTO et al., 2008; ATHAYDE et al., 2009; OLIVEIRA-PELEGREN et al., 2009).

Algumas hipóteses para a secreção inadequada de AVP na fase tardia da sepse são: diminuição dos estoques neurohipofisários (HOLMES et al., 2001; SHARSHAR et al., 2002; OLIVEIRA-PELEGREN et al., 2009); alteração

dos reflexos autonômicos (HOLMES et al., 2001; PANCOTO et al., 2008) e excessiva produção de óxido nítrico (NO) no sistema nervoso central, inibindo a liberação de AVP (HOLMES et al., 2001; GIUSTI-PAIVA et al., 2002; GIUSTI-PAIVA et al., 2005; CARNIO et al., 2006; ROCHA et al., 2006; CORREA et al., 2007).

1.5. Óxido nítrico (NO): mediador inflamatório e neurotransmissor gasoso

O NO faz parte de uma nova classe de mensageiros moleculares responsáveis pelo controle de uma grande variedade de funções biológicas. A produção desse radical livre biatômico é catalisada pela enzima NO sintase (NOS) que utiliza como precursor a L-arginina consumindo também NADPH e O₂ (PALMER, MONCADA, 1989; KNOWLES, MONCADA, 1994; THIEMERMANN, 1997; FEIHL et al., 2001). Existem três isoformas de NOS: a endotelial (NOSe) e a neuronal (NOSn) que são constitutivas e dependentes do aumento de cálcio intracelular para a ativação, e a isoforma induzida (NOSi) por citocinas, cuja ativação é independente de cálcio intracelular e a auto-inibição por NO é muito menos sensível que as constitutivas (THIEMERMANN, 1997; FEIHL et al., 2001). Apesar da meia-vida extremamente curta (poucos segundos), o NO em condições fisiológicas é um gás com passagem livre através de membranas biológicas (WELCH, LOSCALZO, 1994; FEIHL et al., 2001) e atua principalmente através da guanilato ciclase solúvel (GCs), que quando ativada, aumenta a produção de GMP cíclico (GMPc) (MONCADA et al., 1991; SOUTHAM, GARTHWAITE, 1993; NELSON et al., 1997; GUIX et al., 2005).

Durante a fase inicial da sepse, o aumento na produção de NO é importante e desejável, pois dentre os efeitos benéficos desse mediador estão a vasodilatação, prevenção da adesão plaquetária e leucocitária, aumento do fluxo sanguíneo na microcirculação, e aumento da defesa do hospedeiro por sua atividade bactericida e tumoricida. Porém, em fase mais tardia da sepse, provavelmente, quando há ativação também da NOS induzida (NOSi), a produção de NO é exagerada e isso contribui muito para as características fisiopatológicas da sepse, como intensa vasodilatação periférica, severa

hipotensão, hiporresponsividade a agentes vasoconstritores, disfunção miocárdica, falência no rolamento de leucócitos e redução da migração de neutrófilos para o foco inflamatório (MONCADA et al., 1991; THIEMERMANN, 1997; BENJAMIM et al., 2000; FEIHL et al., 2001; BENJAMIM et al., 2002; FERNANDES et al., 2006; RIOS-SANTOS et al., 2007).

O NO também participa da neurotransmissão e modulação neuroendócrina (BRANN et al., 1997; KADEKARO, 2004; GIUSTI-PAIVA et al., 2005). Esse mediador gasoso tem sido descrito como modulador inibitório da liberação de vasopressina, ocitocina e hormônio corticotrófico em neurônios magnocelulares e parvocelulares do hipotálamo (URIBE et al., 1999; GIUSTI-PAIVA et al., 2002; TERRELL et al., 2003; GIUSTI-PAIVA et al., 2005; CARNIO et al., 2006; ROCHA et al., 2006). No sistema nervoso central as enzimas NOS podem ser encontrada, principalmente no cerebelo e hipotálamo, e sua atividade pode ser bloqueada pela administração intracerebroventricular (i.c.v.) de inibidores não seletivos como L-NMMA e L-NAME (THIEMERMANN, 1997; KADEKARO et al., 1998; KADEKARO, SUMMY-LONG, 2000). A inibição da NOS pelo L-NAME resulta em aumento na freqüência de disparos de neurônios do SON em fatias de hipotálamo de ratos (LIU et al., 1997). Adicionalmente, a administração i.c.v. desse inibidor eleva as concentrações plasmáticas de AVP e OT, indicando que o NO pode tonicamente inibir a liberação desses hormônios (KADEKARO et al., 1998; KADEKARO, SUMMY-LONG, 2000; GIUSTI-PAIVA et al., 2003).

1.6. Óxido nítrico e hormônios neurohipofisários na sepse

A ativação do eixo hipotálamo-neurohipófise e liberação de AVP e OT tem sido observada em modelos experimentais de endotoxemia por LPS (GIUSTI-PAIVA et al., 2002; CARNIO et al., 2005; BORGES, DA ROCHA, 2006) e sepse polimicrobiana por CLP (CORREA et al., 2007; PANCOTO et al., 2008; ATHAYDE et al., 2009; OLIVEIRA-PELEGREN et al., 2009).

A produção de NO durante sepse polimicrobiana é menor e mais lenta do que no modelo de endotoxemia (VROMEN et al., 1996; FEIHL et al., 2001; CORREA et al., 2007; OLIVEIRA-PELEGREN et al., 2009). Na fase inicial da

sepse por CLP, quando a produção de NO ainda não está tão elevada, foi observado aumento na expressão de *c-fos* (proto-oncogene de expressão rápida indicativo de ativação celular) em magnocélulas ocitocinérgicas e vasopressinérgicas do SON e PVN, e em estruturas cerebrais que enviam aferências para esses núcleos, tais como, *organum vasculosum da lamina terminalis* (OVLT), órgão subfornical (SFO), núcleo do trato solitário (NTS), área postrema (AP), locus coeruleus (LC) e medula ventro lateral bulbar (RVLM) (CORREA et al., 2007; BRUHN et al., 2009). Essas estruturas cerebrais quando ativadas estimulam os SON e PVN e contribuem para o aumento na concentração plasmática de AVP (CORREA et al., 2007; OLIVEIRA-PELEGRIN et al., 2009). Porém, com o aumento progressivo de NO a fase tardia da sepse polimicrobiana foi marcada por diminuição no número de células imunorreativas a Fos nos SON e PVN do hipotálamo e, apesar do aumento no conteúdo hormonal nesses núcleos, há comprometimento na reposição dos estoques neurohipofisários de AVP resultando em concentração plasmática basal desse hormônio (CORREA et al., 2007; PANCOTO et al., 2008; ATHAYDE et al., 2009; OLIVEIRA-PELEGRIN et al., 2009).

A ativação neuronal pode implicar na alteração da síntese de AVP e OT. Alguns estudos sugerem que a proteína Fos juntamente com a proteína Jun formam heterodímeros que podem se ligar à região dos genes *avp* e *ot* modulando a transcrição dos mesmos (CURRAN, FRANZA, 1988; DA SILVEIRA et al., 2007). A diminuição na ativação neuronal em magnocélulas hipotalâmicas pode estar relacionada à modulação do NO, causando por exemplo, diminuição da síntese de AVP, o que explicaria a liberação basal desse hormônio na fase tardia da sepse.

HIPÓTESE E OBJETIVOS

A fase tardia da sepse clínica e experimental é caracterizada por concentração basal de vasopressina apesar da hipotensão persistente. Vasopressina e ocitocina são sintetizadas em neurônios magnocelulares dos núcleos supraóticos e paraventriculares do hipotálamo e estocadas na neurohipófise para liberação na circulação plasmática mediante estímulos como, por exemplo, a hipotensão. Na fisiopatologia da sepse a excessiva produção de mediadores infamatórios é a principal causa das alterações centrais e periféricas, como por exemplo, função neuroendócrina, regulação cardiovascular e termorregulação. Uma das hipóteses para a concentração basal de vasopressina na fase tardia da sepse é a inibição da síntese hormonal pelo aumento na produção central de óxido nítrico que atua principalmente pela ativação da guanilato ciclase solúvel e produção de GMP cíclico.

Os objetivos desse estudo foram investigar a possível participação do óxido nítrico, produzido centralmente pelas isoformas da enzima óxido nítrico sintase, na expressão de vasopressina e ocitocina, na resposta cardiovascular e na regulação da temperatura corporal durante sepse polimicrobiana experimental. Para isso nos propomos a responder as seguintes perguntas:

1 - Ausência ou menor produção de óxido nítrico seria benéfica na resposta neuroendócrina, cardiovascular e termorregulatória após sepse polimicrobiana?

2 – As alterações de liberação e/ou expressão hormonal nos núcleos hipotalâmicos durante a sepse é mediada por GMP cíclico?

3 – A melhora nas funções neuroendócrinas e cardiovasculares aumenta a sobrevida após sepse polimicrobiana?

CONCLUSÕES

- ✓ Inibição central de NO é benéfica para sobrevida e controle da temperatura corporal, mas o benefício nas funções neuroendócrinas e cardiovasculares se restringe a fase inicial da sepse polimicrobiana por CLP.
- ✓ O NO centralmente produzido pelas isoformas constitutivas e, principalmente, pela induzida de NOS após a sepse inibe a expressão de vasopressina e ocitocina de forma independente de GMPc no SON e parcialmente dependente da via NO-GCs-GMPc no PVN.
- ✓ A inibição da expressão de AVP na fase tardia da sepse, aparentemente, resulta em concentração basal do hormônio contribuindo para a hipotensão.
- ✓ A expressão de OT está intensamente diminuída no SON, mas aparentemente aumentada no PVN, sugerindo dissociação nos efeitos do NO em neurônios ocitocinérgicos de ambos os núcleos hipotalâmicos.
- ✓ O controle da temperatura corporal teve maior contribuição no aumento da sobrevida durante sepse polimicrobiana por CLP do que a regulação neuroendócrina e/ou cardiovascular.
- ✓ A hipotermia após sepse polimicrobiana pode ser mediada pela via NO-GMPc ativada pelo NO centralmente produzido, principalmente, pela NOS induzida, não podendo descartar a hipótese de participação de outros mediadores que atuam via GCs, como monóxido de carbono.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABU-SOUD, H. M., FELDMAN, P. L., CLARK, P., STUEHR, D. J. Electron transfer in the nitric-oxide synthases. Characterization of L-arginine analogs that block heme iron reduction. *J Biol Chem*, v.269, n.51, Dec 23, p.32318-32326. 1994.
- AHERN, G. P., HSU, S. F., JACKSON, M. B. Direct actions of nitric oxide on rat neurohypophysial K⁺ channels. *J Physiol*, v.520 Pt 1, Oct 1, p.165-176. 1999.
- ALMEIDA, M. C., TREVISAN, F. N., BARROS, R. C., CARNIO, E. C., BRANCO, L. G. Tolerance to lipopolysaccharide is related to the nitric oxide pathway. *Neuroreport*, v.10, n.14, Sep 29, p.3061-3065. 1999.
- ALMEIDA, M. C., PELA, I. R., BRANCO, L. G. Fever induced by platelet-derived growth factor, in contrast to fever induced by lipopolysaccharide, depends only on nitric oxide, but not on carbon monoxide pathway. *Eur J Pharmacol*, v.467, n.1-3, Apr 25, p.133-140. 2003.
- ANDERSEN, C. L., JENSEN, J. L., ORNTOFT, T. F. Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets. *Cancer Res*, v.64, n.15, Aug 1, p.5245-5250. 2004.
- ANDREW, P., DENG, Y., KAUFMAN, S. Fluid extravasation from spleen reduces blood volume in endotoxemia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v.278, n.1, Jan, p.R60-65. 2000.
- ANGUS, D. C., WAX, R. S. Epidemiology of sepsis: an update. *Crit Care Med*, v.29, n.7 Suppl, Jul, p.S109-116. 2001.
- ANNANE, D., TRABOLD, F., SHARSHAR, T., JARRIN, I., BLANC, A. S., RAPHAEL, J. C., GAJDOS, P. Inappropriate sympathetic activation at onset of septic shock: a spectral analysis approach. *Am J Respir Crit Care Med*, v.160, n.2, Aug, p.458-465. 1999.
- ANNANE, D., BELLISSANT, E., CAVAILLON, J. M. Septic shock. *Lancet*, v.365, n.9453, Jan 1, p.63-78. 2005.
- ANTUNES-RODRIGUES, J., DE CASTRO, M., ELIAS, L. L., VALENCA, M. M., MCCANN, S. M. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. *Physiol Rev*, v.84, n.1, Jan, p.169-208. 2004.
- ATHAYDE, L. A., OLIVEIRA-PELEGREN, G. R., NOMIZO, A., FACCIOLI, L. H., ROCHA, M. J. Blocking central leukotrienes synthesis affects vasopressin release during sepsis. *Neuroscience*, Mar 11. 2009a.
- ATHAYDE, L. A., OLIVEIRA-PELEGREN, G. R., NOMIZO, A., FACCIOLI, L. H., ROCHA, M. J. A. Blocking central leukotrienes synthesis affects vasopressin release during sepsis. *Neuroscience*, v. in press. 2009b.
- BAKER, C. C., CHAUDRY, I. H., GAINES, H. O., BAUE, A. E. Evaluation of factors affecting mortality rate after sepsis in a murine cecal ligation and puncture model. *Surgery*, v.94, n.2, Aug, p.331-335. 1983.
- BAL-PRICE, A., MONEER, Z., BROWN, G. C. Nitric oxide induces rapid, calcium-dependent release of vesicular glutamate and ATP from cultured rat astrocytes. *Glia*, v.40, n.3, Dec, p.312-323. 2002.
- BALTRONS, M. A., GARCIA, A. Nitric oxide-independent down-regulation of soluble guanylyl cyclase by bacterial endotoxin in astroglial cells. *J Neurochem*, v.73, n.5, Nov, p.2149-2157. 1999.
- BARON, R. M., BARON, M. J., PERRELLA, M. A. Pathobiology of sepsis: are we still asking the same questions? *Am J Respir Cell Mol Biol*, v.34, n.2, Feb, p.129-134. 2006.

- BENJAMIM, C. F., FERREIRA, S. H., CUNHA, F. Q. Role of nitric oxide in the failure of neutrophil migration in sepsis. *J Infect Dis*, v.182, n.1, Jul, p.214-223. 2000.
- BENJAMIM, C. F., SILVA, J. S., FORTES, Z. B., OLIVEIRA, M. A., FERREIRA, S. H., CUNHA, F. Q. Inhibition of leukocyte rolling by nitric oxide during sepsis leads to reduced migration of active microbicidal neutrophils. *Infect Immun*, v.70, n.7, Jul, p.3602-3610. 2002.
- BENJAMIM, C. F., CANETTI, C., CUNHA, F. Q., KUNKEL, S. L., PETERS-GOLDEN, M. Opposing and Hierarchical Roles of Leukotrienes in Local Innate Immune versus Vascular Responses in a Model of Sepsis. *J Immunol*, v.174, n.3, Feb 1, p.1616-1620. 2005.
- BOLANOS, J. P., PEUCHEN, S., HEALES, S. J., LAND, J. M., CLARK, J. B. Nitric oxide-mediated inhibition of the mitochondrial respiratory chain in cultured astrocytes. *J Neurochem*, v.63, n.3, Sep, p.910-916. 1994.
- BONE, R. C. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med*, v.115, n.6, Sep 15, p.457-469. 1991.
- BONE, R. C., SIBBALD, W. J., SPRUNG, C. L. The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. *Chest*, v.101, n.6, Jun, p.1481-1483. 1992.
- BONE, R. C., GRODZIN, C. J., BALK, R. A. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest*, v.112, n.1, Jul, p.235-243. 1997.
- BONEFELD, B. E., ELFVING, B., WEGENER, G. Reference genes for normalization: A study of rat brain tissue. *Synapse*, v.62, n.4, Apr, p.302-309. 2008.
- BORGES, B. C., DA ROCHA, M. J. Participation of the subfornical nucleus in hypothalamic-neurohypophyseal axis activation during the early phase of endotoxic shock. *Neurosci Lett*, v.404, n.1-2, Aug 14, p.227-231. 2006.
- BORUTAITE, V., MATTHIAS, A., HARRIS, H., MONCADA, S., BROWN, G. C. Reversible inhibition of cellular respiration by nitric oxide in vascular inflammation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v.281, n.6, Dec, p.H2256-2260. 2001.
- BRANN, D. W., BHAT, G. K., LAMAR, C. A., MAHESH, V. B. Gaseous transmitters and neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology*, v.65, n.6, Jun, p.385-395. 1997.
- BREDT, D. S., HWANG, P. M., SNYDER, S. H. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature*, v.347, n.6295, Oct 25, p.768-770. 1990.
- BREDT, D. S., GLATT, C. E., HWANG, P. M., FOTUHI, M., DAWSON, T. M., SNYDER, S. H. Nitric oxide synthase protein and mRNA are discretely localized in neuronal populations of the mammalian CNS together with NADPH diaphorase. *Neuron*, v.7, n.4, Oct, p.615-624. 1991.
- BROWN, G. C., COOPER, C. E. Nanomolar concentrations of nitric oxide reversibly inhibit synaptosomal respiration by competing with oxygen at cytochrome oxidase. *FEBS Lett*, v.356, n.2-3, Dec 19, p.295-298. 1994.
- BROWN, G. C. Nitric oxide and mitochondrial respiration. *Biochim Biophys Acta*, v.1411, n.2-3, May 5, p.351-369. 1999.
- BROWN, G. C., BORUTAITE, V. Nitric oxide, cytochrome c and mitochondria. *Biochem Soc Symp*, v.66, p.17-25. 1999.

- BRUHN, F. H. P., CORREA, P. B. C., OLIVEIRA-PELEGRIN, G. R., ROCHA, M. J. A. Blocking systemic nitric oxide production alters neuronal activation in brain structures involved in cardiovascular regulation during polymicrobial sepsis. *Neurosci Lett*, v.in press. 2009.
- BUSTIN, S. A., BENES, V., GARSON, J. A., HELLEMANS, J., HUGGETT, J., KUBISTA, M., MUELLER, R., NOLAN, T., PFAFFL, M. W., SHIPLEY, G. L., VANDESOMPELE, J., WITWER, C. T. The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. *Clin Chem*, Feb 26. 2009.
- CARARE, R. O., BERNARDES-SILVA, M., NEWMAN, T. A., PAGE, A. M., NICOLL, J. A., PERRY, V. H., WELLER, R. O. Solutes, but not cells, drain from the brain parenchyma along basement membranes of capillaries and arteries: significance for cerebral amyloid angiopathy and neuroimmunology. *Neuropathol Appl Neurobiol*, v.34, n.2, Apr, p.131-144. 2008.
- CARNIO, E. C., STABILE, A. M., BATALHAO, M. E., SILVA, J. S., ANTUNES-RODRIGUES, J., BRANCO, L. G., MAGDER, S. Vasopressin release during endotoxaemic shock in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Pflugers Arch*, v.450, n.6, Sep, p.390-394. 2005.
- CARNIO, E. C., MORETO, V., GIUSTI-PAIVA, A., ANTUNES-RODRIGUES, J. Neuro-immune-endocrine mechanisms during septic shock: role for nitric oxide in vasopressin and oxytocin release. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, v.6, n.2, Jun, p.137-142. 2006.
- CHAN, S. H., WANG, L. L., CHAN, J. Y. Differential engagements of glutamate and GABA receptors in cardiovascular actions of endogenous nNOS or iNOS at rostral ventrolateral medulla of rats. *Br J Pharmacol*, v.138, n.4, Feb, p.584-593. 2003.
- CHAUDRY, I. H., WICHTERMAN, K. A., BAUE, A. E. Effect of sepsis on tissue adenine nucleotide levels. *Surgery*, v.85, n.2, Feb, p.205-211. 1979.
- CHEN, Y. H., YET, S. F., PERRELLA, M. A. Role of heme oxygenase-1 in the regulation of blood pressure and cardiac function. *Exp Biol Med (Maywood)*, v.228, n.5, May, p.447-453. 2003.
- CORBETT, J. A., TILTON, R. G., CHANG, K., HASAN, K. S., IDO, Y., WANG, J. L., SWEETLAND, M. A., LANCASTER, J. R., JR., WILLIAMSON, J. R., MCDANIEL, M. L. Aminoguanidine, a novel inhibitor of nitric oxide formation, prevents diabetic vascular dysfunction. *Diabetes*, v.41, n.4, Apr, p.552-556. 1992.
- CORREA, P. B., PANCOTO, J. A., DE OLIVEIRA-PELEGRIN, G. R., CARNIO, E. C., ROCHA, M. J. Participation of iNOS-derived NO in hypothalamic activation and vasopressin release during polymicrobial sepsis. *J Neuroimmunol*, v.183, n.1-2, Feb, p.17-25. 2007.
- CUNNINGHAM, E. T., JR., SAWCHENKO, P. E. Reflex control of magnocellular vasopressin and oxytocin secretion. *Trends Neurosci*, v.14, n.9, Sep, p.406-411. 1991.
- CURRAN, T., FRANZA, B. R., JR. Fos and Jun: the AP-1 connection. *Cell*, v.55, n.3, Nov 4, p.395-397. 1988.
- DA SILVEIRA, L. T., JUNTA, C. M., MONESI, N., DE OLIVEIRA-PELEGRIN, G. R., PASSOS, G. A., ROCHA, M. J. Time course of c-fos, vasopressin and oxytocin mRNA expression in the hypothalamus following long-term dehydration. *Cell Mol Neurobiol*, v.27, n.5, Aug, p.575-584. 2007.
- DE MAIO, A., TORRES, M. B., REEVES, R. H. Genetic determinants influencing the response to injury, inflammation, and sepsis. *Shock*, v.23, n.1, Jan, p.11-17. 2005.
- DE WIED, D., DIAMANT, M., FODOR, M. Central nervous system effects of the neurohypophyseal hormones and related peptides. *Front Neuroendocrinol*, v.14, n.4, Oct, p.251-302. 1993.

- DEITCH, E. A. Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned. **Shock**, v.9, n.1, Jan, p.1-11. 1998.
- DEITCH, E. A. Rodent models of intra-abdominal infection. **Shock**, v.24 Suppl 1, Dec, p.19-23. 2005.
- DELLINGER, R. P., CARLET, J. M., MASUR, H., GERLACH, H., CALANDRA, T., COHEN, J., GEA-BANACLOCHE, J., KEH, D., MARSHALL, J. C., PARKER, M. M., RAMSAY, G., ZIMMERMAN, J. L., VINCENT, J. L., LEVY, M. M. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. **Crit Care Med**, v.32, n.3, Mar, p.858-873. 2004.
- DELLINGER, R. P., LEVY, M. M., CARLET, J. M., BION, J., PARKER, M. M., JAESCHKE, R., REINHART, K., ANGUS, D. C., BRUN-BUISSON, C., BEALE, R., CALANDRA, T., DHAINAUT, J. F., GERLACH, H., HARVEY, M., MARINI, J. J., MARSHALL, J., RANIERI, M., RAMSAY, G., SEVRANSKY, J., THOMPSON, B. T., TOWNSEND, S., VENDER, J. S., ZIMMERMAN, J. L., VINCENT, J. L. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. **Crit Care Med**, v.36, n.1, Jan, p.296-327. 2008.
- DEN OUDEN, D. T., MEINDERS, A. E. Vasopressin: physiology and clinical use in patients with vasodilatory shock: a review. **Neth J Med**, v.63, n.1, Jan, p.4-13. 2005.
- DENNINGER, J. W., MARLETTA, M. A. Guanylate cyclase and the .NO/cGMP signaling pathway. **Biochim Biophys Acta**, v.1411, n.2-3, May 5, p.334-350. 1999.
- DOWNS, T. R., DAGE, R. C., FRENCH, J. F. Reduction in endotoxin-induced organ dysfunction and cytokine secretion by a cyclic nitroso antioxidant. **Int J Immunopharmacol**, v.17, n.7, Jul, p.571-580. 1995.
- DU VIGNEAUD, V. Hormones of the posterior pituitary gland: oxytocin and vasopressin. **Harvey Lect**, v.50, p.1-26. 1954.
- DUNN, F. L., BRENNAN, T. J., NELSON, A. E., ROBERTSON, G. L. The role of blood osmolality and volume in regulating vasopressin secretion in the rat. **J Clin Invest**, v.52, p.3212-3219. 1973.
- ELAHI, D., MULLER, D. C., ANDERSEN, D. K., TOBIN, J. D., ANDRES, R. The effect of age and glucose concentration on insulin secretion by the isolated perfused rat pancreas. **Endocrinology**, v.116, n.1, Jan, p.11-16. 1985.
- ELFERING, S. L., SARKELA, T. M., GIULIVI, C. Biochemistry of mitochondrial nitric-oxide synthase. **J Biol Chem**, v.277, n.41, Oct 11, p.38079-38086. 2002.
- ENGBLOM, D., EK, M., SAHA, S., ERICSSON-DAHLSTRAND, A., JAKOBSSON, P. J., BLOMQVIST, A. Prostaglandins as inflammatory messengers across the blood-brain barrier. **J Mol Med**, v.80, n.1, Jan, p.5-15. 2002.
- ESMON, C. T. Why do animal models (sometimes) fail to mimic human sepsis? **Crit Care Med**, v.32, n.5 Suppl, May, p.S219-222. 2004.
- FEIHL, F., WAEBER, B., LIAUDET, L. Is nitric oxide overproduction the target of choice for the management of septic shock? **Pharmacol Ther**, v.91, n.3, Sep, p.179-213. 2001.
- FERNANDES, D., DA SILVA-SANTOS, J. E., DUMA, D., VILLELA, C. G., BARJA-FIDALGO, C., ASSREUY, J. Nitric oxide-dependent reduction in soluble guanylate cyclase functionality accounts for early lipopolysaccharide-induced changes in vascular reactivity. **Mol Pharmacol**, v.69, n.3, Mar, p.983-990. 2006.

- FERNANDES, D., ASSREUY, J. Nitric oxide and vascular reactivity in sepsis. **Shock**, v.30 Suppl 1, Oct, p.10-13. 2008.
- FERNANDES, D., SORDI, R., PACHECO, L. K., NARDI, G. M., HECKERT, B. T., VILLELA, C. G., LOBO, A. R., BARJA-FIDALGO, C., ASSREUY, J. Late, but not early, inhibition of soluble guanylate cyclase decreases mortality in a rat sepsis model. **J Pharmacol Exp Ther**, v.328, n.3, Mar, p.991-999. 2009.
- FISHEL, R. S., ARE, C., BARBUL, A. Vessel injury and capillary leak. **Crit Care Med**, v.31, n.8 Suppl, Aug, p.S502-511. 2003.
- GARRIDO, A. J., POLI DE FIGUEIREDO, L. F., ROCHA E SILVA, M. Experimental models of sepsis and septic shock: an overview. **Acta Cir Bras**, v.19, n.2, Mar-Apr, p.82-88. 2004.
- GARTHWAITE, J., SOUTHAM, E., BOULTON, C. L., NIELSEN, E. B., SCHMIDT, K., MAYER, B. Potent and selective inhibition of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase by 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one. **Mol Pharmacol**, v.48, n.2, Aug, p.184-188. 1995.
- GEORGE, J. M., JACOBOWITZ, D. M. Localization of vasopressin in discrete areas of the rat hypothalamus. **Brain Res**, v.93, n.2, Aug 8, p.363-366. 1975.
- GHAFOURIFAR, P., COLTON, C. A. Compartmentalized nitrosation and nitration in mitochondria. **Antioxid Redox Signal**, v.5, n.3, Jun, p.349-354. 2003.
- GHAFOURIFAR, P., CADENAS, E. Mitochondrial nitric oxide synthase. **Trends Pharmacol Sci**, v.26, n.4, Apr, p.190-195. 2005.
- GIUSTI-PAIVA, A., DE CASTRO, M., ANTUNES-RODRIGUES, J., CARNIO, E. C. Inducible nitric oxide synthase pathway in the central nervous system and vasopressin release during experimental septic shock. **Crit Care Med**, v.30, n.6, Jun, p.1306-1310. 2002.
- GIUSTI-PAIVA, A., BRANCO, L. G., DE CASTRO, M., ANTUNES-RODRIGUES, J., CARNIO, E. C. Role of nitric oxide in thermoregulation during septic shock: involvement of vasopressin. **Pflugers Arch**, v.447, n.2, Nov, p.175-180. 2003.
- GIUSTI-PAIVA, A., RUGINSK, S. G., DE CASTRO, M., ELIAS, L. L., CARNIO, E. C., ANTUNES-RODRIGUES, J. Role of nitric oxide in lipopolysaccharide-induced release of vasopressin in rats. **Neurosci Lett**, v.346, n.1-2, Jul 31, p.21-24. 2003.
- GIUSTI-PAIVA, A., ELIAS, L. L., ANTUNES-RODRIGUES, J. Inhibitory effect of gaseous neuromodulators in vasopressin and oxytocin release induced by endotoxin in rats. **Neurosci Lett**, v.381, n.3, Jun 24, p.320-324. 2005.
- GLAUSER, M. P., HEUMANN, D., BAUMGARTNER, J. D., COHEN, J. Pathogenesis and potential strategies for prevention and treatment of septic shock: an update. **Clin Infect Dis**, v.18 Suppl 2, Feb, p.S205-216. 1994.
- GOURAUD, S. S., YAO, S. T., HEESOM, K. J., PATON, J. F., MURPHY, D. 14-3-3 proteins within the hypothalamic-neurohypophyseal system of the osmotically stressed rat: transcriptomic and proteomic studies. **J Neuroendocrinol**, v.19, n.11, Nov, p.913-922. 2007.
- GOURINE, A. V., RUDOLPH, K., TESFAIGZI, J., KLUGER, M. J. Role of hypothalamic interleukin-1beta in fever induced by cecal ligation and puncture in rats. **Am J Physiol**, v.275, n.3 Pt 2, Sep, p.R754-761. 1998.

- GRANGE-MESSENT, V., RAISON, D., DUGAS, B., CALAS, A. Noradrenaline up-regulates the neuronal and the inducible nitric oxide synthase isoforms in magnocellular neurons of rat brain slices. *J Neurosci Res*, v.78, n.5, Dec 1, p.683-690. 2004.
- GRINEVICH, V., MA, X. M., VERBALIS, J., AGUILERA, G. Hypothalamic pituitary adrenal axis and hypothalamic-neurohypophyseal responsiveness in water-deprived rats. *Exp Neurol*, v.171, n.2, Oct, p.329-341. 2001.
- GRINEVICH, V., MA, X. M., JIRIKOWSKI, G., VERBALIS, J., AGUILERA, G. Lipopolysaccharide endotoxin potentiates the effect of osmotic stimulation on vasopressin synthesis and secretion in the rat hypothalamus. *J Neuroendocrinol*, v.15, n.2, Feb, p.141-149. 2003.
- GROSS, S. S., WOLIN, M. S. Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annu Rev Physiol*, v.57, p.737-769. 1995.
- GUIX, F. X., URIBESALGO, I., COMA, M., MUÑOZ, F. J. The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain. *Prog Neurobiol*, v.76, n.2, Jun, p.126-152. 2005.
- GUTKOWSKA, J., JANKOWSKI, M., MUKADDAM-DAHER, S., MCCANN, S. M. Oxytocin is a cardiovascular hormone. *Braz J Med Biol Res*, v.33, n.6, Jun, p.625-633. 2000.
- HANNA, N. Sepsis and septic shock. *Topics in Emergency Medicine*, v.25, n.2, p.158-165. 2003.
- HASAN, K., HEESEN, B. J., CORBETT, J. A., MCDANIEL, M. L., CHANG, K., ALLISON, W., WOLFFENBUTTEL, B. H., WILLIAMSON, J. R., TILTON, R. G. Inhibition of nitric oxide formation by guanidines. *Eur J Pharmacol*, v.249, n.1, Nov 2, p.101-106. 1993.
- HAYNES, V., ELFERING, S., TRAASETH, N., GIULIVI, C. Mitochondrial nitric-oxide synthase: enzyme expression, characterization, and regulation. *J Bioenerg Biomembr*, v.36, n.4, Aug, p.341-346. 2004.
- HEESCH, C. M., ZHENG, H., FOLEY, C. M., MUELLER, P. J., HASSE, E. M., PATEL, K. P. Nitric oxide synthase activity and expression are decreased in the paraventricular nucleus of pregnant rats. *Brain Res*, v.1251, Jan 28, p.140-150. 2009.
- HOETZEL, A., DOLINAY, T., SCHMIDT, R., CHOI, A. M., RYTER, S. W. Carbon monoxide in sepsis. *Antioxid Redox Signal*, v.9, n.11, Nov, p.2013-2026. 2007.
- HOLMES, C. L., PATEL, B. M., RUSSELL, J. A., WALLEY, K. R. Physiology of vasopressin relevant to management of septic shock. *Chest*, v.120, n.3, Sep, p.989-1002. 2001.
- HOLMES, C. L., RUSSELL, J. A., WALLEY, K. R. Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock: role in prognosis and potential for therapy. *Chest*, v.124, n.3, Sep, p.1103-1115. 2003.
- HORN, T., SMITH, P. M., MCLAUGHLIN, B. E., BAUCE, L., MARKS, G. S., PITTMAN, Q. J., FERGUSON, A. V. Nitric oxide actions in paraventricular nucleus: cardiovascular and neurochemical implications. *Am J Physiol*, v.266, n.1 Pt 2, Jan, p.R306-313. 1994.
- HUBBARD, W. J., CHOUDHRY, M., SCHWACHA, M. G., KERBY, J. D., RUE, L. W., 3RD, BLAND, K. I., CHAUDRY, I. H. Cecal ligation and puncture. *Shock*, v.24 Suppl 1, Dec, p.52-57. 2005.
- IGNARRO, L. J. Signal transduction mechanisms involving nitric oxide. *Biochem Pharmacol*, v.41, n.4, Feb 15, p.485-490. 1991.
- IVELL, R., RICHTER, D. Structure and comparison of the oxytocin and vasopressin genes from rat. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.81, n.7, Apr, p.2006-2010. 1984.

- JACOB, S. W., HERSCHLER, R. Pharmacology of DMSO. *Cryobiology*, v.23, n.1, Feb, p.14-27. 1986.
- JANKOWSKI, M., WANG, D., HAJJAR, F., MUKADDAM-DAHER, S., MCCANN, S. M., GUTKOWSKA, J. Oxytocin and its receptors are synthesized in the rat vasculature. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.97, n.11, May 23, p.6207-6211. 2000.
- JOHANSON, C. E., DUNCAN, J. A., 3RD, KLINGE, P. M., BRINKER, T., STOPA, E. G., SILVERBERG, G. D. Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: New challenges in health and disease. *Cerebrospinal Fluid Res*, v.5, p.10. 2008.
- KADEKARO, M., SUMMY-LONG, J. Y., FREEMAN, S., HARRIS, J. S., TERRELL, M. L., EISENBERG, H. M. Cerebral metabolic responses and vasopressin and oxytocin secretions during progressive water deprivation in rats. *Am J Physiol*, v.262, n.2 Pt 2, Feb, p.R310-317. 1992.
- KADEKARO, M., TERRELL, M. L., LIU, H., GESTL, S., BUI, V., SUMMY-LONG, J. Y. Effects of L-NAME on cerebral metabolic, vasopressin, oxytocin, and blood pressure responses in hemorrhaged rats. *Am J Physiol*, v.274, n.4 Pt 2, Apr, p.R1070-1077. 1998.
- KADEKARO, M., SUMMY-LONG, J. Y. Centrally produced nitric oxide and the regulation of body fluid and blood pressure homeostases. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, v.27, n.5-6, May-Jun, p.450-459. 2000.
- KADEKARO, M. Nitric oxide modulation of the hypothalamo-neurohypophyseal system. *Braz J Med Biol Res*, v.37, n.4, Apr, p.441-450. 2004.
- KNOWLES, R. G., MONCADA, S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J*, v.298 (Pt 2), Mar 1, p.249-258. 1994.
- KOVACS, G. L., DE WIED, D. Hormonally active arginine-vasopressin suppresses endotoxin-induced fever in rats: lack of effect of oxytocin and a behaviorally active vasopressin fragment. *Neuroendocrinology*, v.37, n.4, Oct, p.258-261. 1983.
- KOVACS, G. L., DE WIED, D. Peptidergic modulation of learning and memory processes. *Pharmacol Rev*, v.46, n.3, Sep, p.269-291. 1994.
- KOVACS, K. J. Neurohypophyseal hormones in the integration of physiological responses to immune challenges. *Prog Brain Res*, v.139, p.127-146. 2002.
- KRAFT-E-JACOBS, B., BRILLI, R., SZABO, C., DENENBERG, A., MOORE, L., SALZMAN, A. L. Circulating methemoglobin and nitrite/nitrate concentrations as indicators of nitric oxide overproduction in critically ill children with septic shock. *Crit Care Med*, v.25, n.9, Sep, p.1588-1593. 1997.
- KRUMENACKER, J. S., HANAFY, K. A., MURAD, F. Regulation of nitric oxide and soluble guanylyl cyclase. *Brain Res Bull*, v.62, n.6, Feb 15, p.505-515. 2004.
- KUO, P. C., SCHROEDER, R. A. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Ann Surg*, v.221, n.3, Mar, p.220-235. 1995.
- LANDRY, D. W., LEVIN, H. R., GALLANT, E. M., ASHTON, R. C., JR., SEO, S., D'ALESSANDRO, D., OZ, M. C., OLIVER, J. A. Vasopressin deficiency contributes to the vasodilation of septic shock. *Circulation*, v.95, n.5, Mar 4, p.1122-1125. 1997.
- LANDRY, D. W., OLIVER, J. A. The pathogenesis of vasodilatory shock. *N Engl J Med*, v.345, n.8, Aug 23, p.588-595. 2001.
- LANGOUCHE, L., VAN DEN BERGHE, G. Glucose metabolism and insulin therapy. *Crit Care Clin*, v.22, n.1, Jan, p.119-129, vii. 2006.

- LEFEVER, S., HELLEMANS, J., PATTYN, F., PRZYBYLSKI, D. R., TAYLOR, C., GEURTS, R., UNTERGASSER, A., VANDESOMPELE, J. RDML: structured language and reporting guidelines for real-time quantitative PCR data. *Nucleic Acids Res*, Feb 17. 2009.
- LEON, L. R., WHITE, A. A., KLUGER, M. J. Role of IL-6 and TNF in thermoregulation and survival during sepsis in mice. *Am J Physiol*, v.275, n.1 Pt 2, Jul, p.R269-277. 1998.
- LEVY, M. M., FINK, M. P., MARSHALL, J. C., ABRAHAM, E., ANGUS, D., COOK, D., COHEN, J., OPAL, S. M., VINCENT, J. L., RAMSAY, G. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med*, v.29, n.4, Apr, p.530-538. 2003a.
- LEVY, M. M., FINK, M. P., MARSHALL, J. C., ABRAHAM, E., ANGUS, D., COOK, D., COHEN, J., OPAL, S. M., VINCENT, J. L., RAMSAY, G. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*, v.31, n.4, Apr, p.1250-1256. 2003b.
- LIAW, W. J., CHEN, T. H., LAI, Z. Z., CHEN, S. J., CHEN, A., TZAO, C., WU, J. Y., WU, C. C. Effects of a membrane-permeable radical scavenger, Tempol, on intraperitoneal sepsis-induced organ injury in rats. *Shock*, v.23, n.1, Jan, p.88-96. 2005.
- LIU, Q. S., JIA, Y. S., JU, G. Nitric oxide inhibits neuronal activity in the supraoptic nucleus of the rat hypothalamic slices. *Brain Res Bull*, v.43, n.2, p.121-125. 1997.
- LIU, S. F., ADCOCK, I. M., OLD, R. W., BARNES, P. J., EVANS, T. W. Differential regulation of the constitutive and inducible nitric oxide synthase mRNA by lipopolysaccharide treatment in vivo in the rat. *Crit Care Med*, v.24, n.7, Jul, p.1219-1225. 1996.
- MANDER, P., BROWN, G. C. Nitric oxide, hypoxia and brain inflammation. *Biochem Soc Trans*, v.32, n.Pt 6, Dec, p.1068-1069. 2004.
- MANDER, P., BORUTAITE, V., MONCADA, S., BROWN, G. C. Nitric oxide from inflammatory-activated glia synergizes with hypoxia to induce neuronal death. *J Neurosci Res*, v.79, n.1-2, Jan 1-15, p.208-215. 2005.
- MARIK, P. E., RAGHAVAN, M. Stress-hyperglycemia, insulin and immunomodulation in sepsis. *Intensive Care Med*, v.30, n.5, May, p.748-756. 2004.
- MCCANN, S. M., KIMURA, M., KARANTH, S., YU, W. H., MASTRONARDI, C. A., RETTORI, V. The mechanism of action of cytokines to control the release of hypothalamic and pituitary hormones in infection. *Ann N Y Acad Sci*, v.917, p.4-18. 2000.
- MISKO, T. P., MOORE, W. M., KASTEN, T. P., NICKOLS, G. A., CORBETT, J. A., TILTON, R. G., McDANIEL, M. L., WILLIAMSON, J. R., CURRIE, M. G. Selective inhibition of the inducible nitric oxide synthase by aminoguanidine. *Eur J Pharmacol*, v.233, n.1, Mar 16, p.119-125. 1993.
- MONCADA, S., PALMER, R. M., HIGGS, E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*, v.43, n.2, Jun, p.109-142. 1991.
- MONCADA, S., HIGGS, A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*, v.329, n.27, Dec 30, p.2002-2012. 1993.
- NAITO, Y., FUKATA, J., SHINDO, K., EBISUI, O., MURAKAMI, N., TOMINAGA, T., NAKAI, Y., MORI, K., KASTING, N. W., IMURA, H. Effects of interleukins on plasma arginine vasopressin and oxytocin levels in conscious, freely moving rats. *Biochem Biophys Res Commun*, v.174, n.3, Feb 14, p.1189-1195. 1991.

- NELSON, R. J., KRIEGSFELD, L. J., DAWSON, V. L., DAWSON, T. M. Effects of nitric oxide on neuroendocrine function and behavior. *Front Neuroendocrinol*, v.18, n.4, Oct, p.463-491. 1997.
- NEMZEK, J. A., XIAO, H. Y., MINARD, A. E., BOLGOS, G. L., REMICK, D. G. Humane endpoints in shock research. *Shock*, v.21, n.1, Jan, p.17-25. 2004.
- NILSSON, B. O. Biological effects of aminoguanidine: an update. *Inflamm Res*, v.48, n.10, Oct, p.509-515. 1999.
- OLIVEIRA-PELEGREN, G. R., RAVANELLI, M. I., BRANCO, L. G., ROCHA, M. J. Thermoregulation and vasopressin secretion during polymicrobial sepsis. *Neuroimmunomodulation*, v.16, n.1, Jan, p.45-53. 2009.
- OLIVEIRA, G. R., FRANCI, C. R., RODOVALHO, G. V., FRANCI, J. A., MORRIS, M., ROCHA, M. J. Alterations in the central vasopressin and oxytocin axis after lesion of a brain osmotic sensory region. *Brain Res Bull*, v.63, n.6, Jul 15, p.515-520. 2004.
- OLIVEIRA, G. R., ELIAS, L. L. K., ANTUNES-RODRIGUES, J., DA ROCHA, M. J. A. Time course of nitric oxide formation and secretion of vasopressin and oxytocin in an experimental model of polymicrobial sepsis. *Faseb Journal*, v.19, n.5, Mar, p.A1222-A1222. 2005.
- OTA, M., CROFTON, J. T., FESTAVAN, G. T., SHARE, L. Evidence that nitric oxide can act centrally to stimulate vasopressin release. *Neuroendocrinology*, v.57, n.5, May, p.955-959. 1993.
- PALKOVITS, M. Isolated removal of hypothalamic or other brain nuclei of the rat. *Brain Res*, v.59, Sep 14, p.449-450. 1973.
- PALMER, R. M., MONCADA, S. A novel citrulline-forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, v.158, n.1, Jan 16, p.348-352. 1989.
- PANCOTO, J. A., CORREA, P. B., OLIVEIRA-PELEGREN, G. R., ROCHA, M. J. Autonomic dysfunction in experimental sepsis induced by cecal ligation and puncture. *Auton Neurosci*, v.138, n.1-2, Feb 29, p.57-63. 2008.
- PARRILLO, J. E. Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med*, v.328, n.20, May 20, p.1471-1477. 1993.
- PEDRAZA, C. E., BALTRONS, M. A., HENEKA, M. T., GARCIA, A. Interleukin-1 beta and lipopolysaccharide decrease soluble guanylyl cyclase in brain cells: NO-independent destabilization of protein and NO-dependent decrease of mRNA. *J Neuroimmunol*, v.144, n.1-2, Nov, p.80-90. 2003.
- PETERS-GOLDEN, M., HENDERSON, W. R., JR. Leukotrienes. *N Engl J Med*, v.357, n.18, Nov 1, p.1841-1854. 2007.
- PETERSSON, M. Cardiovascular effects of oxytocin. *Prog Brain Res*, v.139, p.281-288. 2002.
- PFAFFL, M. W., HORGAN, G. W., DEMPFL, L. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res*, v.30, n.9, May 1, p.e36. 2002.
- PITTMAN, Q. J., BAGDAN, B. Vasopressin involvement in central control of blood pressure. *Prog Brain Res*, v.91, p.69-74. 1992.
- PITTMAN, Q. J., WILKINSON, M. F. Central arginine vasopressin and endogenous antipyresis. *Can J Physiol Pharmacol*, v.70, n.5, May, p.786-790. 1992.

- PITTMAN, Q. J., CHEN, X., MOUIHATE, A., HIRASAWA, M., MARTIN, S. Arginine vasopressin, fever and temperature regulation. *Prog Brain Res*, v.119, p.383-392. 1998.
- RAFFAINI, M. S., DIAS, M. B., BRANCO, L. G. Central heme oxygenase-carbon monoxide pathway participates in the lipopolysaccharide-induced tolerance in rats. *Brain Res*, v.1111, n.1, Sep 21, p.83-89. 2006.
- RAVANELLI, M. I., ALMEIDA, M. C., BRANCO, L. G. Role of the locus coeruleus carbon monoxide pathway in endotoxin fever in rats. *Pflugers Arch*, v.453, n.4, Jan, p.471-476. 2007.
- REMICK, D. G., VILLARETE, L. Regulation of cytokine gene expression by reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates. *J Leukoc Biol*, v.59, n.4, Apr, p.471-475. 1996.
- REMICK, D. G., XIAO, H. Hypothermia and sepsis. *Front Biosci*, v.11, p.1006-1013. 2006.
- RIOS-SANTOS, F., BENJAMIM, C. F., ZAVERY, D., FERREIRA, S. H., CUNHA FDE, O. A critical role of leukotriene B4 in neutrophil migration to infectious focus in cecal ligation and puncture sepsis. *Shock*, v.19, n.1, Jan, p.61-65. 2003.
- RIOS-SANTOS, F., ALVES-FILHO, J. C., SOUTO, F. O., SPILLER, F., FREITAS, A., LOTUFO, C. M., SOARES, M. B., DOS SANTOS, R. R., TEIXEIRA, M. M., DE QUEIROZ CUNHA, F. Down-regulation of CXCR2 on neutrophils in severe sepsis is mediated by inducible nitric oxide synthase-derived nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med*, v.175, n.5, Mar 1, p.490-497. 2007.
- RITTIRSCH, D., HOESEL, L. M., WARD, P. A. The disconnect between animal models of sepsis and human sepsis. *J Leukoc Biol*, v.81, n.1, Jan, p.137-143. 2007.
- RIVEST, S., LACROIX, S., VALLIERES, L., NADEAU, S., ZHANG, J., LAFLAMME, N. How the blood talks to the brain parenchyma and the paraventricular nucleus of the hypothalamus during systemic inflammatory and infectious stimuli. *Proc Soc Exp Biol Med*, v.223, n.1, Jan, p.22-38. 2000.
- RIVIER, C. Role of nitric oxide in regulating the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to endotoxemia. *Ann N Y Acad Sci*, v.992, May, p.72-85. 2003.
- ROCHA, M. J. A., OLIVEIRA, G. R., FARIA-CORRÊA, P. B. Neurohypophyseal hormone secretion during septic shock. In: CHEN, F. J. (Ed.). *New Trends in Brain Research*. New York: Nova Science Publishers, 2006. Neurohypophyseal hormone secretion during septic shock, p.75-94
- SAIA, R. S., CARNIO, E. C. Thermoregulatory role of inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-induced hypothermia. *Life Sci*, v.79, n.15, Sep 5, p.1473-1478. 2006.
- SAIA, R. S., ANSELMO-FRANCI, J. A., CARNIO, E. C. Hypothermia during endotoxemic shock in female mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Shock*, v.29, n.1, Jan, p.119-126. 2008.
- SAITO, H., SHERWOOD, E. R., VARMA, T. K., EVERE, B. M. Effects of aging on mortality, hypothermia, and cytokine induction in mice with endotoxemia or sepsis. *Mech Ageing Dev*, v.124, n.10-12, Dec, p.1047-1058. 2003.
- SALOMAO, R., BRUNIALTI, M. K., KALLAS, E. G., MARTINS, P. S., RIGATO, O., FREUDENBERG, M. Lipopolysaccharide-cell interaction and induced cellular activation in whole blood of septic patients. *J Endotoxin Res*, v.8, n.5, p.371-379. 2002.
- SALOMAO, R., BRUNIALTI, M. K., GOMES, N. E., MENDES, M. E., DIAZ, R. S., KOMNINAKIS, S., MACHADO, F. R., DA SILVA, I. D., RIGATO, O. Toll-like receptor pathway signaling is differently

- regulated in neutrophils and peripheral mononuclear cells of patients with sepsis, severe sepsis, and septic shock. *Crit Care Med*, v.37, n.1, Jan, p.132-139. 2009.
- SANDS, K. E., BATES, D. W., LANKEN, P. N., GRAMAN, P. S., HIBBERD, P. L., KAHN, K. L., PARSONNET, J., PANZER, R., ORAV, E. J., SNYDMAN, D. R. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group. *Jama*, v.278, n.3, Jul 16, p.234-240. 1997.
- SARDON, T., BALTRONS, M. A., GARCIA, A. Nitric oxide-dependent and independent down-regulation of NO-sensitive guanylyl cyclase in neural cells. *Toxicol Lett*, v.149, n.1-3, Apr 1, p.75-83. 2004.
- SARKELA, T. M., BERTHIAUME, J., ELFERING, S., GYBINA, A. A., GIULIVI, C. The modulation of oxygen radical production by nitric oxide in mitochondria. *J Biol Chem*, v.276, n.10, Mar 9, p.6945-6949. 2001.
- SAWCHENKO, P. E., SWANSON, L. W. Immunohistochemical identification of neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus that project to the medulla or to the spinal cord in the rat. *J Comp Neurol*, v.205, n.3, Mar 1, p.260-272. 1982.
- SAWCHENKO, P. E., SWANSON, L. W. The organization of forebrain afferents to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *J Comp Neurol*, v.218, n.2, Aug 1, p.121-144. 1983.
- SCHRAMMEL, A., BEHREND, S., SCHMIDT, K., KOESLING, D., MAYER, B. Characterization of 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one as a heme-site inhibitor of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase. *Mol Pharmacol*, v.50, n.1, Jul, p.1-5. 1996.
- SCOTT, W. S., NAKAYAMA, D. K. Escherichia coli lipopolysaccharide downregulates soluble guanylate cyclase in pulmonary artery smooth muscle. *J Surg Res*, v.80, n.2, Dec, p.309-314. 1998.
- SHARSHAR, T., CARLIER, R., BLANCHARD, A., FEYDY, A., GRAY, F., PAILLARD, M., RAPHAEL, J. C., GAJDOS, P., ANNANE, D. Depletion of neurohypophyseal content of vasopressin in septic shock. *Crit Care Med*, v.30, n.3, Mar, p.497-500. 2002.
- SHARSHAR, T., BLANCHARD, A., PAILLARD, M., RAPHAEL, J. C., GAJDOS, P., ANNANE, D. Circulating vasopressin levels in septic shock. *Crit Care Med*, v.31, n.6, Jun, p.1752-1758. 2003.
- SHARSHAR, T., GRAY, F., LORIN DE LA GRANDMAISON, G., HOPKINSON, N. S., ROSS, E., DORANDEU, A., ORLIKOWSKI, D., RAPHAEL, J. C., GAJDOS, P., ANNANE, D. Apoptosis of neurons in cardiovascular autonomic centres triggered by inducible nitric oxide synthase after death from septic shock. *Lancet*, v.362, n.9398, Nov 29, p.1799-1805. 2003.
- SHARSHAR, T., HOPKINSON, N. S., ORLIKOWSKI, D., ANNANE, D. Science review: The brain in sepsis--culprit and victim. *Crit Care*, v.9, n.1, Feb, p.37-44. 2005.
- SILVA, E., PEDRO MDE, A., SOGAYAR, A. C., MOHOVIC, T., SILVA, C. L., JANISZEWSKI, M., CAL, R. G., DE SOUSA, E. F., ABE, T. P., DE ANDRADE, J., DE MATOS, J. D., REZENDE, E., ASSUNCAO, M., AVEZUM, A., ROCHA, P. C., DE MATOS, G. F., BENTO, A. M., CORREA, A. D., VIEIRA, P. C., KNOBEL, E. Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). *Crit Care*, v.8, n.4, Aug, p.R251-260. 2004.
- SILVA, E., AKAMINE, N., SALOMAO, R., TOWNSEND, S. R., DELLINGER, R. P., LEVY, M. Surviving sepsis campaign: a project to change sepsis trajectory. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, v.6, n.2, Jun, p.217-222. 2006.
- SIMON, E. Nitric oxide as a peripheral and central mediator in temperature regulation. *Amino Acids*, v.14, n.1-3, p.87-93. 1998.

- SINGLETON, K. D., WISCHMEYER, P. E. Distance of cecum ligated influences mortality, tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 expression following cecal ligation and puncture in the rat. *Eur Surg Res*, v.35, n.6, Nov-Dec, p.486-491. 2003.
- SOSZYNSKI, D., CHELMINIAK, M. Intracerebroventricular injection of neuronal and inducible nitric oxide synthase inhibitors attenuates fever due to LPS in rats. *J Physiol Pharmacol*, v.58, n.3, Sep, p.551-561. 2007.
- SOUTHAM, E., GARTHWAITE, J. The nitric oxide-cyclic GMP signalling pathway in rat brain. *Neuropharmacology*, v.32, n.11, Nov, p.1267-1277. 1993.
- SOUTHAM, E., GARTHWAITE, J. Nitric oxide-cyclic GMP pathway in brain slices. *Methods Enzymol*, v.269, p.129-133. 1996.
- STEINER, A. A., CARNIO, E. C., ANTUNES-RODRIGUES, J., BRANCO, L. G. Role of nitric oxide in systemic vasopressin-induced hypothermia. *Am J Physiol*, v.275, n.4 Pt 2, Oct, p.R937-941. 1998.
- STEINER, A. A., BRANCO, L. G. Carbon monoxide is the heme oxygenase product with a pyretic action: evidence for a cGMP signaling pathway. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v.280, n.2, Feb, p.R448-457. 2001.
- STEINER, A. A., ANTUNES-RODRIGUES, J., MCCANN, S. M., BRANCO, L. G. Antipyretic role of the NO-cGMP pathway in the anteroventral preoptic region of the rat brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v.282, n.2, Feb, p.R584-593. 2002.
- STEINER, A. A., BRANCO, L. G. Role of the preoptic carbon monoxide pathway in endotoxin fever in rats. *Brain Res*, v.927, n.1, Feb 8, p.27-34. 2002.
- SWANSON, L. W., SAWCHENKO, P. E. Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. *Annu Rev Neurosci*, v.6, p.269-324. 1983.
- SWANSON, L. W. Brain maps: structure of the rat brain. Amsterdam: Elsevier Science. 1998. 267 p.
- TAKATA, M., FILIPPOV, G., LIU, H., ICHINOSE, F., JANSENS, S., BLOCH, D. B., BLOCH, K. D. Cytokines decrease sGC in pulmonary artery smooth muscle cells via NO-dependent and NO-independent mechanisms. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, v.280, n.2, Feb, p.L272-278. 2001.
- TATOYAN, A., GIULIVI, C. Purification and characterization of a nitric-oxide synthase from rat liver mitochondria. *J Biol Chem*, v.273, n.18, May 1, p.11044-11048. 1998.
- TERRELL, M. L., SALAS, N., BUI, V., SUMMY-LONG, J. Y., KADEXKARO, M. NO inhibition of the magnocellular neuroendocrine system in rats is independent of cGMP signaling pathway. *Exp Neurol*, v.184, n.2, Dec, p.846-856. 2003.
- THIEMERMANN, C. Nitric oxide and septic shock. *Gen Pharmacol*, v.29, n.2, Aug, p.159-166. 1997.
- TOGASHI, H., SASAKI, M., FROHMAN, E., TAIRA, E., RATAN, R. R., DAWSON, T. M., DAWSON, V. L. Neuronal (type I) nitric oxide synthase regulates nuclear factor kappaB activity and immunologic (type II) nitric oxide synthase expression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.94, n.6, Mar 18, p.2676-2680. 1997.
- TORRES-DUENAS, D., BENJAMIM, C. F., FERREIRA, S. H., CUNHA, F. Q. Failure of neutrophil migration to infectious focus and cardiovascular changes on sepsis in rats: Effects of the inhibition of nitric oxide production, removal of infectious focus, and antimicrobial treatment. *Shock*, v.25, n.3, Mar, p.267-276. 2006.

- TRENTZSCH, H., STEWART, D., PAIDAS, C. N., DE MAIO, A. The combination of polymicrobial sepsis and endotoxin results in an inflammatory process that could not be predicted from the independent insults. *J Surg Res*, v.111, n.2, May 15, p.203-208. 2003.
- TURINA, M., FRY, D. E., POLK, H. C., JR. Acute hyperglycemia and the innate immune system: clinical, cellular, and molecular aspects. *Crit Care Med*, v.33, n.7, Jul, p.1624-1633. 2005.
- URIBE, R. M., LEE, S., RIVIER, C. Endotoxin stimulates nitric oxide production in the paraventricular nucleus of the hypothalamus through nitric oxide synthase I: correlation with hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation. *Endocrinology*, v.140, n.12, Dec, p.5971-5981. 1999.
- VACHER, C. M., HARDIN-POUZET, H., STEINBUSCH, H. W., CALAS, A., DE VENTE, J. The effects of nitric oxide on magnocellular neurons could involve multiple indirect cyclic GMP-dependent pathways. *Eur J Neurosci*, v.17, n.3, Feb, p.455-466. 2003.
- VAN DEN BERGHE, G. H. Role of intravenous insulin therapy in critically ill patients. *Endocr Pract*, v.10 Suppl 2, Mar-Apr, p.17-20. 2004.
- VENTURA, R. R., GOMES, D. A., REIS, W. L., ELIAS, L. L., CASTRO, M., VALENCA, M. M., CARNIO, E. C., RETTORI, V., MCCANN, S. M., ANTUNES-RODRIGUES, J. Nitrogenic modulation of vasopressin, oxytocin and atrial natriuretic peptide secretion in response to sodium intake and hypertonic blood volume expansion. *Braz J Med Biol Res*, v.35, n.9, Sep, p.1101-1109. 2002.
- VILLA, P., SARTOR, G., ANGELINI, M., SIRONI, M., CONNI, M., GNOCCHI, P., ISETTA, A. M., GRAU, G., BUURMAN, W., VAN TITS, L. J., ET AL. Pattern of cytokines and pharmacomodulation in sepsis induced by cecal ligation and puncture compared with that induced by endotoxin. *Clin Diagn Lab Immunol*, v.2, n.5, Sep, p.549-553. 1995.
- VINCENT, J. L., KORKUT, H. A. Defining sepsis. *Clin Chest Med*, v.29, n.4, Dec, p.585-590, vii. 2008.
- VROMEN, A., ARKOVITZ, M. S., ZINGARELLI, B., SALZMAN, A. L., GARCIA, V. F., SZABO, C. Low-level expression and limited role for the inducible isoform of nitric oxide synthase in the vascular hyporeactivity and mortality associated with cecal ligation and puncture in the rat. *Shock*, v.6, n.4, Oct, p.248-253. 1996.
- WELCH, G., LOSCALZO, J. Nitric oxide and the cardiovascular system. *J Card Surg*, v.9, n.3, May, p.361-371. 1994.
- WELLER, R. O., DJUANDA, E., YOW, H. Y., CARARE, R. O. Lymphatic drainage of the brain and the pathophysiology of neurological disease. *Acta Neuropathol*, v.117, n.1, Jan, p.1-14. 2009.
- WESTPHAL, M., FREISE, H., KEHREL, B. E., BONE, H. G., VAN AKEN, H., SIELENKAMPER, A. W. Arginine vasopressin compromises gut mucosal microcirculation in septic rats. *Crit Care Med*, v.32, n.1, Jan, p.194-200. 2004.
- WOLFF, D. J., LUBESKIE, A. Aminoguanidine is an isoform-selective, mechanism-based inactivator of nitric oxide synthase. *Arch Biochem Biophys*, v.316, n.1, Jan 10, p.290-301. 1995.
- WONG, M. L., BONGIORNO, P. B., AL-SHEKHLEE, A., ESPOSITO, A., KHATRI, P., LICINIO, J. IL-1 beta, IL-1 receptor type I and iNOS gene expression in rat brain vasculature and perivascular areas. *Neuroreport*, v.7, n.15-17, Nov 4, p.2445-2448. 1996.
- WONG, M. L., RETTORI, V., AL-SHEKHLEE, A., BONGIORNO, P. B., CANTEROS, G., MCCANN, S. M., GOLD, P. W., LICINIO, J. Inducible nitric oxide synthase gene expression in the brain during systemic inflammation. *Nat Med*, v.2, n.5, May, p.581-584. 1996.

- WONG, M. L., BONGIORNO, P. B., RETTORI, V., MCCANN, S. M., LICINIO, J. Interleukin (IL) 1beta, IL-1 receptor antagonist, IL-10, and IL-13 gene expression in the central nervous system and anterior pituitary during systemic inflammation: pathophysiological implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.94, n.1, Jan 7, p.227-232. 1997.
- WU, C. C., CHEN, S. J., SZABO, C., THIEMERMANN, C., VANE, J. R. Aminoguanidine attenuates the delayed circulatory failure and improves survival in rodent models of endotoxic shock. *Br J Pharmacol*, v.114, n.8, Apr, p.1666-1672. 1995.
- WU, F., CEPINSKAS, G., WILSON, J. X., TYML, K. Nitric oxide attenuates but superoxide enhances iNOS expression in endotoxin- and IFNgamma-stimulated skeletal muscle endothelial cells. *Microcirculation*, v.8, n.6, Dec, p.415-425. 2001.
- XIAO, H., REMICK, D. G. Correction of perioperative hypothermia decreases experimental sepsis mortality by modulating the inflammatory response. *Crit Care Med*, v.33, n.1, Jan, p.161-167. 2005.
- XU, S., GUO, S., JIANG, X., UMEZAWA, T., HISAMITSU, T. The role of norepinephrine and nitric oxide in activities of rat arginine vasopressin neurons in response to immune challenge. *Neurosci Lett*, v.383, n.3, Aug 5, p.231-235. 2005.
- YANG, W. W., KRUKOFF, T. L. Nitric oxide regulates body temperature, neuronal activation and interleukin-1 beta gene expression in the hypothalamic paraventricular nucleus in response to immune stress. *Neuropharmacology*, v.39, n.11, Aug 23, p.2075-2089. 2000.
- YASIN, S., COSTA, A., TRAINER, P., WINDLE, R., FORSLING, M. L., GROSSMAN, A. Nitric oxide modulates the release of vasopressin from rat hypothalamic explants. *Endocrinology*, v.133, n.3, Sep, p.1466-1469. 1993.
- YET, S. F., PELLACANI, A., PATTERSON, C., TAN, L., FOLTA, S. C., FOSTER, L., LEE, W. S., HSIEH, C. M., PERRELLA, M. A. Induction of heme oxygenase-1 expression in vascular smooth muscle cells. A link to endotoxic shock. *J Biol Chem*, v.272, n.7, Feb 14, p.4295-4301. 1997.
- YOSHIDA, M., IWASAKI, Y., ASAI, M., TAKAYASU, S., TAGUCHI, T., ITOI, K., HASHIMOTO, K., OISO, Y. Identification of a functional AP1 element in the rat vasopressin gene promoter. *Endocrinology*, v.147, n.6, Jun, p.2850-2863. 2006.
- ZACHAROWSKI, K., BERKELS, R., OLBRICH, A., CHATTERJEE, P. K., CUZZOCREA, S., FOSTER, S. J., THIEMERMANN, C. The selective guanylate cyclase inhibitor ODQ reduces multiple organ injury in rodent models of Gram-positive and Gram-negative shock. *Crit Care Med*, v.29, n.8, Aug, p.1599-1608. 2001.
- ZHANG, K., MAYHAN, W. G., PATEL, K. P. Nitric oxide within the paraventricular nucleus mediates changes in renal sympathetic nerve activity. *Am J Physiol*, v.273, n.3 Pt 2, Sep, p.R864-872. 1997.
- ZINGARELLI, B., HASKO, G., SALZMAN, A. L., SZABO, C. Effects of a novel guanylyl cyclase inhibitor on the vascular actions of nitric oxide and peroxynitrite in immunostimulated smooth muscle cells and in endotoxic shock. *Crit Care Med*, v.27, n.9, Sep, p.1701-1707. 1999.