

Camila Molina Soares

O papel do sistema nervoso autônomo e do barorreflexo no curso
temporal da sepse experimental

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Programa de Fisiopatologia Experimental

Orientadora: Maria Claudia Costa Irigoyen

São Paulo
2022

Camila Molina Soares

O papel do sistema nervoso autônomo e do barorreflexo no curso
temporal da sepse experimental

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Programa de Fisiopatologia Experimental

Orientadora: Maria Claudia Costa Irigoyen

São Paulo
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Soares, Camila Molina

O papel do sistema nervoso autônomo e do barorreflexo no curso temporal da sepse experimental / Camila Molina Soares. -- São Paulo, 2022.

Dissertação (mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Fisiopatologia Experimental.

Orientadora: Maria Claudia Costa Irigoyen.

Descritores: 1.Sistema nervoso simpático
2.Reflexo barorreceptor 3.Hemodinâmica 4.Sistema nervoso parassimpático 5.Choque séptico
6.Frequência cardíaca

USP/FM/DBD-022/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

Aos meus pais, Carla e Dimas, e ao meu irmão Caio, por todo apoio, incentivo, inspiração e amor. Por sempre apoiarem as minhas escolhas e por serem o meu porto seguro e o meu lugar de aconchego sempre que alguma coisa não sai como o esperado, mas também por serem sempre a minha primeira escolha para todas as comemorações de vitória. O caminho é longo, ninguém disse que seria fácil, mas com vocês ao meu lado enfrentamos qualquer coisa. Juntos, até depois do fim!

Aos meus avós, tio e tia, por constituírem uma base familiar sólida e por sempre torcerem pelo meu sucesso.

À todas as vítimas da sepse, as que perderam suas vidas e as que conseguiram vencê-la, porém por muitas vezes carregando sequelas eternas e de impacto não somente para si, mas para toda a família.

Aos profissionais das equipes multidisciplinares, que lidam com os doentes graves diariamente dentro da unidade de terapia intensiva, muitas vezes sacrificando sua saúde física e mental, em prol ao cuidado com o paciente.

Agradecimentos

Agradeço à minha orientadora Prof. Dra. Maria Claudia C. Irigoyen, por todo conhecimento dividido e pela grande amizade construída ao longo desses anos. Obrigada por me ensinar na prática o quanto é importante amar aquilo que escolhemos e como o entusiasmo e o brilho nos olhos fazem a diferença em tudo. Agradeço por ser uma grande inspiração, como pessoa e como profissional, e pela contribuição direta na construção do meu amor pela ciência e pela área acadêmica.

À amiga Edna Diniz, pelos ensinamentos, generosidade, acolhimento e amizade.

Ao Bruno Durante, pela amizade, parceria e apoio ao longo de todos esses anos, me ajudando a manter o foco nos momentos de maior dificuldade, me acompanhando em todos os momentos decisivos e me surpreendendo de forma positiva com a nossa capacidade de superar as adversidades em benefício da nossa amizade.

Ao Bruno Nascimento, pela amizade construída e por todo conhecimento dividido, me ensinando além das planilhas, mas também sobre calma, confiança e paciência.

Ao Leandro e ao Maikon pela amizade, por todo conhecimento compartilhado e pelo comprometimento com o nosso projeto.

Aos colegas do nosso laboratório, a todos os funcionários da experimental e ao laboratório da pneumologia, pela colaboração, histórias divididas, risadas e momentos compartilhados ao longo dessa trajetória.

À biblioteca da FMUSP, por toda dedicação, auxílio e eficiência.

À secretária da fisiopatologia, principalmente ao Igor, pelo auxílio nas resoluções de dúvidas.

Às famílias Gelsi e Conelian pela amizade e apoio durante o projeto, sendo flexível e amigável sempre que necessário, entendendo a importância que essa conquista teria para mim

“É preciso se atrever a ser grande”
Kobe Bryant

RESUMO

Soares CM. *O papel do sistema nervoso autônomo e do barorreflexo no curso temporal da sepse experimental* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

A sepse representa um dos principais desafios para a saúde mundial principalmente por apresentar taxas de mortalidade alarmantes, ainda piores em países em desenvolvimento. Sua identificação e tratamento precoce está diretamente relacionada a melhores desfechos, sendo importante cada vez mais a condução de estudos e divulgação sobre o tema. De acordo com a última definição proposta a sepse é caracterizada por “Disfunção orgânica ameaçadora a vida em decorrência de resposta desregulada do organismo à infecção”. O choque séptico, por sua vez, representa uma complicação da sepse associado a maior risco de mortalidade, sendo caracterizado por necessidade de vasopressores para manutenção de PAM>65mmHg e hiperlactatemia, na ausência de hipovolemia. A patogênese da sepse e do choque séptico é complexa, apresentando inúmeros fatores de interação, sendo um dos importantes pilares o sistema nervoso autônomo (SNA) que é dividido em simpático e parassimpático tendo cada um desses domínios funções, sendo o barorreflexo um dos principais mecanismos de autorregulação. O estudo da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é o principal método não invasivo de avaliação do SNA, possibilitando a avaliação do balanço autonômico. Sendo assim, para avaliarmos o papel do sistema nervoso autônomo e o impacto do barorreflexo no curso temporal da sepse experimental utilizamos ratos wistar (n=32) que foram divididos em 4 grupos sham (n=8), sham sepse (n=8), dsa (n=8), dsa sepse (n=8), os animais dos grupos dsa foram submetidos a desnervação sino aórtica (DSA) e os animais dos grupos sepse foram submetidos à ligadura e punção cecal. Através dos registros de pressão arterial invasiva foram realizadas análises hemodinâmicas, de VFC, sensibilidade barorreflexa, além de coletas de sangue para hemogasometria arterial, nos tempos 0, 2h e momento final (caracterizado como PAM<65). No primeiro capítulo estão apresentados os efeitos da desnervação sino aórtica,

demonstrando o impacto em VFC, sensibilidade barorreflexa espontânea, e hemogasometria arterial (principalmente glicemia e lactato). No segundo capítulo os 4 grupos, avaliando então o impacto da sepse nesse cenário. Foram observadas alterações relevantes principalmente nas análises de VFC no domínio da frequência e sensibilidade barorreflexa, evidenciando a importância do emprego dessas duas metodologias. Além disso os dados demonstraram o impacto metabólico da DSA nesse cenário. Concluímos que a disfunção autonômica representada pela DSA causa prejuízo hemodinâmico e metabólico importante, impactando diretamente na curva de mortalidade dos animais submetidos a sepse, levando a óbito os animais do grupo dsa sepse precocemente quando comparado ao grupo sham sepse $p= 0,0089$.

Descritores: Sistema nervoso simpático; Reflexo barorreceptor; Hemodinâmica; Sistema nervoso parassimpático; Choque séptico; Frequência cardíaca.

ABSTRACT

Soares CM. *The role of the autonomic nervous system and the baroreflex in the time course of experimental sepsis* [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2022.

Sepsis represents one of the main challenges for global health, because it has alarming mortality rates, even worse in developing countries. Its early identification and treatment are related to better outcomes, so is important the development of new studies and disseminate knowledge about it. According to the last proposed definition, sepsis is characterized by "life-threatening organ dysfunction resulting from a deregulated response of the organism to infection". Septic shock, on the other hand, represents a complication of sepsis associated with a higher risk of mortality, being characterized by the need for vasopressors to maintain $MAP > 65 \text{ mmHg}$ and hyperlactatemia, in the absence of hypovolemia. The pathogenesis of sepsis and septic shock is complex, with numerous interaction factors.

One of the important pillars is the autonomic nervous system (ANS), which is divided into sympathetic and parasympathetic, each of these domains having specific functions, being the baroreflex, one of the main ones. The study of heart rate variability (HRV) is the main method of indirectly assessing the ANS, enabling the assessment of autonomic balance. Therefore, to evaluate the role of the autonomic nervous system and the impact of the baroreflex on the temporal course of experimental sepsis, we used Wistar rats ($n=32$) that were divided into 4 groups: sham ($n=8$), sham sepsis ($n=8$), SAD ($n=8$), SAD sepsis ($n=8$). The animals of the SAD groups were submitted to sinoaortic denervation (SAD) and the animals of the sepsis groups were submitted to ligation and cecal puncture. Through the records of invasive blood pressure, hemodynamic, HRV, baroreflex sensitivity analyzes were performed, in addition to blood collections for arterial hemogasometry, at times 0, 2h and final moment (characterized as $MAP < 65$). In the first chapter are presented SAD effects, demonstrating the impact on HRV, baroreflex sensitivity, spontaneous baroreflex and arterial hemogasometry (mainly glycemia and lactate). In the second chapter, the 4 groups were

compared, evaluating the impact of sepsis in this scenario. Relevant alterations were observed in the analysis of HRV in the frequency domain and baroreflex sensitivity, evidencing the importance of employing these two methodologies. In addition, the data demonstrated the metabolic impact of SAD in this scenario. We conclude that the autonomic dysfunction represented by SAD causes significant hemodynamic and metabolic damage, directly impacting the mortality curve of septic animals, leading to early death in SAD sepsis group when compared to the sham sepsis group $p=0.0089$.

Descriptors: Sympathetic nervous system; Baroreflex; Hemodynamic; Parasympathetic nervous system; Shock septic; Heart rate.

Sumário

Resumo
Abstract
Sumário

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1 Sepse	03
2.1.1 Epidemiologia	05
2.1.2 Patogênese	06
2.2 Sistema nervoso autônomo	08
2.3 Fisiologia cardiovascular	10
2.3.1 Controle da pressão arterial	11
2.4 Variabilidade da frequência cardíaca	15
2.5 Sensibilidade barorreflexa	18
2.6 Sistema nervoso autônomo x sepse	19
3. JUSTIFICATIVA	22
4. OBJETIVO	22
5. MATERIAIS E MÉTODOS	23
5.1 Animais e grupos	23
5.2 Canulação	24
5.3 Desnervação sino aórtica	25
5.4 Ligadura e punção cecal	26
5.5 Registro de pressão arterial e análise da VFC	26
5.6 Hemogasometria	27
5.7 Análise estatística	28
6. RESULTADOS	29
6.1 Efeitos da desnervação.....	29
6.1.1 Parâmetros hemodinâmicos	29
6.1.2 Parâmetros de variabilidade da frequência cardíaca	29

6.1.3	Parâmetros de variabilidade da pressão arterial sistólica	30
6.1.4	Análise simbólica	30
6.1.5	Sensibilidade barorreflexa	31
6.1.6	Hemogasometrias arteriais.....	32
6.1.7	Estudos de correlação	33
6.2	Efeitos da sepse induzida por ligadura e punção cecal	38
6.2.1	Parâmetros hemodinâmicos	38
6.2.2	Parâmetros de variabilidade da frequência cardíaca	39
6.2.3	Parâmetros de variabilidade da pressão arterial sistólica ...	40
6.2.4	Análise simbólica	41
6.2.5	Sensibilidade barorreflexa espontânea	41
6.2.6	Hemogasometrias arteriais	42
7	Curva de mortalidade	46
8.	DISCUSSÃO	47
8.1	Efeitos da desnervação	47
8.1.1	Parâmetros hemodinâmicos, vfc, sensib. barorreflexa	47
8.1.2	Hemogasometrias arteriais	50
8.2	Efeitos da sepse induzida por ligadura e punção cecal	53
8.2.1	Parâmetros hemodinâmicos, vfc, sensib. barorreflexa	53
8.2.2	Hemogasometrias arteriais	56
9.	CONCLUSÃO	60
10.	REFERÊNCIAS	61
	Apêndice	

1. Introdução

A sepse representa um dos principais problemas de saúde mundial, sendo caracterizada por dados epidemiológicos alarmantes relacionados às altas taxas de mortalidade (1).

É definida como “disfunção de órgãos ameaçadora a vida decorrente da presença de resposta desregulada do organismo à infecção” (2). Por isso é considerado como fator limitante de sua patogênese o desbalanço entre a resposta pró inflamatória e a resposta anti-inflamatória do hospedeiro (3).

Dentre as inúmeras alterações sistêmicas observadas na sepse e no choque séptico o comprometimento cardiovascular representa um passo limitante nesses cenários, sendo representado principalmente por hipotensão, diminuição da resistência vascular periférica, hiporreatividade tecidual aos vasopressores e depressão da contração miocárdica (4).

O choque séptico é o subgrupo da sepse caracterizado por hipotensão refratária a volume e necessidade de vasopressores para manutenção de PAM $>65\text{mmHg}$, associada a hiperlactatemia (lactato sérico $>18\text{mg/dL}$ ou 2mmol/L). Está associado a um maior risco de mortalidade quando comparado a sepse isolada, devido a graves alterações hemodinâmicas, celulares e metabólicas envolvidas (2).

A progressão da sepse e do choque séptico pode ser caracterizada pela síndrome da disfunção de múltiplos órgãos (DMOS), causada principalmente por alterações microvasculares e disfunção mitocondrial, culminando em insuficiência bioenergética. Tal insuficiência, considerada um desbalanço entre oferta e consumo de oxigênio promove alterações celulares importantes levando a disfunção e morte (5).

O sistema nervoso autônomo possui importante papel na sepse, principalmente através da ação sobre débito cardíaco e tônus vascular, imunomodulação, controle respiratório, motilidade gastrointestinal e controle de temperatura (6)

A avaliação da variabilidade da frequência cardíaca é um método não invasivo que possibilita a análise dos impulsos autonômicos, permitindo um melhor entendimento sobre a adaptabilidade e balanço simpato-vagal (7)

As disfunções autonômicas são caracterizadas pelo desacoplamento entre sistema nervoso autônomo e sistema cardiovascular, podendo ocorrer a curto e a longo prazo. Por isso, a avaliação deste grau de desacoplamento através da análise da variabilidade de frequência cardíaca, pode auxiliar na diferenciação do momento de apresentação do quadro entre sepse, choque séptico ou estado de recuperação (8).

A avaliação da variabilidade da frequência cardíaca pode também funcionar como coadjuvante na identificação precoce de disfunção de múltiplos órgãos, uma vez que pacientes sépticos incluídos no grupo DMOS demonstraram níveis menores de componentes parassimpáticos comparados ao grupo controle (9).

Além do impacto cardiovascular o sistema nervoso autônomo também possui participação na imunomodulação (reflexo antiinflamatório), principalmente através da interação do sistema nervoso parassimpático e o eixo hipotálamo-hipofise-adrenal. Tendo sido demonstrado papel importante da acetilcolina ao atenuar as principais citocinas pro inflamatórias, em culturas de macrófagos humanos ativados por lipopolissacarídeos (6).

2. Revisão de Literatura

2.1 Sepses

A palavra sepsis, do grego sêpsis, significa putrefação. Segundo Hipócrates foi caracterizada como um “apodrecimento perigoso”, odorífero e biológico do corpo. Semelweis, médico austríaco, foi o primeiro a sugerir a associação entre germes e sepsis, após observar índices maiores de sepsis puerperal em partos realizados por estudantes quando comparado aos realizados por parteiras (10).

Devido à alta incidência e importância mundial da sepsis, se fez necessária a criação de consensos para padronização de conceitos e definições visando a otimização da comunicação entre os serviços e na produção científica (11).

O “Sepsis-1”, realizado em 1992, foi responsável pela definição do conceito de síndrome da resposta inflamatória sistêmica SIRS, e estratificação da doença, em sepsis, sepsis grave e choque séptico. (12). Devido a baixa especificidade e alta sensibilidade os critérios de SIRS passaram a ser criticados ao longo dos anos (11).

No *Sepsis-2*, realizado em 2003, o diagnóstico de sepsis passou a ser considerado na presença de infecção presumida ou confirmada associada a disfunções orgânicas, hemodinâmicas e perfusionais. Marcadores como procalcitonina e proteína C reativa passaram a ser incluídos nesse cenário visando otimização do diagnóstico e monitoramento (5).

Em 2016 foi realizado o *Sepsis-3*, onde foi estabelecida a definição atual de sepsis, disfunção de órgãos ameaçadora a vida decorrente da presença de resposta desregulada do organismo à infecção. Na mesma ocasião foi postulada também a definição de infecção não complicada, representada pelo processo infeccioso sem a presença de disfunção orgânica associada e choque séptico a sepsis (infecção associada a disfunção orgânica) associada a alterações hemodinâmicas, celulares e metabólicas associadas ao maior risco de mortalidade (1).

Para auxiliar no diagnóstico da sepsis foi criado o score SOFA (sequential organ-failure assessment), score de pontuação que considerou domínios

específicos do sistema neurológico, hemodinâmico, respiratório, renal, hepático e hematológico, caracterizando as disfunções orgânicas. Sendo considerados sépticos os pacientes com pontuação ≥ 2 pontos (1).

O score simplificado quick SOFA (qSOFA) foi criado no Sepsis-3, com o objetivo de identificar a gravidade dos pacientes a beira leito, através de exame clínico simples avaliando taquipneia, alteração do nível de consciência e hipotensão sistólica (1).

Com a nova Surviving Sepsis Campaign de 2021, algumas recomendações foram atualizadas: o qSOFA passou a ser contra recomendado como ferramenta de triagem única para sepse e choque séptico; a dosagem do lactato como ferramenta auxiliar diagnóstica passou a ser recomendada, apesar de recomendação fraca; frente a suspeita de choque séptico a antibioticoterapia empírica permaneceu recomendada dentro da primeira hora, porém frente a suspeita de sepse o tempo foi estendido para 3 horas mantendo a recomendação forte de necessidade de investigação minuciosa dos focos nas duas situações, com descontinuação da antibioticoterapia empírica em caso de diagnóstico não compatível com infecção (2).

2.1.1 Epidemiologia

Apesar de os dados epidemiológicos sugerirem a importância global da sepse eles ainda são considerados escassos, principalmente em países em desenvolvimento como o Brasil (8).

Segundo o estudo BASES (Brazilian Sepsis Epidemiological Study), primeiro estudo epidemiológico observacional multicêntrico brasileiro que uniu informações de 5 UTIs públicas e privadas, as taxas de incidência de sepse e choque séptico foram respectivamente 35,6 e 30 por 1000 pacientes atendidos/dia, sendo a taxa de mortalidade representada por 47,3% para a sepse e 52,2% para o choque séptico (13).

O estudo SPREAD (Sepse Prevalence Assessment Database) de 2017, demonstrou a prevalência de sepse de 29% dentre os leitos e taxa de mortalidade de 41,4% para sepse e 58,6% para choque séptico, em 227 UTIs brasileiras, no ano de 2014 (14).

Referência nacional demonstra a diferença das taxas de mortalidade ao comparar o serviço público e o serviço privado, considerando como justificativas fatores como: a gravidade da sepse apresentada no momento do diagnóstico (mais grave nos serviços públicos) e o tempo para o reconhecimento e início do tratamento (menores nos serviços privados) (15). Dados de acordo com a literatura que correlaciona o retardo da antibioticoterapia com maior mortalidade no choque séptico (16) e na sepse, com aumento da mortalidade a medida que ocorre o retardo na administração do antibiótico com relação a primeira hora (17).

Em países desenvolvidos a sepse também ocupa importante parcela dos custos hospitalares e das taxas de mortalidade, sendo o custo estimado por paciente cerca de US\$ 9000, independentemente de estar hospitalizado em serviço público ou privado (11).

Fatores como acesso inadequado ao serviço de saúde, falhas no saneamento básico, infecções nosocomiais e altos índices de resistência bacteriana implicam diretamente no impacto da sepse (11).

2.1.2 Patogênese

O evento inicial da sepse é caracterizado pela resposta inflamatória exacerbada, caracterizada pela grande liberação de mediadores químicos e citocinas na corrente sanguínea, conhecida como “cytokine storm”. Tal resposta é desencadeada pelo reconhecimento de padrões moleculares associados ao patógeno e padrões moleculares associados a danos (PAMPs e DAMPs). Frente a ativação da resposta inflamatória, mecanismos antiinflamatórios também são ativados de modo compensatório, sendo uma das principais citocinas anti inflamatórias envolvidas nesse processo a interleucina-10 (18).

Os principais PAMPs e DAMPs são a endotoxina das bactérias gram negativas (LPS) e o ácido lipotecóico presente nas bactérias gram positivas, que quando reconhecidos pelos receptores de superfície toll-like (TLRs), presentes em células do sistema imune (macrófagos, monócitos e neutrófilos), desencadeiam a resposta inflamatória principalmente a partir da liberação de TNF-a e IL-1, que promovem perpetuação da resposta inflamatória ativando a liberação de mais mediadores pro-inflamatórios como quimiocinas, espécies reativas de oxigênio (ERN), eicosanoides e enzimas proteolíticas (11)

Além da resposta inflamatória desencadeada através da via humoral a via neural também possui importante papel nesse cenário, sendo mediada pelas fibras sensoriais aferentes do sistema nervoso autônomo responsáveis pelo reconhecimento de PAMPs e DAMPs (19).

A sinalização promovida pelas citocinas faz com que ocorra a migração dos leucócitos para o foco infeccioso, sendo os neutrófilos os principais fagócitos envolvidos nesse processo inicial. Através da ação das integrinas e selectinas, ocorre a marginação, adesão e rolamento dos leucócitos no endotélio, para posterior diapedese, quando ocorre a migração do leito vascular para o tecido em questão. Nesse cenário a ativação do sistema complemento e da cascata de coagulação também ocorrem em resposta aos mediadores inflamatórios, promovendo uma série de reações em cascata e retroalimentando de forma ativa o processo inflamatório (11)

A interação entre as células endoteliais e os mediadores químicos frente ao reconhecimento do patógeno promove a vasodilatação do leito vascular,

promovida por inúmeros mediadores, dentre eles: bradicinina, histamina, e principalmente pelo óxido nítrico que é responsável pelo aumento da permeabilidade tecidual e importante hiporreatividade vascular contribuindo para o colapso circulatório (20).

O óxido nítrico (NO) liberado pelas células endoteliais além de promover vasodilatação e hiporreatividade também pode estar associado a eventos trombóticos da microvasculatura, contribuindo para hipoxia tecidual e disfunção de múltiplos órgãos (21).

As citocinas também representam papel fundamental na resposta imunológica, são glicoproteínas que funcionam como recrutadores da resposta imunológica para o sítio de infecção, além de favorecer o processo cicatricial (22).

Diferentes células podem sintetizar a mesma citocina que por sua vez pode agir em diferentes tipos de célula, caracterizando dessa forma a pleiotropia. Ações semelhantes podem ser desencadeadas por citocinas diferentes que geralmente apresentam comportamento de ativação em cascata, de forma que a ação em células alvo estimula a produção de mais citocinas, assim retroalimentando a resposta inflamatória (22).

As principais representantes das citocinas pró-inflamatórias são representadas pelo fator de necrose tumoral (TNF), interferon gama, interleucinas 1, 2, 6, 8, 12, 17. Sendo as principais anti-inflamatórias representadas principalmente pela interleucina 4, 10, 13 e fator transformador de crescimento beta (FTC β) (23).

É conhecida a correlação entre o aumento de citocinas pró e anti-inflamatórias (IL-6, IL-8, IL-10, G-CSF) e a progressão das disfunções orgânicas, de acordo com o SOFA score, em pacientes sépticos (24)

O choque séptico é caracterizado pela presença de hiperlactatemia (lactato sérico >18mg/dL ou 2mmol/L), e hipotensão arterial (PAM <65 mmHg) refratária a ressuscitação volêmica (2). As duas alterações quando apresentadas de modo concomitante, por pacientes com choque séptico, denotaram mortalidade elevada quando comparado ao subgrupo que apresentava apenas um dos eventos de modo isolado (11)

A disfunção de múltiplos órgãos possui correlação direta com a insuficiência bioenergética caracterizada pelo desequilíbrio entre oferta e consumo de oxigênio causado principalmente por alterações microvasculares e disfunção mitocondrial (21).

2.2 Sistema Nervoso Autônomo

O sistema nervoso autônomo é a porção do sistema nervoso central responsável pelo controle da maioria das funções viscerais do organismo. Pode ser subdividido em simpático, parassimpático e entérico, sendo regulado principalmente pela interação entre sistema nervoso central (encéfalo e medula) e sistema nervoso periférico (nervos e gânglios) (25).

O sistema nervoso autônomo simpático (SNAs) é conhecido pela literatura como o sistema de “luta ou fuga”, sendo caracterizado como um estado de “preparo para agir”. Suas principais ações são: aumento da frequência cardíaca, aumento da força de contração do miocárdio, broncodilatação, vasodilatação em musculatura esquelética e SNC e vasoconstrição em pele e vísceras (baço, TGI). Tanto as alterações vasculares, através do redirecionamento de fluxo e aumento da resistência vascular periférica, quanto o aumento da frequência cardíaca e força de contratilidade, otimização de débito cardíaco, tem por objetivo o aumento da pressão arterial (25).

O SNAs também possui interação em demais sistemas, promovendo diminuição das atividades do trato gastrointestinal (diminuição de secreções e motilidade), aumento do metabolismo energético (aumento de glicemia e lipemia), aumento de sudorese, otimização da visão (midríase e ajuste do cristalino par visões ao longe), além de aumento de glicogenólise em musculatura esquelética (26).

Os nervos do SNAs são os principais efetores da resposta simpática, originando-se na região tóraco-lombar (T1-L2). O axônio pré ganglionar do sistema nervoso simpático é curto, estando mais próximo do SNC, e o axônio pós ganglionar é longo. Dessa forma, a sinapse na região ganglionar ocorre através da liberação da acetilcolina que fica armazenada em vesículas no neurônio pré ganglionar na fenda sináptica, fazendo a ligação com os receptores nicotínicos, presentes no neurônio pós ganglionar. (25).

A sinapse no tecido alvo ocorre entre o neurônio pós ganglionar, correspondente a membrana pré sináptica, e o órgão que é correspondente a membrana pós sináptica, sendo o neurotransmissor envolvido nessa situação a noradrenalina que atua em receptores metabotrópicos (26).

Portanto, a ativação do SNAS é realizada de modo global, tanto através da comunicação entre os gânglios e órgãos alvo por meio de fibras nervosas quanto através da secreção de catecolaminas (~20% noradrenalina, ~80% adrenalina) pelas células cromafins da medula da glândula adrenal, capaz de promover a ativação simpática em diversos tecidos através da ação em receptores alfa e beta. As células cromafins também secretam encefalinas que ligadas aos receptores de opioides promovem efeito analgésico (27)

Já o sistema nervoso autônomo parassimpático (SNAp) é conhecido pela promoção do estado de restauração e manutenção, designando desta forma um estado de repouso e preservação de energia. Suas principais ações incluem: diminuição da frequência cardíaca e da força de contratilidade do coração, broncoconstrição, vasodilatação periférica (promovida de modo indireto, mediada pela liberação de óxido nítrico pelo endotélio), diminuição do metabolismo (estímulo do anabolismo através da secreção de insulina), aumento de atividade do TGI (secreção e motilidade) (25).

Os nervos no SNP possuem origem craniosacral, tronco encefálico e medula sacral, sendo o principal nervo envolvido na resposta parassimpática o nervo vago (28)

Na sinapse ganglionar o neurotransmissor envolvido é a acetilcolina, que atua em receptores nicotínicos. Na sinapse pós ganglionar a acetilcolina também é o neurotransmissor atuante e se encontra nos axônios pós ganglionares (membrana pré sináptica) atuando em receptores muscarínicos presentes no órgão alvo (membrana pós sináptica) (26).

2.3 Fisiologia cardiovascular

O débito cardíaco representa o volume de sangue bombeado pelo ventrículo esquerdo para a aorta a cada minuto, que depende da combinação da frequência cardíaca (FC) e volume sistólico (VS) que por sua vez são determinados pela contratilidade, pré carga (volemia) e pós carga (resistência vascular periférica (RP)). A pré carga representa a pressão de sangue presente dentro do ventrículo no momento final da diástole e contração atrial, no instante que precede a sístole, enquanto a pós carga pode ser representada pela resistência enfrentada pelo ventrículo após a sístole (29).

A resistência ao fluxo de sangue é determinada principalmente por fatores geométricos que podem ser representados principalmente pelo diâmetro dos vasos e pelo seu comprimento, esse diâmetro é variável, sendo estipulado de acordo com a camada de músculo liso presente no leito vascular que recebe inervação direta do sistema nervoso simpático, gerando assim o tônus venomotor (25).

A venoconstrição é neuralmente mediada por receptores alfa-adrenérgicos, em resposta a noradrenalina que é o neurotransmissor liberado nos terminais simpáticos presentes na parede das veias. O tônus venomotor também sofre influência de fatores humorais circulantes, como hormônios e mediadores químicos, sendo os principais envolvidos na venoconstrição a adrenalina, angiotensina II e vasopressina; na venodilatação os principais envolvidos são o fator natriurético e bradicininas. O endotélio vascular também possui capacidade de produzir fatores vasoativos locais que podem ser divididos em fatores relaxantes (óxido nítrico e prostaciclina) e fatores constritores (endotelina e ânion superóxido) (28)

Tendo como objetivo a estabilidade hemodinâmica, garantindo assim a perfusão adequada a todos os tecidos, é importante que ocorra o controle pressórico de forma contínua através dos mecanismos de controle momento a momento a pressão arterial, que são divididos em: mecanismos de ação imediata e mecanismos de ação prolongada e duradoura (29).

2.3.1 Controle da pressão arterial

A regulação neural da pressão arterial se dá principalmente através da interação das aferências do sistema nervoso simpático e parassimpático, conhecidas como mecanorreceptores arteriais (pressorreceptores ou barorreceptores), quimiorreceptores arteriais e receptores cardiopulmonares (29).

Os principais responsáveis pela regulação da pressão arterial minuto a minuto são os barorreceptores, estruturas histologicamente especializadas localizadas na adventícia dos grandes vasos (arco aórtico e seio carotídeo) capazes de identificar as variações de pressão de acordo com a deformidade da parede promovida pelo fluxo (30). O estímulo de auto regulação é então enviado ao bulbo através do nervo vago (próximo ao arco aórtico), e nervo glossofaríngeo (próximo ao seio carotídeo), ocorrendo no núcleo do trato solitário a interação com os centros vasomotores e ativação de fibras simpáticas ou parassimpáticas, de acordo com o nível pressórico inicial (29). (Figura 1)

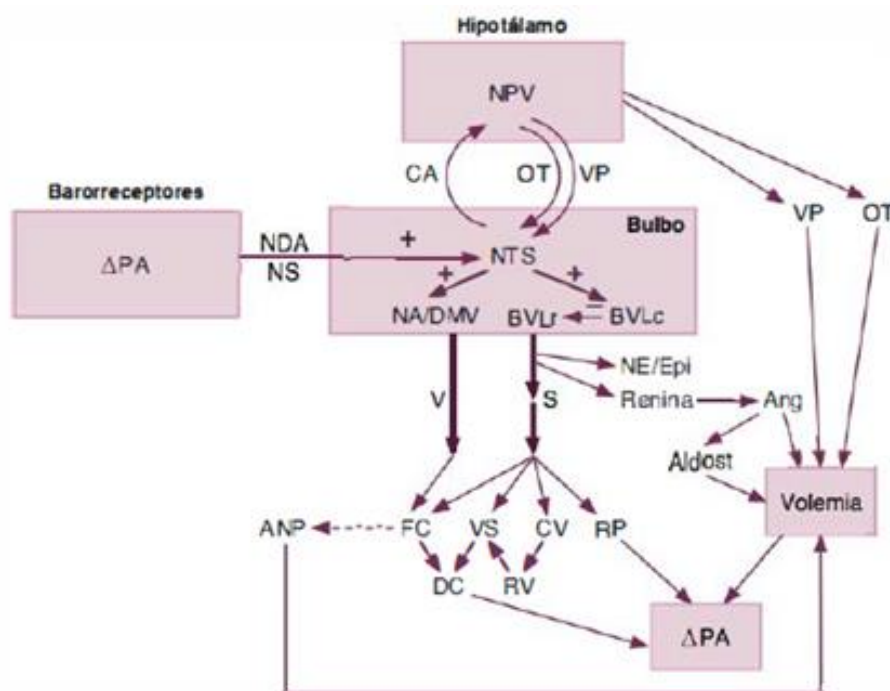


Figura 1: Representação esquemática da regulação momento a momento da pressão arterial comandada pelos barorreceptores. ΔPA , variação da pressão arterial; NDA, nervo depressor aórtico; NS, nervo sinusal; NPV, núcleo paraventricular; NTS, núcleo trato solitário; NA, núcleo

ambíguo; DMV, núcleo dorsal motor do vago; BVLc, bulbo ventrolateral caudal; BVLr, bulbo ventrolateral rostral; V, vago; S, simpático; FC, frequência cardíaca; VS, volume sistólico; CV, capacitância venosa; RP, resistência periférica; RV, retorno venoso; DC, débito cardíaco; NE, norepinefrina; Epi, epinefrina; Ang, angiotensina I; Aldost, aldosterona; VP, vasopressina; OT, ocitocina; CA, catecolaminas; ANP, peptídeo atrial natriurético. (25)

O controle parassimpático do coração é promovido pelos eferentes vagais. Com a elevação da pressão arterial ocorre a distensão na parede dos grandes vasos, promovendo a ativação dos barorreceptores que geram potenciais de ação que são conduzidos ao núcleo do trato solitário NTS (sistema nervoso central) pelas fibras do nervo glossofaríngeo e do nervo vago. Os neurônios secundários do NTS excitam neurônios pre ganglionares do parassimpático (núcleo dorsal motor do vago e núcleo ambíguo) que se projetam aos neurônios pós ganglionares intramurais cardíacos (eferentes vagais) conferindo diminuição da frequência cardíaca (30).

Simultaneamente, os neurônios do NTS excitam o bulbo ventrolateral caudal (BVLc), que inibe o bulbo ventrolateral rostral (BVLr), reduzindo o tônus simpático ao coração e vasos. Com a redução do tônus simpático ocorre diminuição adicional da frequência cardíaca, que juntamente com a queda do retorno venoso (causado pelo aumento da capacitância venosa por venodilatação) diminui o enchimento cardíaco e o volume sistólico, impactando diretamente na diminuição do débito cardíaco e vasodilatação (queda da resistência periférica). Com a diminuição do débito cardíaco e resistência periférica a pressão arterial é reduzida de modo acentuado, contrabalanceando a elevação que proporcionou o disparo do estímulo, retomando seus valores a níveis basais (29)

O controle cardiovascular simpático ocorre através dos neurônios pós-ganglionares presentes nos gânglios simpáticos e na medula adrenal. As fibras simpáticas pós-ganglionares são noradrenérgicas e possuem terminais distribuídos por todo o coração, artérias, arteríolas, veias e vênulas. Além de norepinefrina os terminais simpáticos podem coliberar ATP e neuropeptídeo Y que combinados aos seus respectivos receptores, alfa e beta, promovem os efeitos biológicos (31).

Portanto, com uma queda acentuada da PA os barorreceptores são deformados de modo menos acentuado reduzindo a atividade aferente dos

nervos depressor aórtico e sinusal, promovendo a conseqüente diminuição da estimulação dos neurônios do núcleo do trato solitário, com isso os neurônios pré ganglionares parassimpáticos do núcleo dorsal motor do vago e núcleo ambíguo deixam de ser excitados, reduzindo assim o tônus vagal. Com a ausência de excitação do bulbo ventrolateral caudal ocorre a liberação da atividade dos neurônios do bulbo ventrolateral rostral, promovendo aumento simultâneo do tônus simpático (32).

No coração ocorre aumento da despolarização diastólica promovendo aumento da atividade do nodo sinoatrial e aumento do inotropismo. Devido a vasoconstrição sistêmica em vasos de resistência, ocorre o aumento da resistência periférica, além de venoconstrição nos vasos de capacitância, promovendo aumento do retorno venoso. Portanto, o aumento do débito cardíaco e aumento da resistência periférica conferem aumento da pressão arterial como resposta final ao estímulo simpático (33).

Os quimiorreceptores periféricos são receptores nervosos quimiosensíveis localizados nos corpúsculos aórticos e carotídeos. Possuem importante papel no controle da respiração independente do centro respiratório, através da capacidade de identificar alterações da pressão parcial de oxigênio (pO_2), pressão parcial de gás carbônico (pCO_2) e da concentração hidrogênionica (pH) no sangue (34).

Estão localizados bilateralmente no corpúsculo carotídeo (bifurcação carotídea) e no arco aórtico. As fibras aferentes que emergem do corpúsculo carotídeo seguem ao nervo glossofaríngeo até a área dorsal respiratória na medula e as fibras aferentes emergentes do arco aórtico seguem através do nervo vago até a mesma área (28).

O suprimento sanguíneo se dá diretamente de um ramo arterial proveniente do tronco aórtico o que possibilita a análise contínua dos gases arteriais (pO_2 e pCO_2) e do pH, sendo os principais reguladores da ventilação os níveis de pCO_2 aumentados e pH diminuído. Quando alterados promovem a ativação dos quimiorreceptores periféricos que alteram a frequência dos potenciais de aferência e conseqüente aumento da frequência e amplitude respiratória fazendo com que os níveis adequados dos gases sanguíneos sejam reestabelecidos, trazendo o pH de volta aos valores normais (34)

Além do controle respiratório os quimiorreceptores também possuem envolvimento cardiovascular no controle da pressão arterial, de tal modo que quedas acentuadas de pO_2 e aumento da pCO_2 com quedas proporcionais de pH determinam aumento importante da resistência vascular periférica e pressão arterial, fazendo com que a estimulação dos quimiorreceptores promova a estimulação do simpático (33).

No rato, a remoção dos quimiorreceptores carotídeos determina hipotensão, possivelmente devido a diminuição do tônus simpático periférico (29).

Os receptores cardiopulmonares são receptores ativados por mudanças na pressão dentro das câmaras cardíacas, estão divididos em três grupos: 1) receptores no endocárdio (junções das veias cava superior e inferior com o átrio direito e de veias pulmonares com o átrio esquerdo), conectam-se ao sistema nervoso central por fibras vagais mielinizadas; 2) receptores difusamente distribuídos pelo coração, conectados ao SNC por fibras vagais não mielinizadas; 3) receptores difusamente distribuídos, conectados a medula espinhal por fibras mielinizadas e não mielinizadas trafegando com os nervos simpáticos (33)

A regulação hormonal da pressão arterial é comandada pelos pressorreceptores, com a queda sustentada da PA ocorre o reconhecimento pelos mecanorreceptores e com isso maior liberação de epinefrina e norepinefrina pela medula da glândula adrenal, além de maior liberação de vasopressina pela neuro-hipofise e aumento dos níveis basais de renina promovendo consequente ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (35)

A medula adrenal é constituída por neurônios simpáticos pós ganglionares modificados (inervados pelo neurônio pré ganglionar simpático) e sintetiza as catecolaminas (epinefrina e norepinefrina) mediante estímulo simpático. A resposta sistêmica às catecolaminas é semelhante a produzida pelo arco reflexo neural, porém se apresentam de forma mais duradoura, de acordo com o pico plasmático. No coração ocorre através da interação com receptores beta

adrenérgicos, e nos vasos periféricos através dos receptores alfa adrenérgicos (36).

2.4 Variabilidade da frequência cardíaca

A automacidade do tecido cardíaco atua de forma independente como marca-passo (através da sua inervação própria pelos nodos sinoatrial, atrioventricular e sistema His-Purkinge), porém a regulação da frequência cardíaca e ritmo é realizada pelo sistema nervoso autônomo (37).

O estudo da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) representa um método simples e não invasivo para mensuração dos impulsos autonômicos, sendo um dos mais promissores marcadores quantitativos do balanço autonômico (38).

A VFC é representada pelo estudo das oscilações dos intervalos de batimentos cardíacos consecutivos (intervalos R-R), que estão relacionadas às influências do SNA sobre o nó sinusal. Tal atividade simpática e vagal pode ser modulada por osciladores centrais (centro vasomotor e respiratório) que geram flutuações rítmicas na descarga neural, dessa forma a análise da VFC possibilita inferências sobre modulação dos osciladores centrais, atividade eferente simpática e vagal e fatores humorais (31)

Uma alta variabilidade da frequência cardíaca representa uma boa adaptabilidade ao meio, podendo correlacionar-se a um indivíduo saudável, com mecanismos autonômicos eficientes, enquanto uma baixa variabilidade é frequentemente um indicador de adaptação anormal e insuficiente do SNA (31)

Para análise da VFC são obtidos índices através de métodos lineares, no domínio do tempo e da frequência e métodos não lineares. A análise da VFC no domínio do tempo recebe esse nome porque tem os seus resultados expressos na unidade de tempo (milissegundos), nela mede-se cada intervalo RR normal (batimentos sinusais) durante um determinado intervalo de tempo e com base em métodos estatísticos ou geométricos (média, desvio padrão, índices derivados no histograma ou do mapa de cartesianas dos intervalos RR) são calculados os índices tradutores de flutuações na duração dos ciclos cardíacos (38). São os principais: SDNN (desvio padrão dos intervalos RR normais gravados em um intervalo de tempo), SDANN (desvio padrão das medias dos

intervalos RR normais, a cada 5 minutos em um intervalo de tempo), SDNNi (média do desvio padrão dos intervalos RR normais a cada 5 minutos), rMSSD (raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes em um intervalo de tempo), pNN50 (porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50ms) (39).

Os índices SDNN, SDANN e SDNNi representam as atividades simpática e parassimpática de modo global, não sendo possível distinguir se a alteração da VFC está relacionada ao aumento do tônus simpático ou a retirada do tônus vagal, enquanto os índices rMSSD e pNN50 representam a atividade parassimpática (Figura 2) (40)

Índices	Definição	Componente autonômico de modulação fisiológica
SDNN	Desvio padrão de todos os intervalos R-R normais gravados em um intervalo de tempo, expresso em ms	Simpático e parassimpático
SDANN	Desvio padrão das médias dos intervalos R-R normais, a cada 5 minutos, em um intervalo de tempo, expresso em ms	Simpático e parassimpático
RMSSD	Raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos R-R normais adjacentes, em um intervalo de tempo, expresso em ms	Parassimpático
pNN50	Porcentagem dos intervalos R-R adjacentes com diferença de duração maior que 50ms	Parassimpático
ULF	Componente de ultra baixa frequência	Simpático e parassimpático
LF	Componente de baixa frequência	Simpático
HF	Componente de alta frequência	Parassimpático
LF/HF	Relação entre baixa e alta frequência	Simpático e parassimpático

Figura 2: Índices lineares da variabilidade da frequência cardíaca, significado e componentes autonômicos da modulação fisiológica (40)

Os intervalos RR no domínio do tempo também podem ser processados através de métodos geométricos, sendo o índice triangular e a plotagem de Lorenz (Plot de Poincaré) os mais conhecidos (39).

Outro método linear utilizado é a análise no domínio da frequência, que decompõe a VFC em componentes oscilatórios fundamentais: componente de alta frequência (HF), componente de baixa frequência (LF), componente de muito baixa frequência (VLF) e ultrabaixa frequência (ULF) (31).

O componente de alta frequência (HF) corresponde a modulação respiratória, sendo um indicador da atuação do nervo vago sobre o coração. O componente de baixa frequência (LF) é decorrente da ação conjunta dos componentes vagal e simpático sobre o coração, com predominância do simpático. A relação LF/HF reflete o balanço simpato-vagal sobre o coração, refletindo alterações absolutas e relativas entre os componentes simpático e parassimpático (26) (Figura 3). Os componentes de muito baixa frequência (VLF)

e ultrabaixa frequência (ULF) são menos utilizados por terem os conceitos fisiológicos ainda não completamente elucidados, porém acredita-se que exista relação entre sistema renina angiotensina aldosterona, termorregulação e tônus vasomotor periférico (41). Estudos recentes correlacionam a redução da banda VLF com arritmias, inflamação e maior mortalidade (37)

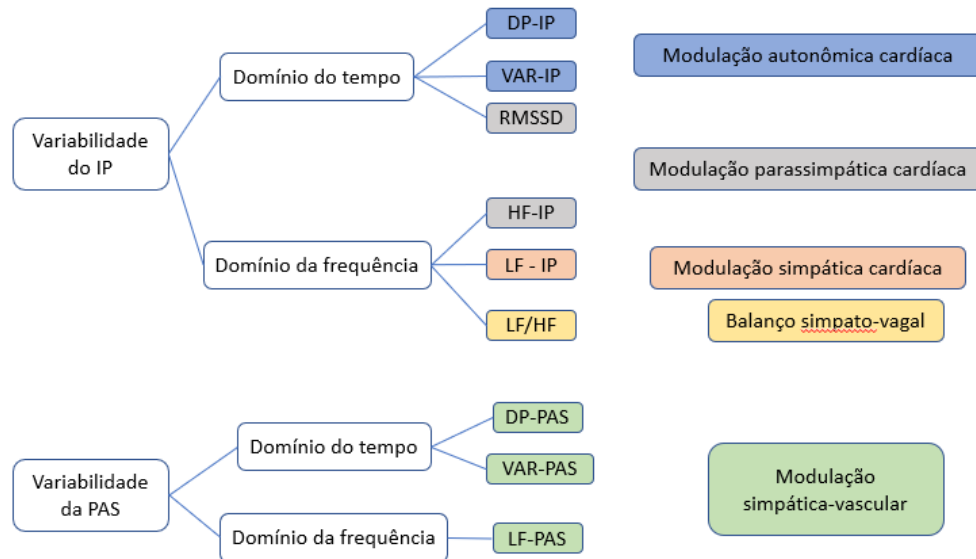


Figura 3: Parâmetros de variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial sistólica

A análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) utilizando métodos não lineares é principalmente representada pela análise simbólica, descrita por Porta, A (42)

Nesta análise os intervalos R-R são avaliados e suas variações representadas por símbolos, que irão designar a modulação simpática ou parassimpática cardíaca. De acordo com a análise simbólica o domínio 0V correspondente a atuação simpática sobre a variabilidade da frequência cardíaca, os domínios 1V e 2LV correspondem a modulação global e o domínio 2ULV é correspondente a modulação parassimpática (Figura 4) (43).

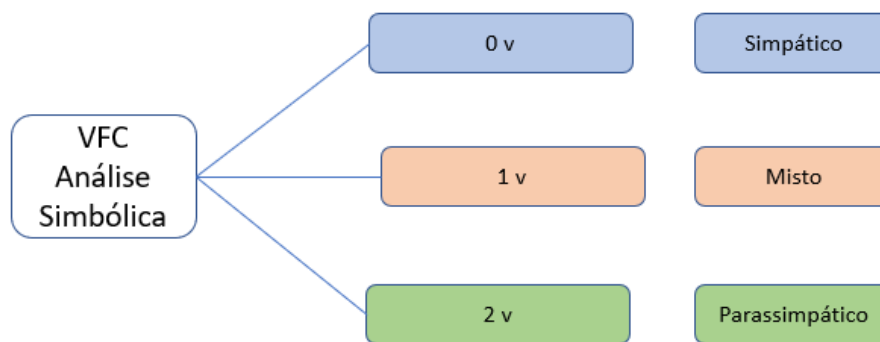


Figura 4: Parâmetros da análise simbólica da variabilidade da frequência cardíaca

Outros métodos não lineares envolvem a análise de flutuações depuradas de tendências, função de correlação, expoente de Hurst, dimensão fractal e o expoente de Lyapunov (44).

2.5 Sensibilidade barorreflexa espontânea

A sensibilidade barorreflexa espontânea pode ser avaliada através do método da sequência, que analisa a interação das rampas de pressão arterial com as rampas de intervalos R-R, desta forma denotando o acoplamento de SNA e cardiovascular, tal análise possibilita acesso índice de eficácia barorreflexa (BEI) e índice de ganho (45).

Também pode ser utilizado como marcador da sensibilidade barorreflexa espontânea o índice alfa, calculado como raiz quadrada da relação entre os componentes LF do intervalo de pulso e da pressão arterial (30).

2.6 Sistema nervoso autônomo x sepse

A integridade do sistema nervoso autônomo é de importância indiscutível para a manutenção da homeostase. Na sepse os principais sítios de ação da modulação autonômica incluem a regulação do débito cardíaco, tônus vascular, controle respiratório, imunomodulação, motilidade gastrointestinal e digestão, além da regulação da temperatura corporal (46).

A disfunção autonômica, avaliada através da redução de variabilidade da frequência cardíaca, pode gerar impacto negativo no que diz respeito a deterioração, disfunção orgânica e mortalidade (47). Alterações em outros parâmetros que caracterizam a função autonômica como: variabilidade da frequência respiratória, termorregulação e sensibilidade quimio e barorreceptora também podem ser associados aos desfechos em pacientes críticos (48).

Portanto, a resposta desregulada do sistema nervoso autônomo, ilustrada por diminuição da variabilidade da frequência cardíaca, pode ser uma opção a ser utilizada como marcador precoce de risco para síndrome de disfunção de múltiplos órgãos em pacientes sépticos (44). (Figura 5)

Devido a rapidez da resposta da modulação autonômica, quando comparada ao tempo de início da modulação da resposta humoral e celular postula-se a hipótese de que o sistema nervoso autônomo possui papel central na primeira fase da resposta imune da sepse (49).

A via antiinflamatória colinérgica é uma das vias de interação entre SNA e imunomodulação, após o reconhecimento de PAMPs e DAMPs pelas fibras aferentes do sistema nervoso autônomo ocorre liberação de acetilcolina no sistema reticuloendotelial (baço, fígado, timo), mediada pelo nervo vago, promovendo ativação dos receptores nicotínicos de macrófagos teciduais e consequente diminuição na secreção de citocinas próinflamatórias como IL-6 e TNF- α (46). Ratos submetidos a vagotomia cervical bilateral se tornam mais sensíveis a aplicação de endotoxinas do que animais intactos, ilustrando a via antiinflamatória colinérgica, assim como animais que tem a produção de citocinas pró inflamatórias como TNF- α e IL-1 β atenuadas após estimulação elétrica do vago na endotoxemia (49).

A via antiinflamatória colinérgica também pôde ser caracterizada através da demonstração do aumento da atividade parassimpática associada a diminuição dos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias, sugerindo inclusive que a VFC poderia ser um método de monitoração não invasiva da via (50).

O sistema nervoso autônomo simpático possui interação tanto com sistema imune inato quanto adaptativo. A ativação de receptores alfa1 em macrófagos reticuloendoteliais pela epinefrina e norepinefrina promoveu aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias, porém em cursos prolongados de sepse a epinefrina promoveu diminuição da secreção de IL-6 e TNF alfa (51). A norepinefrina também promoveu caráter imunossupressivo em linfócitos Th2, através da ativação de receptores adrenérgicos beta 2 em linfócitos Thelper no cenário da sepse (52)

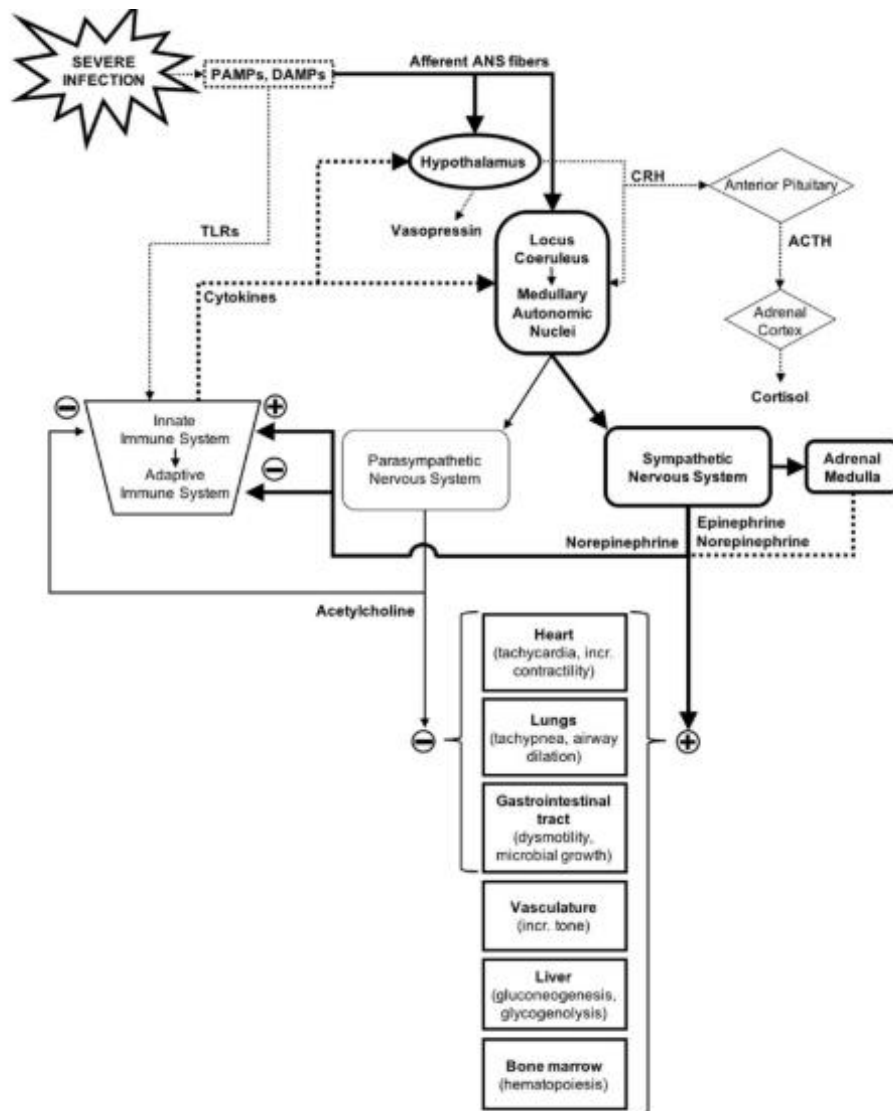


Figura 5: Resposta do sistema nervoso autônomo a infecções graves no contexto da resposta imunológica e neuroendócrina. Linha contínua: vias nervosas; linhas pontilhadas: vias humorais/endócrinas (46)

3. Justificativa

De acordo com a importância da sepse no cenário mundial se faz necessário profundo entendimento com relação a sua patogênese e conhecimento sobre ferramentas que possam auxiliar na caracterização precoce e monitoramento do doente séptico, tendo como objetivo a otimização do tratamento visando melhorar as taxas de sobrevida e qualidade de vida pós alta para esses pacientes.

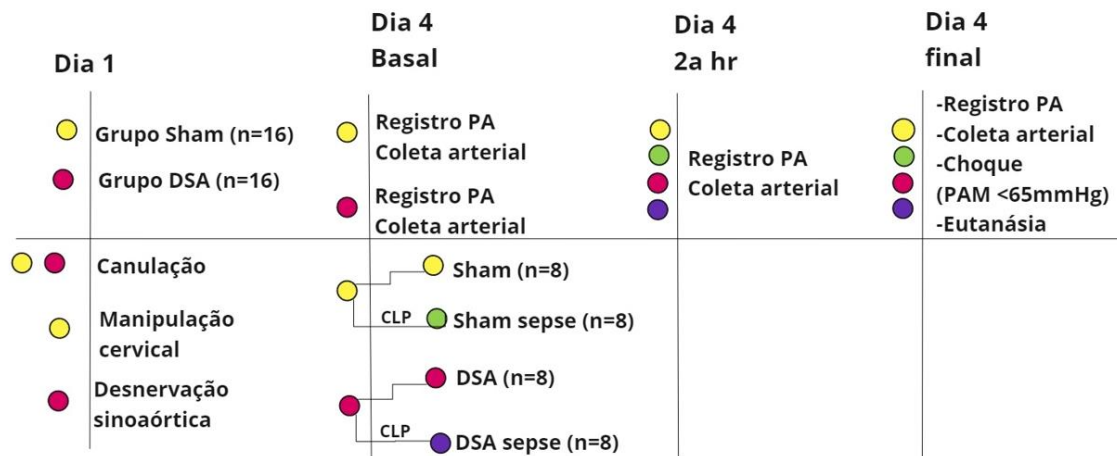
Apesar de descrita a relação entre sepse e sistema nervoso autônomo, a avaliação pressórica momento a momento em conjunto com o estudo da variabilidade da frequência cardíaca e avaliação metabólica através dos parâmetros hemogasométricos ainda não foi explorada nesse contexto.

4. Objetivo

O objetivo deste trabalho é avaliar a importância e impacto da integridade do sistema nervoso autônomo no perfil hemodinâmico e metabólico no curso temporal da sepse experimental. Além de estudar a possibilidade de correlação entre índices de variabilidade da frequência cardíaca com a evolução temporal da sepse.

5. Materiais e Métodos

Desenho experimental



CLP – cecal ligation and puncture

5.1 Animais e Grupos

Projeto aprovado pelo comitê de ética da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP sob registro CEUA/004/14.

Foram utilizados para o protocolo experimental ratos Wistar machos, pesando 300 gramas, provenientes do biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Os animais foram mantidos agrupados em ambientes com temperatura controlada (22°C – 24°C), sob luminosidade em ciclos de 12 horas (claro/escuro). Receberam dieta normoprotéica, caracterizada por 12% de proteína, oferecida *ad libitum*, assim como água

Para a primeira fase do protocolo os animais foram divididos em dois grupos: Sham (S) e desnervados (DSA), cada um deles com um N de 16 animais

No dia 1 os 32 animais foram submetidos a canulação de veia e artéria femoral, para posterior registro de pressão arterial invasiva ao longo do protocolo. Na mesma ocasião os animais do grupo S foram submetidos a manipulação cervical e os animais do grupo DSA foram submetidos a desnervação sino-aórtica.

No dia 4 do protocolo experimental os animais foram inicialmente submetidos ao registro da pressão arterial (30 minutos) e a coleta de sangue arterial (0,2ml), amostras referentes ao momento basal do experimento.

Após a primeira coleta de dados foi iniciada a segunda fase do protocolo, onde parte dos animais passou por intervenção cirúrgica (punção e ligadura cecal), conferindo nova formulação ao desenho experimental.

Sendo assim, o grupo Sham (N=16) originou grupo Sham (n=8) e grupo Sham sepse (n=8) e o grupo DSA (n=16) originou grupo DSA (n=8) e grupo DSA sepse (n=8)

A partir de então, as coletas subsequentes (registro de pressão arterial e hemogasometria arterial) se deram nos momentos 2h (após intervenção cirúrgica) e no momento final, que foi definido após instalação do choque com PAM <65mmHg.

A eutanásia, foi realizada por *overdose* da associação anestésica de Xilazina (30mg/kg) e Ketamina (100mg/kg) por via endovenosa.

Os animais mortos foram destinados a câmara fria, localizada no biotério do InCor/FMUSP, para posterior remoção por empresa especializada (Loga) contratada para destinar corretamente resíduos biológicos

5.2 Canulação

Para o procedimento cirúrgico os animais foram anestesiados com gás isoflurano na concentração de 1,5- 2%. Os ratos foram posicionados em mesa cirúrgica aquecida, em decúbito dorsal, para a realização de incisão em região inguinal e posterior cateterização de veia e artéria femoral, com cateteres confeccionados com tubos de Micro-Renathane (MRE-025 com diâmetro externo de 0,64mm e diâmetro interno de 0,30mm, Braintree Scientific) e Policloreto de Vinila (Abbott), equivalente ao polietileno PE50 e preenchidos com solução fisiológicas e ocluídas com pinos de aço inoxidável. Após o implante as cânulas foram tunelizadas em subcutâneo e exteriorizadas no dorso do animal em região cervical, sendo fixadas com fio de algodão através de sutura simples na pele.

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados em condições assépticas, sob visão de um microscópio cirúrgico (DF Vasconcelos modelo MCM 5).

Ao término da cirurgia, os animais receberam antibioticoterapia profilática, com penicilina G (Benzetacil ® Fontoura-Wyeth), na dose de 107U/Kg, via intramuscular e analgesia com cloridrato de tramadol na dose de 10mg/kg via subcutânea.

5.3 Desnervação Sino aórtica

Os animais foram submetidos a anestesia inalatória utilizando isoflurano, 1,5 a 2% em O₂ sem apresentarem prejuízo autonômico observável. Para o procedimento cirúrgico os animais foram colocados em decúbito dorsal, em mesa aquecida. O método de desnervação sino-aórtica realizado foi conforme o descrito por Krieger (53)

Foi realizada incisão mediana em região cervical anterior, separação dos dos músculos pre-traqueais e localização bilateral do feixe vaso nervoso, constituído pela artéria carótida, veia jugular, nervo vago e tronco simpático. As fibras pressoreceptoras aórticas localizadas junto ao tronco simpático ou como nervo isolado foram seccionadas. Posteriormente, a bifurcação da carótida comum foi localizada, exposta e dissecada completamente nos dois lados, seccionando-se as fibras carotídeas e do corpúsculo carotídeo. Finalmente, o outro contingente de fibras pressoreceptoras aórticas que podem situar-se junto ao laríngeo inferior, foi interrompido quando seccionado o laríngeo superior (54).

Os animais dos grupos sham passarão por procedimento de incisão em região cervical ventral, localização e visualização das estruturas anatômicas envolvidas e posterior fechamento da ferida cirúrgica com sutura em plano único utilizando fio de nylon 0.

O protocolo de analgesia instituído após a intervenção cirúrgica foi com cloridrato de tramadol [50mg/ml], na dosagem de 15mg/kg, via subcutânea.

5.4 Ligadura e punção cecal

Os animais foram submetidos a anestesia inalatória com isoflurano 1,5-2%, posicionados em decúbito dorsal, em mesa aquecida e submetidos a tricotomia e antissepsia da região abdominal.

Foi realizada incisão de 3cm em linha média de abdômen. O ceco foi então localizado e externalizado com auxílio de gaze. Após exposição, o ceco recebeu ligadura parcial abaixo da junção ileocecal. Foi então realizada perfuração cecal dupla, utilizando agulha calibre 18G e posterior compressão da alça para extravasamento de aproximadamente 2mm de conteúdo fecal. Após o procedimento o abdômen foi suturado em dois planos, musculatura e pele, utilizando fio de nylon 0, e os animais receberam via intraperitoneal 1ml de solução salina aquecida (47)

No grupo sham o ceco foi apenas visualizado, não recebendo ligadura e/ou punção, a sutura foi realizada do mesmo modo, em dois planos utilizando fio nylon 0.

O protocolo de analgesia instituído após a intervenção cirúrgica foi com cloridrato de tramadol [50mg/ml], na dosagem de 15mg/kg, via subcutânea.

5.5 Registro de pressão e avaliação da variabilidade da frequência cardíaca

A partir do registro basal dos animais acordados, foi possível utilizar a ferramenta de análise tempo-frequência da variabilidade da frequência cardíaca (FC) e da pressão arterial sistólica (PAS) através do software Cardioseries (V2.7).

Em relação a análise de domínio do tempo da variabilidade da frequência cardíaca, foram obtidos os valores médios do intervalo de pulso sendo a sua variabilidade quantificada pelo cálculo da média dos desvios padrões (DP-IP) e variância do intervalo de pulso (VAR-IP) ($Var-ip = DP-IP^2$). Além disso, foi obtido o parâmetro RMSSD (raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre os intervalos das ondas R-R normais adjacentes), que é um indicador de modulação parassimpática cardíaca (55)

A análise no domínio da frequência consistiu na decomposição do sinal em um histograma pela Transformada Rápida de Fourier. Após esse remodelamento matemático, foram obtidas as potências absolutas da banda de baixíssima frequência do intervalo de pulso (VLF-IP: 0,00-0,20), banda de baixa frequência do intervalo de pulso, indicador de modulação simpática cardíaca (BF-IP: 0,20-0,75 Hz), e banda de alta frequência do intervalo de pulso, indicador de modulação parassimpática cardíaca (AF-IP: 0,75-3,0Hz) (41).

Foi realizada a razão entre: banda de baixa frequência do intervalo de pulso/banda de alta frequência do intervalo de pulso (BF-IP/AF-IP), que forneceu um indicador de balanço simpato-vagal. Também foi calculado o Power Total (soma dos valores absolutos de todas as bandas (VLF-IP + BF-IP + AF-IP), indicador absoluto de modulação autonômica cardíaca.

Em relação a variabilidade da pressão arterial sistólica no domínio do tempo, após a obtenção dos valores médios da pressão arterial sistólica foram calculados os desvios padrões da pressão arterial sistólica (DP-PAS) e variância da pressão arterial sistólica (Var-PAS) ($\text{Var-PAS} = \text{DP-PAS}^2$). A análise no domínio da frequência também foi realizada através da Transformada Rápida de Fourier, onde foi obtido a banda de baixa frequência da pressão arterial sistólica (BF-PAS: 0,4-1,50Hz). Todos os parâmetros obtidos na variabilidade da pressão arterial sistólica são indicadores de modulação simpática vascular (41)

5.6 Hemogasometrias arteriais

No dia 4 as amostras de sangue arterial foram coletadas diretamente da cânula posicionada na artéria femoral. Representadas por amostras de 0,2ml, coletadas com seringas BD-Ultrafine de 1ml e processadas instantaneamente em equipamento EPOC® utilizando cartuchos bgem.

Os momentos de coleta foram: basal, 2h (após intervenção cirúrgica – CLP) e final (choque séptico – PAM<65mmHg).

5.8 Análise estatística

A análise dos dados foi realizada através do software GraphPad Prisma (versão 8.0.1). A apresentação dos dados é feita através de média e erro padrão. A distribuição dos dados foi avaliada através do teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov. A comparação entre os grupos foi realizada através do teste de Wilcoxon. As correlações foram realizadas utilizando correlação de Spearman. As curvas de mortalidade foram comparadas utilizando o teste de gehan-breslow-wilcoxon. Foram considerados estatisticamente significantes valores de $p < 0,05$

6. Resultados

6.1 – Efeitos da desnervação

6.1.1 – Parâmetros hemodinâmicos

O grupo desnervado (3 dias) apresentou taquicardia e aumento da pressão arterial diastólica, em comparação ao grupo sham, porém não foi observada alteração significativa em parâmetros de pressão arterial sistólica e média (Tabela 1).

Tabela 1 - Parâmetros hemodinâmicos

Parâmetro	Sham	Desnervados	Δ	p
	N=16	N=16		
Frequência cardíaca (bpm)	369,1 ± 9,663	458,6 ± 9,471	89,48	<0,0001*
Pressão arterial sistólica (mmHg)	142,2 ± 1,809	144,0 ± 5,379	1,823	0,3484
Pressão arterial diastólica (mmHg)	96,78 ± 1,754	104,8 ± 4,685	8,064	0,0433*
Pressão arterial média (mmHg)	116,7 ± 1,645	121,2 ± 2,017	4,573	0,1591

6.1.2 – Parâmetros de variabilidade da frequência cardíaca

O grupo desnervado apresentou menor variabilidade da frequência cardíaca em comparação ao grupo sham, de acordo com a diminuição dos valores dos parâmetros desvio padrão do intervalo de pulso (SD-IP), variância do intervalo de pulso (Variance IP) e power total. Os índices RMSSD, parâmetro que representa modulação parassimpática, e VLF também se apresentaram diminuídos para o grupo da intervenção. Os parâmetros de variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência (LF, HF) e a razão LF/HF não demonstraram alteração significativa entre os grupos (Tabela 2)

Tabela 2 - Variabilidade fc

Parâmetro	Sham	Desnervado	Δ	P
	N=16	N=16		
SD IP (ms)	8,541 \pm 0,7412	4,314 \pm 0,6353	-4,228	0,0013*
Variance IP (ms ²)	81,20 \pm 14,98	24,65 \pm 7,946	-56,55	0,0034*
RMSSD (ms ²)	6,135 \pm 0,8074	3,476 \pm 0,4049	-2,659	0,0034*
VLF abs	24,46 \pm 3,963	8,367 \pm 4,756	-16,09	0,0076*
LF abs	6,286 \pm 1,749	2,569 \pm 1,317	-3,717	0,0739
HF abs	12,77 \pm 3,300	6,503 \pm 2,391	-6,272	0,0507
LF/HF	0,5914 \pm 0,1416	0,2742 \pm 0,03840	-0,3171	0,0934
Power Total	43,52 \pm 6,994	17,44 \pm 8,401	-26,08	0,0110*

6.1.3 – Parâmetros de variabilidade da pressão arterial sistólica

Dentre os parâmetros de variabilidade da pressão arterial sistólica (PAS) os valores de desvio padrão e variação da PAS (indicadores de modulação simpática vascular) do grupo desnervado foram maiores comparados ao grupo sham. Não houve alteração com relação a banda de baixa frequência da pressão arterial sistólica (Tabela 3)

Tabela 3 – Variabilidade PAS

Parâmetro	Sham	Desnervados	Δ	p
	N=16	N=16		
Desvio padrão PAS (mmHg)	5,151 \pm 0,284	11,83 \pm 1,532	6,683	<0,0001*
Variance PAS (mmHg ²)	29,4 \pm 4,647	126,9 \pm 52,79	99,18	0,0042*
LF – PAS	7,896 \pm 1,791	9,575 \pm 2,287	1,679	0,7820

6.1.4 – Análise Simbólica

De acordo com a avaliação da análise simbólica o domínio simpático (0v) demonstrou-se aumentado para o grupo desnervado em comparação ao grupo controle (Tabela 4)

Tabela 4 – Análise simbólica

Parâmetro	Sham N=16	Desnervado N=16	Δ	P
0V	32,83 ± 3,041	48,12 ± 4,727	15,29	0,0443*
1V	38,65 ± 1,337	31,98 ± 2,890	-6,675	0,0594
2V	28,52 ± 2,786	19,91 ± 2,205	-8,606	0,0654

6.1.5 – Sensibilidade barorreflexa espontânea

Todos os parâmetros de sensibilidade barorreflexa se apresentaram alterados de forma significativa para o grupo desnervado, com exceção do BRR UP GAIN.

Os parâmetros relacionados a pressão arterial, UP BP RAMP, DOWN BP RAMP, ALL BP RAMP, foram todos maiores para o grupo desnervado. Os demais parâmetros estavam todos reduzidos – indicando diminuição da sensibilidade barorreflexa para o grupo (Tabela 6), o que é esperado nessa condição.

Tabela 6 – Parâmetros de sensibilidade barorreflexa

Parâmetro	Sham N=16	Desnervado N=16	Δ	P
Índice alfa (bpm/mmHg)	0,8761 ± 0,08512	0,4859 ± 0,07914	-03903	0,0027*
UP BP RAMP	282,2 ± 19,07	331,8 ± 13,72	49,56	0,0079*
DOWN BP RAMP	231,3 ± 15,86	315,8 ± 17,12	84,44	0,0008*
ALL BP RAMP	513,5 ± 32,79	647,5 ± 24,07	134,0	0,0027*
BRR UP	91,44 ± 9,669	40,88 ± 7,324	-50,56	0,0002*
BRR DOWN	66,25 ± 8,445	40,88 ± 7,324	-25,38	0,0210*
BRR ALL	157,7 ± 17,27	79,69 ± 11,35	-78,00	0,0003*
BRR UP BEI	0,3295 ± 0,02410	0,1274 ± 0,02275	-0,2021	<0,0001*
BRR DOWN BEI	0,2943 ± 0,02996	0,1358 ± 0,02112	-0,1586	0,0002*
BRR ALL BEI	0,3138 ± 0,02569	0,1326 ± 0,02132	-0,1812	<0,0001*
BRR UP GAIN	2,768 ± 0,2569	2,068 ± 0,3593	-0,6998	0,0833
BRR DOWN GAIN	2,379 ± 0,2202	1,694 ± 0,2118	-0,6856	0,0335*
BRR ALL GAIN	2,618 ± 0,2255	1,915 ± 0,2595	-0,7037	0,0443*

6.1.6 – Hemogasometrias

Não foram observadas alterações significativas nos parâmetros: pH, pCO₂, pO₂, sO₂, HCO₃, BE, Na, K, Ca, Cl.

O grupo desnervado apresentou valores maiores de hematócrito, hemoglobina, glicemia, lactato e creatinina em comparação ao grupo sham (Tabela 7)

Tabela 7 – Hemogasometrias

Parâmetro	Sham N=8	Desnervado N=8	Δ	P
pH	7,469 ± 0,01120	7,449 ± 0,01543	-0,02056	0,1136
pCO ₂	30,56 ± 1,152	36,08 ± 2,164	5,513	0,0507
pO ₂	76,76 ± 2,459	67,17 ± 3,672	-9,588	0,0250
SO ₂	93,74 ± 1,061	90,20 ± 1,808	-3,544	0,1164
HCO ₃	23,06 ± 0,6090	24,36 ± 0,8864	1,294	0,2688
BE	-1,294 ± 0,7885	0,6688 ± 0,9618	1,963	0,2261
Na	146,8 ± 0,6206	144,4 ± 0,8892	-2,438	0,1237
K	3,506 ± 0,1070	3,475 ± 0,1588	-0,03125	0,9695
Ca	1,011 ± 0,06274	0,9494 ± 0,07397	-0,06188	0,7340
Cl	111,2 ± 0,8766	107,4 ± 1,522	-3,750	0,0752
Ht	41,41 ± 1,571	45,66 ± 2,131	4,250	0,0114*
Hb	13,94 ± 0,4921	15,32 ± 0,6767	1,375	0,0137*
Glu	145,8 ± 10,25	184,5 ± 9,881	38,69	0,0114*
Lac	1,218 ± 0,1171	2,287 ± 0,3493	1,069	0,0023*
Crea	0,3706 ± 0,01453	0,4994 ± 0,03878	0,1288	0,0178*

6.1.7 – Estudos de Correlação

O valor de hematócrito do grupo desnervado se correlacionou de forma positiva com a pressão arterial média, com o domínio simpático da análise simbólica (0v) e com o desvio padrão da pressão arterial, porém correlacionou-se de forma negativa com o domínio parassimpático da análise simbólica (2v) (Figura 6)

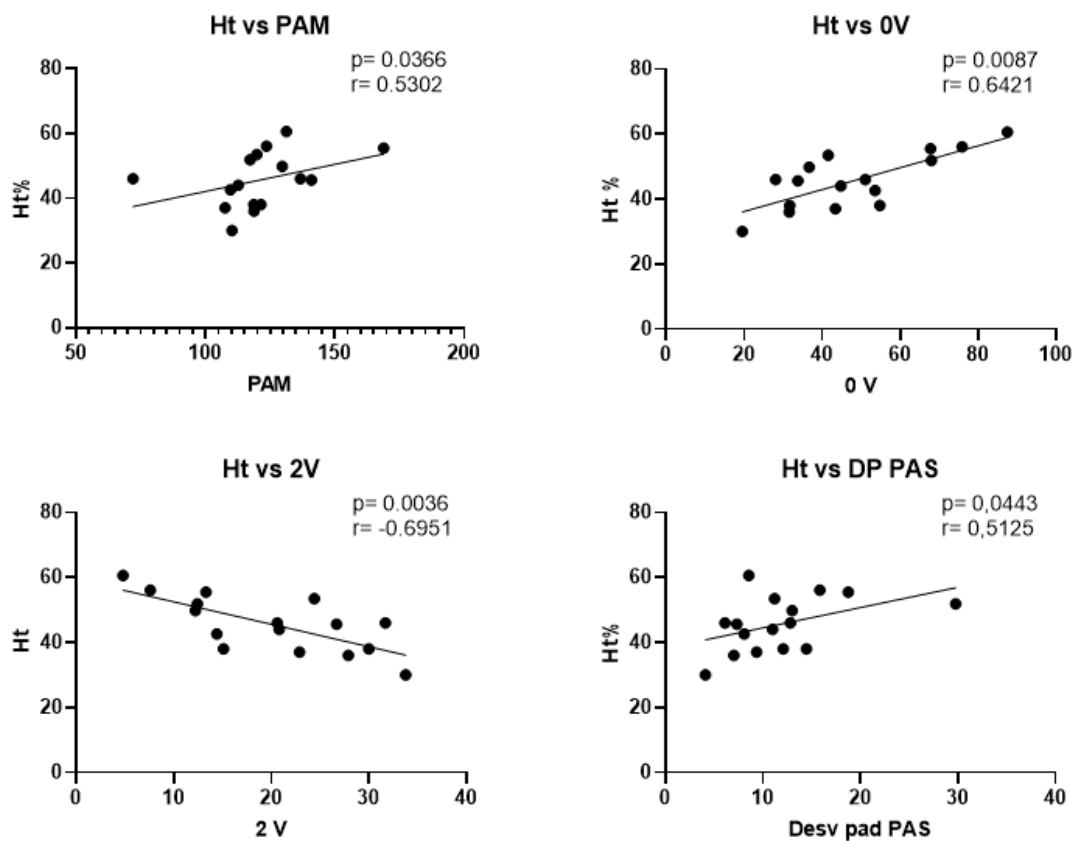


Figura 6: Correlação entre hematócrito e pressão arterial média, análise simbólica e desvio padrão da pressão arterial

O grupo desnervado apresentou correlação positiva entre glicemia sérica e parâmetros de sensibilidade barorreflexa espontânea, índice alfa e IGB (Figura 7)

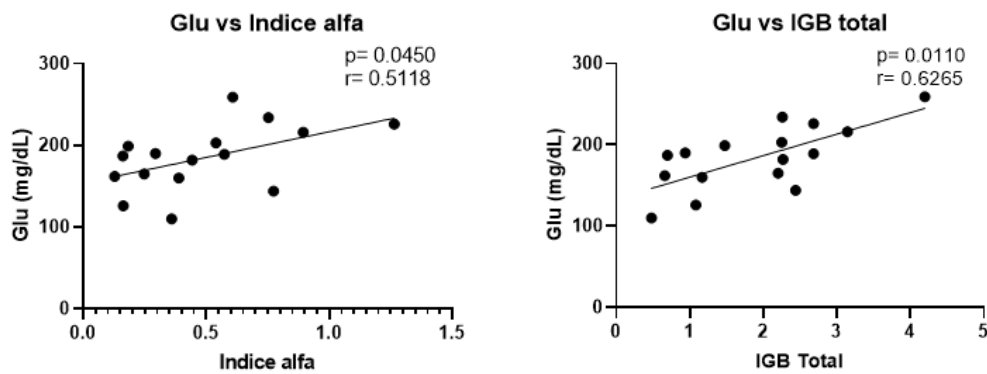


Figura 7: Correlação positiva entre glicose e sensibilidade barorreflexa espontânea

Observou-se correlação positiva entre glicose e domínio simpático da análise simbólica e correlação negativa com domínio parassimpático (Figura 8)

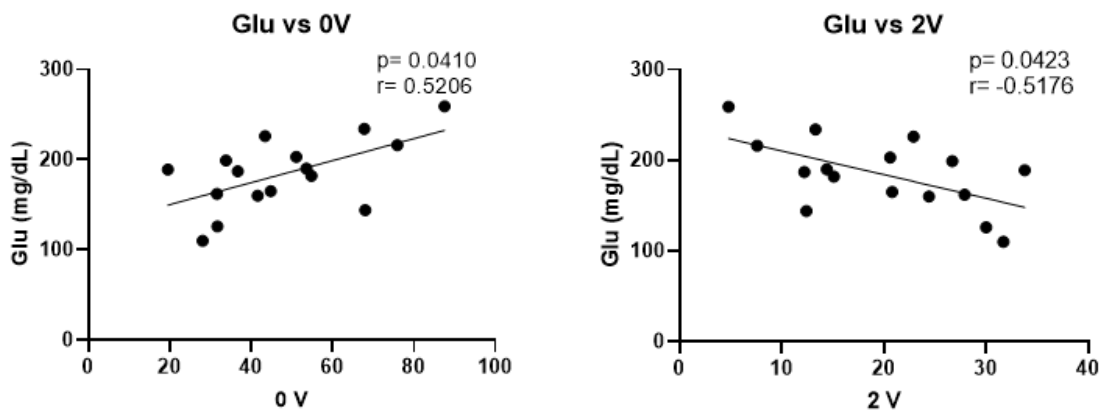


Figura 8: Correlação entre glicose e análise simbólica

O cloro apresentou correlação negativa com o domínio simpático da análise simbólica e positiva com o domínio parassimpático (2v), assim como o sódio. O potássio apresentou o inverso, correlação positiva com 0v e negativa com 2v (Figura 9).

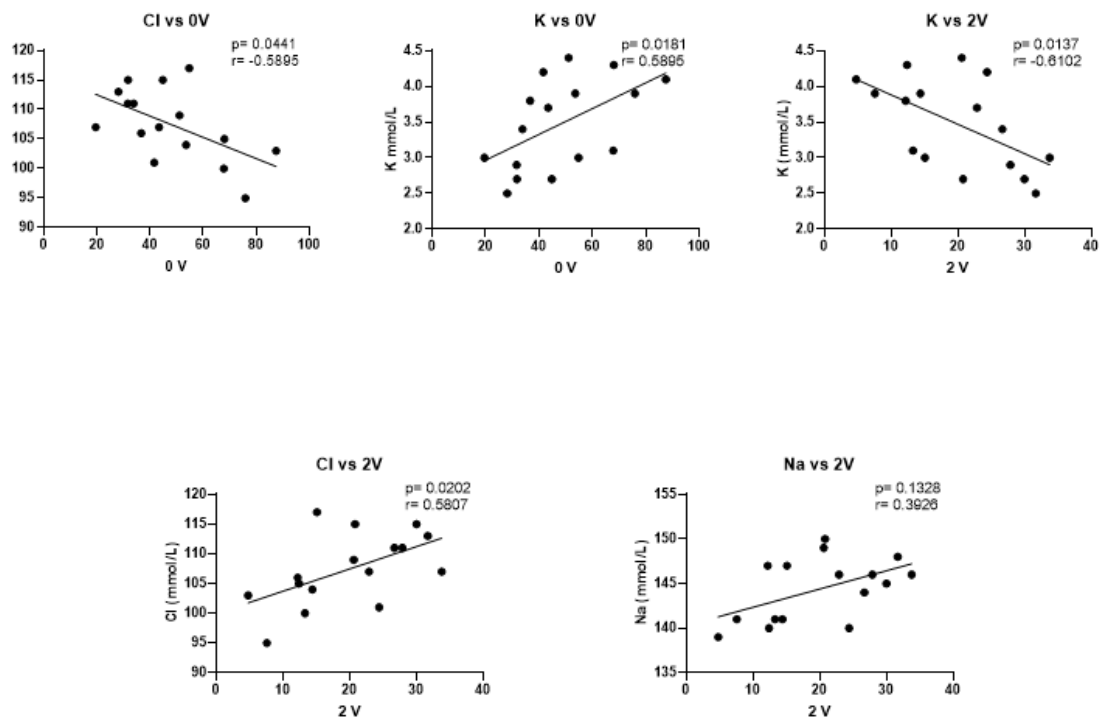
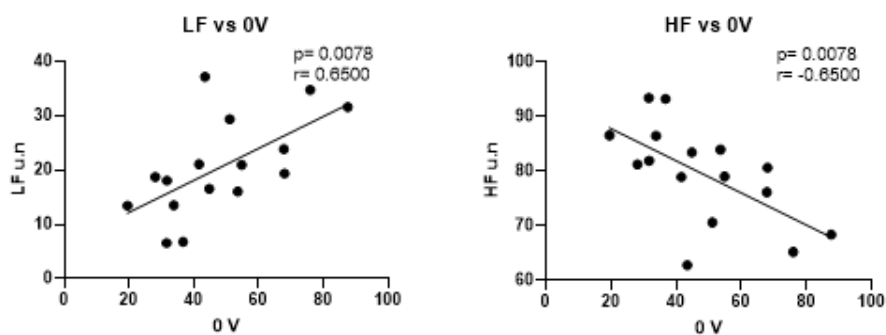


Figura 9: Correlação entre eletrólitos e análise simbólica

O parâmetro de variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência LF e a razão LF/HF se correlacionaram de forma positiva com o domínio simpático da análise simbólica (0v), enquanto o parâmetro HF apresentou correlação negativa com o mesmo domínio (Figura 10).



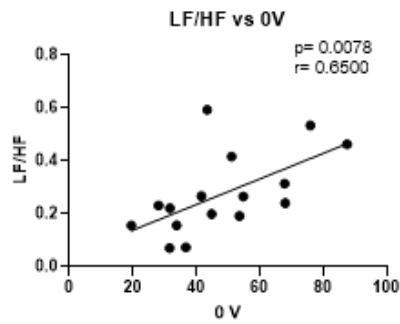


Figura 10: Correlação entre parâmetros de variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência e análise simbólica do grupo desnervado

O domínio parassimpático da análise simbólica (2v) apresentou correlação negativa com o desvio padrão da pressão arterial sistólica (Figura 11)

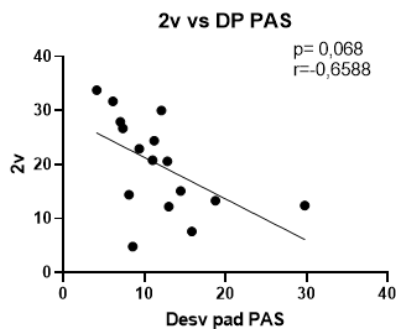


Figura 11: Correlação entre análise simbólica e desvio padrão da pressão arterial sistólica do grupo desnervado

A creatinina se correlacionou de forma positiva com o parâmetro LF da variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência e de forma negativa com o parâmetro HF (Figura 12)

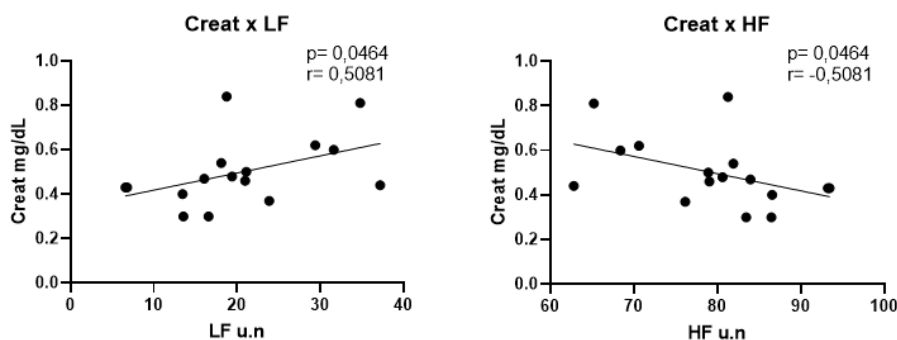


Figura 12: Correlação entre creatinina e variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência do grupo desnervado

Os parâmetros metabólicos pCO₂ e hematócrito apresentaram correlação positiva com o desvio padrão da pressão arterial sistólica (Figura 13)

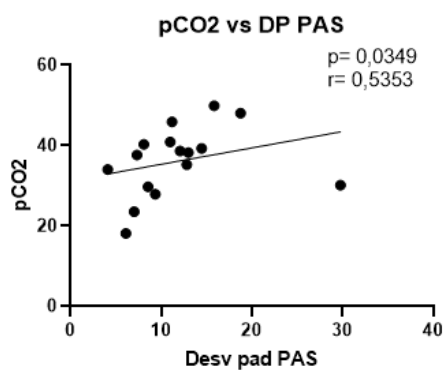


Figura 13: Correlação entre pCO₂ e desvio padrão da pressão arterial

6.2 Efeitos da sepse induzida por ligadura e punção cecal: Sham x Sham sepse x DSA x DSA sepse

6.2.1 Parâmetros hemodinâmicos:

Na 2a hora, o grupo DSA sepse apresentou menor pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) em comparação aos grupos sham e sham sepse, e menor pressão arterial sistólica (PAS) em comparação ao grupo sham.

No momento final, o grupo sham sepse apresentou menor PAD, PAS e PAM em comparação ao grupo sham; o grupo DSA sepse também apresentou diminuição de PAD, PAS e PAM em comparação ao grupo sham e ao grupo DSA.

O grupo sham sepse apresentou taquicardia quando comparado ao grupo sham, tanto na 2a hora quanto no momento final, provavelmente associada a ação do barorreflexo que estava íntegro nesse grupo (Figura 14) (Tabela 1 – apêndice)

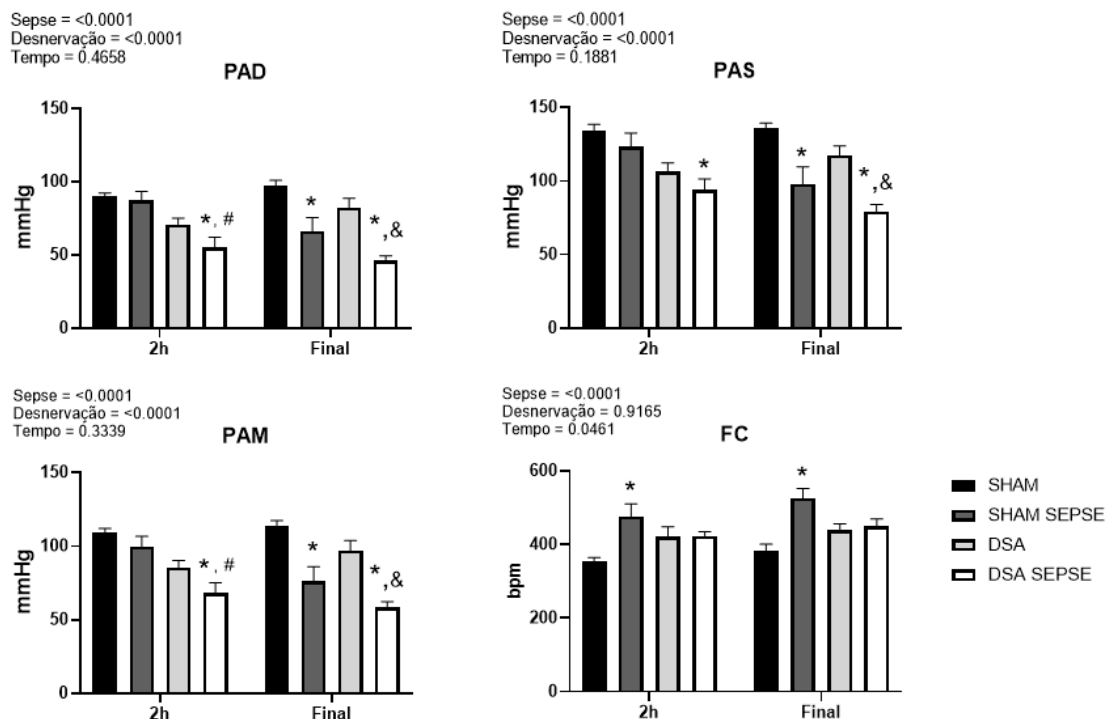


Figura 14: Parâmetros hemodinâmicos.

Legenda * $p < 0,05$ vs sham; # $p < 0,05$ vs sham sepse; & $p < 0,05$ vs das

6.2.2 Variabilidade da frequência cardíaca

Na análise da VFC no domínio do tempo não foram observadas diferenças estatísticas no desvio padrão do intervalo de pulso (SD-PI) entre os grupos na 2a hora, porém no momento final ele se apresentou diminuído para o grupo sham sepsse em comparação ao grupo sham. O grupo DSA sepsse também demonstrou diminuição de SD-PI quando comparado ao grupo sham e ao grupo DSA. (Tabela 2 – apêndice)

O parâmetro RMSSD não demonstrou alteração estatisticamente significativas entre os grupos, em ambos os momentos analisados (Figura 15) (Tabela 2 - Apêndice)

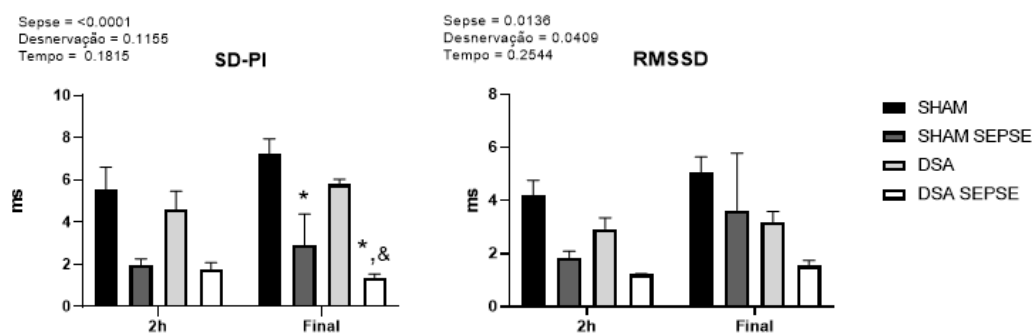


Figura 15: Parâmetros de variabilidade da frequência cardíaca – Domínio do tempo.
 Legenda * $p < 0,05$ vs sham; # $p < 0,05$ vs sham sepsse; & $p < 0,05$ vs dsa

A análise da variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência foi realizada através dos parâmetros: low frequency (LF), high frequency (HF) e razão LF/HF, não sendo demonstrada alteração significativa para os parâmetros entre os grupos, na segunda hora.

No momento final o grupo DSA apresentou aumento de LF e da razão LF/HF e diminuição de HF em comparação ao grupo sham sepsse. O grupo DSA sepsse apresentou diminuição de LF e aumento de HF em comparação ao grupo DSA e ao grupo sham, e diminuição da razão LF/HF em comparação ao grupo DSA (Figura 16) (Tabela 3 - Apêndice)

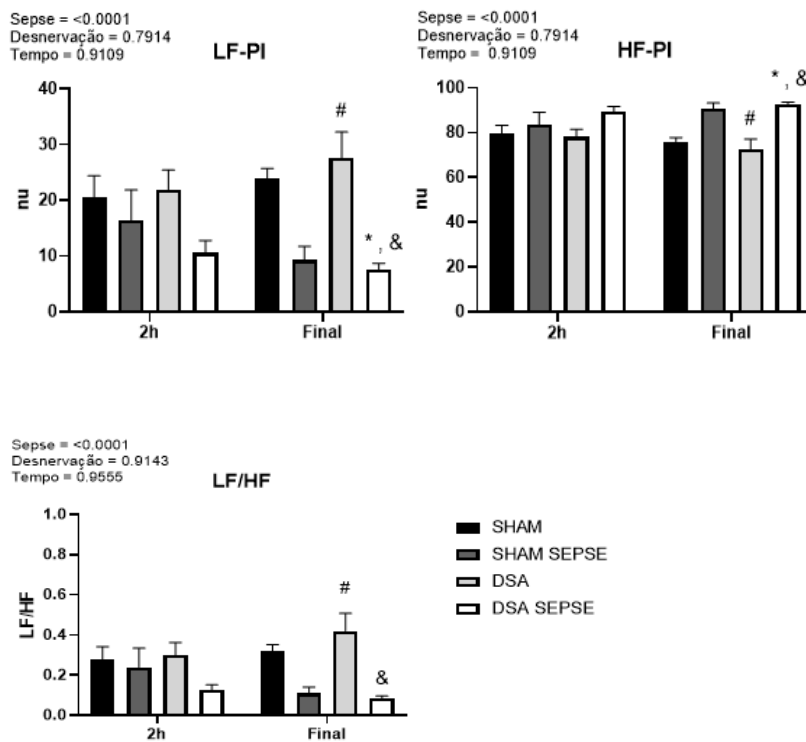


Figura 16: Parâmetros de variabilidade da frequência cardíaca – Domínio da frequência
 Legenda * $p < 0,05$ vs sham; # $p < 0,05$ vs shadasepse; & $p < 0,05$ vs dsa

6.2.3 Variabilidade da pressão arterial sistólica

Não houve diferença significativa entre os grupos no desvio padrão da pressão arterial sistólica (SD-PAS) na 2a hora, porém no momento final o grupo DSA apresentou aumento significativo em comparação ao grupo sham.

O grupo DSA sepse apresentou redução de LF-PAS em comparação ao grupo sham na 2a hora, porém no momento final não foram observadas alterações significativas entre os grupos (Figura 17) (Tabela 4 – apêndice)

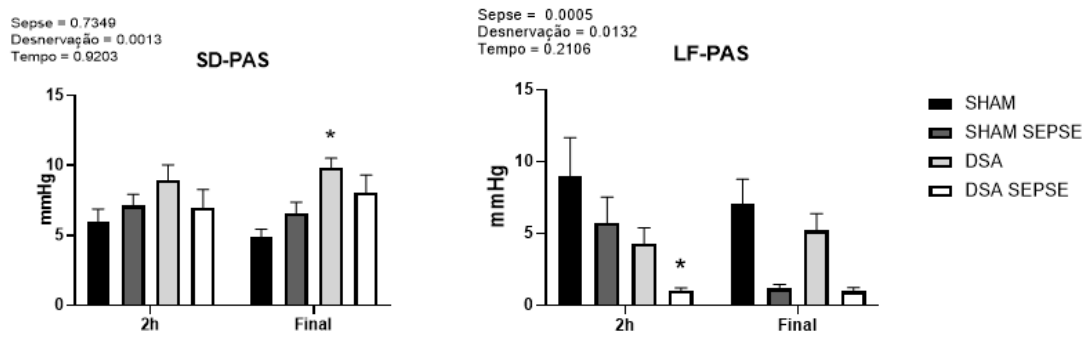


Figura 17: Parâmetros de variabilidade da pressão arterial
 Legenda * $p < 0,05$ vs sham; # $p < 0,05$ vs sham sepsis; & $p < 0,05$ vs dsa

6.2.4 Análise simbólica:

Não foi observada alteração significativa entre os grupos, em nenhum dos momentos para os parâmetros da análise simbólica (Figura 18) (Tabela 5 - Apêndice)

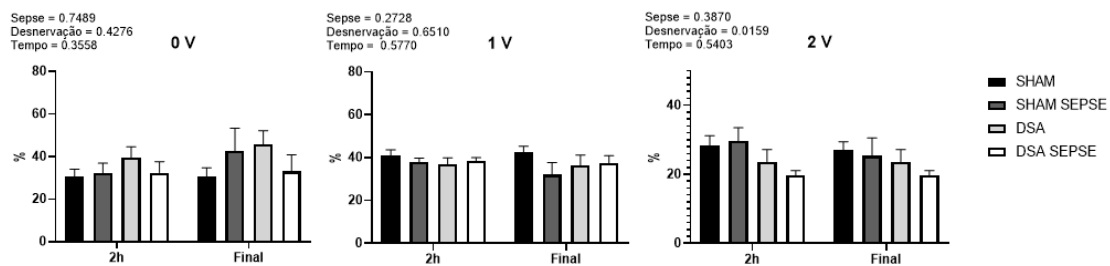


Figura 18: Parâmetros da análise simbólica
 Legenda * $p < 0,05$ vs sham; # $p < 0,05$ vs sham sepsis; & $p < 0,05$ vs dsa

6.2.5 Sensibilidade barorreflexa espontânea

Não houve diferença significativa na comparação do índice alfa entre os grupos na segunda hora, porém no momento final o grupo sham sepsis apresentou menor índice comparado ao grupo sham, indicando que a sepsis possa ter favorecido essa redução (Figura 19).

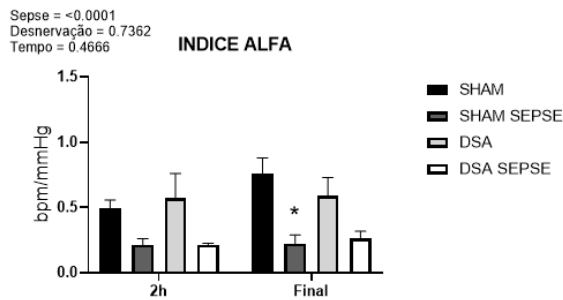


Figura 19: Sensibilidade barorreflexa espontânea - Índice alfa
Legenda * $p < 0,05$ vs sham; # $p < 0,05$ vs sham sepse; & $p < 0,05$ vs DSA

Na segunda hora e no momento final os grupos sham sepse, DSA e DSA sepse demonstraram diminuição de BRR UP e BRR DOWN. Com relação a análise total, BRR ALL, na segunda hora o grupo DSA sepse demonstrou diminuição em comparação ao grupo sham e no momento final tanto o sham sepse, quanto os DSA e DSA sepse demonstraram diminuição em comparação com o grupo sham (Figura 20) (Tabela 06 – Apêndice).

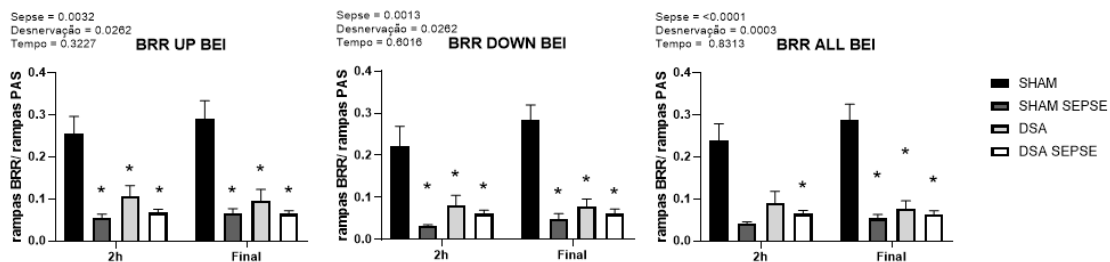


Figura 20: Sensibilidade barorreflexa espontânea – Índice de eficácia barorreflexa
Legenda * $p < 0,05$ vs sham; # $p < 0,05$ vs sham sepse; & $p < 0,05$ vs dsa

6.2.6 Hemogasometrias

Não houve alteração significativa de pH entre os grupos, independente do momento de análise.

Na segunda hora não foi evidenciada diferença estatística na pressão parcial de CO₂ (pCO₂) entre os grupos, porém no momento final o grupo sham sepse apresentou diminuição em comparação ao grupo sham e o grupo DSA apresentou aumento em comparação ao grupo sham sepse.

O grupo sham sepse apresentou diminuição do bicarbonato sérico em comparação ao grupo sham, na segunda hora e no momento final. Apresentou,

também, diminuição quando comparado a ele mesmo na segunda hora. Já o grupo DSA apresentou aumento de HCO₃ em comparação ao sham sepse, e o grupo DSA sepse apresentou diminuição em comparação aos grupos sham e DSA, no momento final.

Não foi observada diferença significativa entre os grupos do parâmetro base excess (BE) na segunda hora. Já no momento final, o grupo sham sepse apresentou diminuição em comparação com o grupo sham e em comparação com ele mesmo na 2a hora; o grupo DSA apresentou aumento em comparação ao grupo sham sepse; o grupo DSA sepse apresentou diminuição em comparação ao sham, ao DSA e a ele mesmo no momento 2a hora (Figura 21) (Tabela 07 – Apêndice).

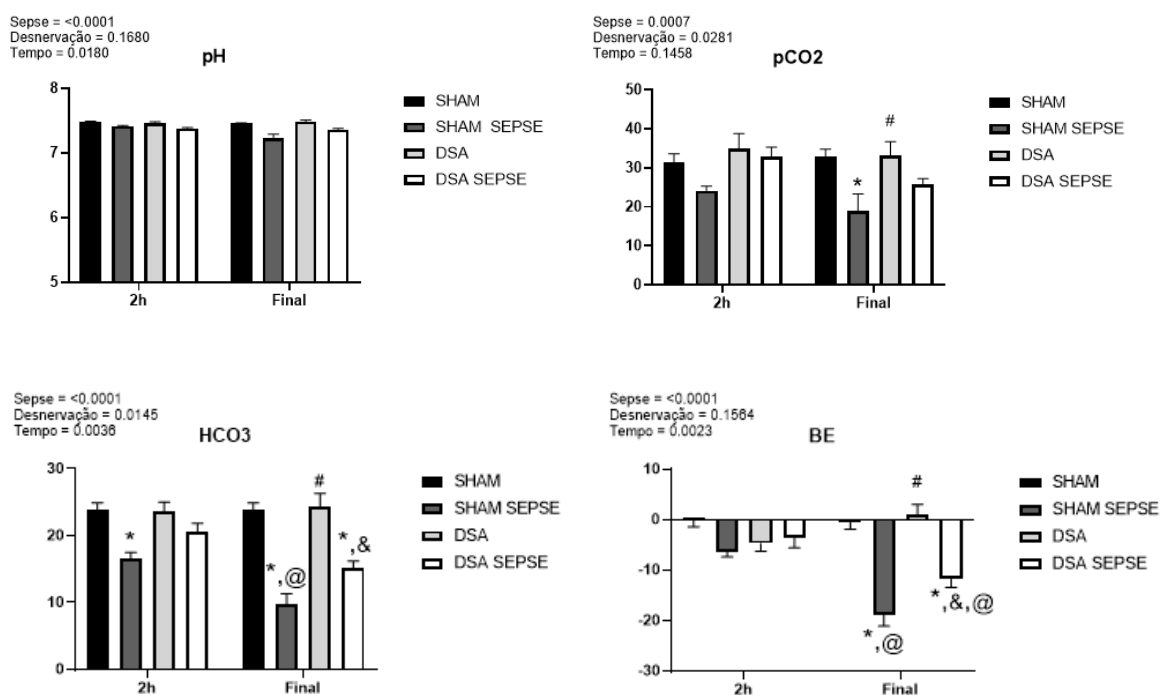


Figura 21: Hemogasometria – Equilíbrio ácido-base
 Legenda * p<0,05 vs sham; # p<0,05 vs sham sepse; & p<0,05 vs DSA; @ p<0,05 vs mesmo grupo na 2a hora

Os parâmetros de hematócrito e hemoglobina não apresentaram diferença estatística significativa entre os grupos, independente do momento das análises (Figura 22).

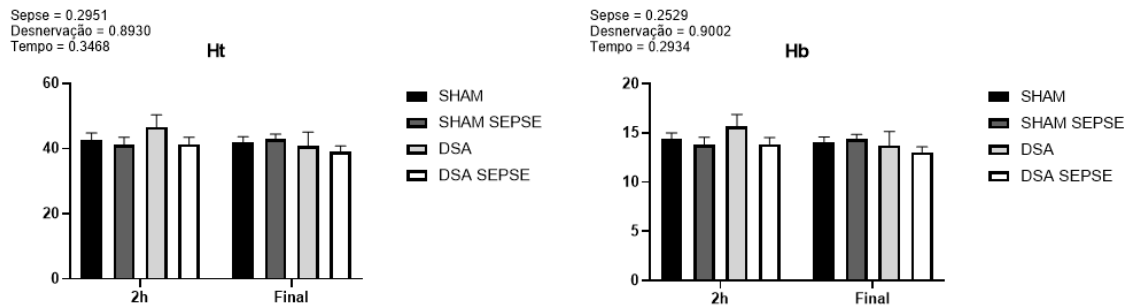


Figura 22: Hemogasometria – Hematócrito e hemoglobina

Legenda * $p < 0,05$ vs sham; # $p < 0,05$ vs sham sepse; & $p < 0,05$ vs das; @ $p < 0,05$ vs mesmo grupo na 2a hora

Na segunda hora não foi observada alteração estatisticamente significativa no perfil eletrolítico (potássio, sódio, cloro e cálcio) dos grupos avaliados.

No momento final o grupo sham sepse apresentou aumento de potássio (K) e cloro (Cl) em comparação ao grupo sham, além de ter apresentado aumento do K em comparação com ele mesmo entre os momentos avaliados. Não foram observadas alterações significativas em sódio e cálcio entre os grupos no momento final (Figura 23).

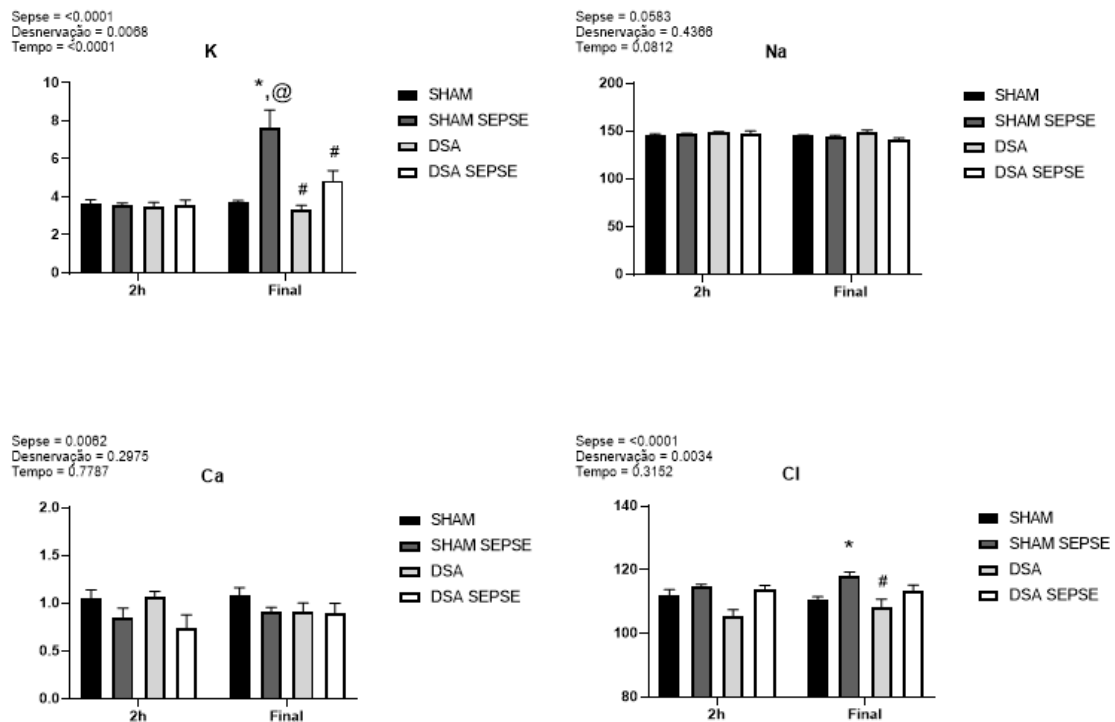


Figura 23: Hemogasometria – Perfil eletrolítico

Legenda * $p < 0,05$ vs sham; # $p < 0,05$ vs sham sepse; & $p < 0,05$ vs DSA; @ $p < 0,05$ vs mesmo grupo na 2a hora

Na segunda hora não foi observada alteração significativa de glicose e lactato entre os grupos analisados.

O grupo sham sepsse apresentou diminuição do valor de glicemia e aumento do valor de lactato entre a 2a hora e o momento final. O grupo DSA sepsse apresentou aumento progressivo do lactato ao longo do período de avaliação, demonstrando maior valor no momento final

O grupo DSA sepsse apresentou aumento da glicemia em comparação ao grupo sham sepsse, no momento final

O grupo sham sepsse apresentou aumento do lactato em comparação ao grupo sham, no momento final, assim como o grupo DSA sepsse.

Na segunda hora tanto o grupo sham sepsse quanto o grupo DSA sepsse apresentaram aumento do valor de creatinina em comparação ao grupo sham.

No momento final todos os grupos apresentaram aumento da creatinina em comparação com o grupo sham; o grupo sham sepsse e DSA sepsse apresentaram aumentos progressivos durante os momentos de análise (Figura 24)

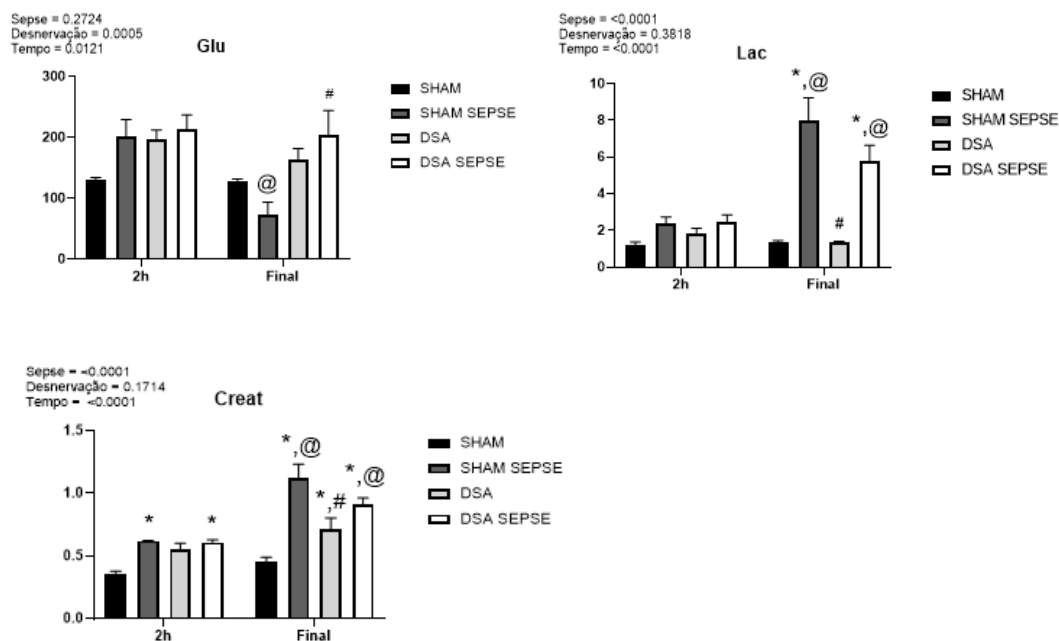


Figura 24: Hemogasometria – Perfil metabólico

Legenda * p<0,05 vs sham; # p<0,05 vs sham sepsse; & p<0,05 vs DSA; @ p<0,05 vs mesmo grupo na 2a hora

7. Curva de mortalidade

Um dos principais objetivos do nosso trabalho foi avaliar a importância da integridade do sistema nervoso autônomo no curso temporal da sepse. Os dados da curva de mortalidade (Figura 25) demonstram que os animais do grupo DSA sepse apresentam mortalidade de forma precoce comparado ao sham sepse ($p=0,089$).

Na 3a hora 75% dos animais desnervados haviam evoluído para óbito, enquanto somente 12,5% dos animais do grupo sham sepse haviam apresentado mortalidade. Ao final da 4a hora de experimento o grupo DSA sepse já apresentava 87,5% de mortalidade vs. 37,5% no grupo controle.

Confirmando então desta forma a importância da integridade do sistema nervoso autônomo no curso temporal da sepse, de acordo com o impacto que a desnervação sino aórtica causou na curva de mortalidade dos grupos sépticos.

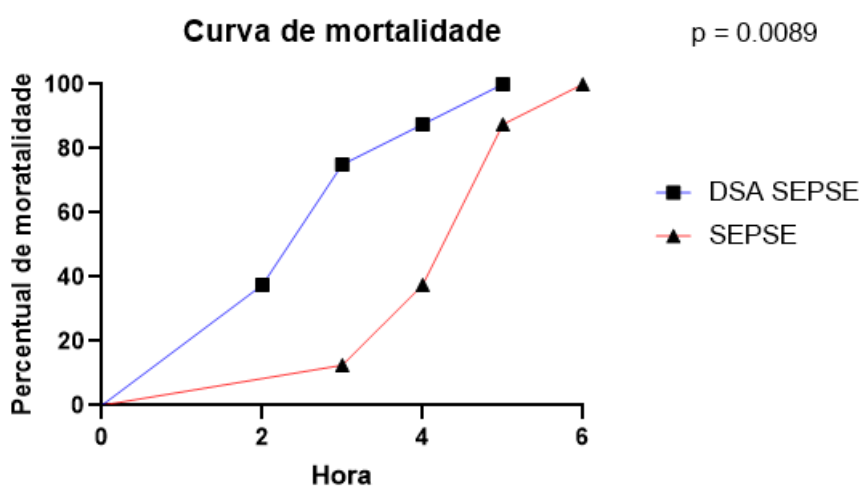


Figura 25: Curva de mortalidade

8. Discussão

8.1 Efeitos da Desnervação sino aórtica

8.1.1 Parâmetros hemodinâmicos, VFC e sensibilidade barorreflexa espontânea

A pressão arterial representa a pressão exercida pelo sangue na parede dos vasos, a pressão arterial sistólica representa a pressão referente ao momento da sístole e a diastólica no momento da diástole, sendo a última um bom marcador do tônus arterial e perfusão do ventrículo esquerdo (54). De acordo com o observado no presente estudo os animais desnervados apresentaram aumento da pressão arterial diastólica em comparação com o grupo controle, fato que poderia ser justificado pela taquicardia apresentada pelo mesmo grupo, fazendo com que houvesse diminuição no tempo diastólico do ciclo cardíaco, levando ao prejuízo do declínio diastólico da pressão arterial, de acordo com Hamzaoui, et. al. (56)

A taquicardia apresentada pelo grupo desnervado corrobora com dados da literatura que demonstraram a mesma alteração em ratos submetidos a desnervação sino aórtica, 7 dias após o procedimento (57)

A variabilidade da frequência cardíaca denota boa adaptabilidade do organismo e acoplamento entre sistema nervoso autônomo (SNA) e sistema circulatório, apresentando-se diminuída em situações de doença com adaptação anormal e insuficiente do SNA (45). A redução da VFC é apontada como um indicador de risco, em indivíduos normais e doentes, ilustrando a importância do SNA na homeostase (31). O grupo desnervado apresentou diminuição dos parâmetros globais da VFC (desvio padrão do intervalo de pulso, variância do intervalo de pulso e power total), dados que ilustram a confiabilidade da intervenção cirúrgica realizada.

A avaliação da VFC no domínio do tempo demonstrou somente diminuição do índice RMSSD para o grupo desnervado, denotando menor componente autonômico de modulação fisiológica parassimpática, ou seja, tônus vagal, para este grupo. A alteração somente em modulação parassimpática é

descrita em estágios iniciais da disfunção autonômica, já em estágios avançados de disfunção costuma ser caracterizada alteração em modulação simpática e parassimpática (58). Tal fato está de acordo com o demonstrado pelo nosso experimento, visto que a análise foi realizada em um curto período de tempo após a desnervação.

A avaliação da VFC no domínio da frequência demonstrou somente a diminuição de *very low frequency* (VLF). A utilização deste componente ainda é restrita devido ausência de completo entendimento sobre seus conceitos fisiológicos, porém acredita-se que possa estar relacionado a flutuações no sistema renina angiotensina aldosterona, termorregulação e tônus vasomotor periférico (41) Em estudo com pacientes portadores de insuficiência cardíaca congestiva VLF se demonstrou um bom preditor de risco, além de demonstrar associação com altas concentrações de peptídeo natriurético cerebral (BNP), que é utilizado como marcador de insuficiência cardíaca por ser secretado pelos ventrículos em resposta ao aumento das pressões de enchimento, presente principalmente nos quadros congestivos (59). Em estudo com pacientes infartados VLF se demonstrou o melhor preditor, dentre as análises no domínio da frequência, para taquicardia ventricular assim demonstrando sua importância como preditor de risco nesse grupo de pacientes. As demais análises, *high frequency* e *low frequency* não demonstraram significância estatística entre os grupos, apesar de ser possível a percepção de tendência de diminuição para o grupo desnervado.

Na análise dos parâmetros de variabilidade da pressão arterial sistólica (PAS) houve aumento do desvio padrão e da variância da PAS para o grupo desnervado, dado que corrobora com a literatura proposta pelo nosso grupo que considera o aumento da variabilidade da pressão arterial o marcador hemodinâmico mais importante da DSA (60), além de associá-los a redução dos índices de variabilidade da FC (57), também de acordo com o demonstrado no presente estudo. A alta variabilidade da pressão arterial característica em ratos submetidos a desnervação sino aórtica está relacionada a alterações na resistência vascular de leitos mesentéricos, renais e de membros posteriores,

além de alterações em controle da atividade vascular mediadas por vasopressina, angiotensina e mudanças posturais e respiratórias (61).

Estudos recentes demonstram que apesar de ser esperada alteração pressórica após DSA, alguns dias após a intervenção os níveis pressóricos tendem a normalizar, porém apesar da normalização da pressão arterial a sua variabilidade permanece aumentada nesses animais. Acredita-se que para essa tentativa de compensação pressórica ocorra ativação de mecanismos compensatórios, envolvendo o controle respiratório (61). Tais dados, ausência de diferença na pressão arterial entre os grupos, associada ao aumento persistente da variabilidade, são sincrônicos com os encontrados em nosso experimento, assim como no estudo proposto por Wenker et. al., que demonstrou hipertensão apenas nas primeiras 24 horas após desnervação sinoaortica em ratos, evoluindo para normotensão no terceiro dia após intervenção cirúrgica (62)

Uma das hipóteses para esse tipo de compensação da pressão arterial envolve a interação renal na promoção de natriurese e diurese nesses animais, porém *Osborn and England* refutaram essa hipótese, e associaram a alteração à falha em manter a ativação simpática de forma crônica após DSA (63)

A avaliação da análise simbólica demonstrou aumento do domínio simpático (0v) para o grupo desnervado, de acordo com dados propostos por Krieger, sobre aumento da atividade simpática e resistência vascular periférica em ratos submetidos a desnervação sino aórtica (64).

A sensibilidade barorreflexa espontânea foi analisada através do índice alfa e do índice de eficácia barorreflexa (método da sequência), se demonstrando diminuída para o grupo desnervado, o que é esperado sob a condição de retirada das aferências barorreflexas (41). Na análise do método da sequência o aumento das rampas de pressão (UP BP RAMPS, DOWN BP RAMPS, ALL BP RAMPS) apresentados pelo grupo desnervado pode correlacionar-se com o aumento da variabilidade da pressão arterial apresentada pelo mesmo grupo.

Em nosso estudo foi observada correlação positiva entre a glicemia e a sensibilidade barorreflexa espontânea (índice alfa e IGB) do grupo desnervado, fato não correlato com dados da literatura que abordam a associação entre a diminuição da sensibilidade barorreflexa e hiperglicemia de pacientes não diabéticos após acidente vascular cerebral, sendo inclusive a hiperglicemia desses pacientes um fator independente de prognóstico desfavorável nesse cenário (65)

8.1.2 Hemogasometrias

Alterações do padrão ventilatório como redução da frequência respiratória, diminuição do volume minuto e aumento do tempo inspiratório, expiratório, são descritas em ratos submetidos a DSA, porém essas alterações não foram observadas em ratos submetidos à desnervação seletiva. Tais mudanças correlacionam-se com diminuição de PaO₂ e SaO₂ associada a aumento de PaCO₂ para os animais do grupo intervenção (66). De fato, trabalho de 2001 de nosso grupo, indica redução de até 30% de redução da frequência respiratória no grupo submetido a desnervação sinoaortica, o que justificaria a interpretação de déficit ventilatório (67). Apesar de nossos dados não terem demonstrado significância estatística nos gases arteriais é possível perceber uma tendência de compatibilidade com os dados apresentados pela literatura, principalmente sobre a retenção de CO₂ (66).

O aumento de hematócrito e hemoglobina para o grupo desnervado pode sugerir hemoconcentração, talvez associada à contração esplênica que ocorre em consequência da ativação simpática (68, 69) Dado que está de acordo com a correlação positiva encontrada entre hematócrito e domínio simpático da análise simbólica (0v), pressão arterial média e desvio padrão da pressão arterial, corroborando com o entendimento sobre a ativação simpática e impacto da viscosidade sanguínea no fluxo e na pressão arterial (70). Ilustra ainda tal interrelação a correlação negativa entre hematócrito e domínio parassimpático da análise simbólica. A hemoconcentração também pode estar relacionada a possível desidratação, cabendo o questionamento sobre possível tendência a

azotemia pré-renal, sugerida para o grupo desnervado com o aumento da creatinina sérica

O aumento da glicemia e do lactato para o grupo desnervado pode estar relacionado com a ativação simpática proeminente neste grupo, uma vez que sabidamente existe a interação das catecolaminas no estímulo a glicólise, resistência insulínica e hiperlactatemia do tipo B (71).

A correlação positiva encontrada em nosso estudo, entre glicose e domínio simpático da análise simbólica (0v) e negativa entre glicose e domínio parassimpático (2v) também corrobora para esse entendimento sobre a interação metabólica do SNA. Além do que é conhecida a modulação parassimpática na secreção insulínica (72), uma vez suprimido domínio parassimpático poderia estar consequentemente suprimida essa secreção, levando a liberação deficitária e/ou insuficiente de insulina no cenário da desnervação sino aórtica.

A hiperlactatemia também pode estar correlacionada ao déficit perfusional, metabolismo anaeróbico, devido a vasoconstrição periférica, levando a hiperlactatemia tipo A (71).

É bem estabelecida na literatura a relação entre diabetes mellitus e disfunção autonômica devido a exposição crônica a situações de hiperglicemia, caracterizando desta forma as neuropatias diabéticas (73). De acordo com nossos achados, glicemia aumentada para o grupo desnervado em comparação ao grupo controle, pode gerar um questionamento sobre o impacto da disfunção autonômica na patogênese do diabetes mellitus, possivelmente atrelado a resistência insulínica gerada por mediadores contrarregulatórios como catecolaminas e glucagon, produtos da atividade simpática acentuada (74).

O cloro sérico se correlacionou de forma negativa com o domínio simpático (0v) e de forma positiva com o domínio parassimpático da análise simbólica (2v), assim como o sódio. Já o potássio apresentou o comportamento inverso, se correlacionando de forma positiva com o domínio simpático e

negativa com o domínio parassimpático, sugerindo interação ativa de sistema nervoso autônomo na homeostase desses íons.

Foi observada correlação positiva entre domínio simpático da análise da variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência (LF) e domínio simpático da análise simbólica (0v). A razão LF/HF também se correlacionou de forma positiva, sugerindo maior impacto simpático de domínio. O domínio parassimpático da variabilidade da frequência cardíaca no domínio da frequência (HF) se correlacionou de forma negativa com o domínio simpático 0v, em concordância com o predomínio simpático apresentado nesse contexto.

A correlação negativa entre o domínio parassimpático da análise simbólica (2v) e o desvio padrão da pressão arterial é consoante com o predomínio simpático característico no grupo desnervado e a ausência de linearidade no controle pressórico do mesmo grupo.

A creatinina se correlacionou de forma negativa com o domínio parassimpático da VFC (HF) e de forma positiva com o simpático (LF), sugerindo impacto negativo do estímulo adrenérgico sobre a taxa de filtração glomerular, podendo ser ilustrado de acordo com a descrição da disfunção renal associada ao estresse oxidativo em ratos submetidos à desnervação sinoaórtica (75)

8.2 Efeitos da sepse induzida por ligadura e perfuração cecal:

Sham x Sham sepse x DSA x DSA sepse

8.2.1 Parâmetros hemodinâmicos, VFC e sensibilidade barorreflexa espontânea

Na sepse a hipotensão é originada principalmente em decorrência da vasoplegia, que provoca a diminuição da resistência vascular periférica em decorrência da venodilatação (76) secundária à hiporreatividade mediada por substâncias como óxido nítrico (21). Com a queda da pressão arterial ocorre a ativação dos barorreceptores desencadeando inúmeras respostas compensatórias, dentre elas o aumento da frequência cardíaca (32).

Na 2a hora, a diminuição de PAS, PAD e PAM do grupo dsa sepse em comparação ao grupo sham e diminuição de PAD e PAM comparado ao sham sepse, são condizentes com a hipotensão comumente observada na sepse. Cabe ressaltar, entretanto, que possivelmente tal alteração pressórica não tenha sido observada no grupo sham sepse, no mesmo momento, devido a possível ativação barorreflexa ilustrada pelo aumento da frequência cardíaca para o grupo. Tal mecanismo compensatório não foi observado no grupo dsa sepse, de modo esperado, devido a desaferentação sinoaortica causada pela desnervação, denotando o prejuízo da disfunção autonômica nesse cenário, ou seja, a disautonomia pode ser um dos motivos que justifiquem a característica de apresentação heterogênea da sepse, já em sua fase inicial.

No momento final, o grupo sham sepse demonstrou diminuição de PAS, PAD e PAM em comparação com o grupo sham, fato esperado visto que de acordo com a metodologia empregada o choque séptico foi estabelecido com PAM <65mmHg. O grupo DSA sepse também apresentou menores valores de PAS, PAD e PAM em comparação ao grupo sham e ao grupo desnervado, caracterizando o impacto da sepse nesse cenário.

A diminuição do desvio padrão do intervalo de pulso (SD-IP) do grupo sham sepse em comparação com o sham e do DSA sepse em comparação com o DSA, no momento final, caracterizam a menor variabilidade da frequência

cardíaca para os grupos sépticos em comparação aos grupos controles, demonstrando o prejuízo da adaptabilidade autonômica no cenário do choque séptico tanto para o grupo desnervado quanto para o hígado, dado condizente com a literatura que cita a utilização da variabilidade da frequência cardíaca como possível marcador de gravidade, estratificação e até preditor de disfunção de múltiplos órgãos em pacientes sépticos (44).

O aumento de LF e diminuição de HF do grupo DSA em comparação com o grupo sham sepsis denota maior modulação simpática e menor parassimpática para o grupo desnervado. Já o grupo DSA sepsis comparado ao grupo sham e ao grupo DSA, demonstrou menor modulação simpática (LF). Podemos sugerir que o fator sepsis pode ter impelido impacto negativo sobre a modulação simpática no choque séptico do modelo utilizado. Dado conivente com resultados obtidos em estudo realizado por Goldstein, que demonstrou diminuição de pressão arterial média e do domínio low frequency em coelhos após a aplicação de endotoxina, sugerindo que a associação dos dois parâmetros poderia ser utilizada como marcador precoce de choque (77). Outro estudo, utilizando nosso mesmo modelo experimental de ligadura e punção cecal, também mostrou redução de componente LF e razão LF/HF para esses animais (78)

O grupo DSA sepsis demonstrou aumento de HF em comparação ao grupo desnervado e ao grupo sham, denotando maior atividade vagal cardíaca para esse grupo. Sabe-se que a modulação parassimpática além de efeitos cardiovasculares e hemodinâmicos possui importante papel imunomodulador através do reflexo anti-inflamatório colinérgico. Este reflexo iniciado pelo estímulo vagal que promove a interação da acetilcolina com receptores nicotínicos presentes em macrófagos e em outras células produtoras de citocinas, pode suprimir dessa forma principalmente a produção de TNF α e IL-6, mediadores limitantes para o início da resposta pró inflamatória (79). Sendo assim podemos sugerir a possível relação entre a disfunção autonômica, o choque e a resposta anti-inflamatória exacerbada (*compensatory antiinflammatory response – CARS*), contribuindo para o desfecho desfavorável do grupo

O grupo DSA sepse demonstrou diminuição da razão LF/HF em comparação ao grupo DSA, indicando o impacto negativo da sepse no balanço simpátovagal. De fato, tal razão pode ser utilizada como preditor de gravidade quando $<1,0$ para pacientes sépticos, podendo inclusive ser correlacionada com SOFA >3 em estudo conduzido por Barnaby, et. al. (80)

No momento final foi observada maior variabilidade da pressão arterial para o grupo DSA em comparação ao grupo controle, o que está de acordo com a literatura que a considera o principal marcador hemodinâmico da desnervação sinoaortica (60). Porém, não foi observado em nosso estudo o aumento da variabilidade da pressão arterial (BPV) para os grupos sépticos conforme descrito na literatura. Um estudo conduzido com 102 pacientes considerou tal aumento compatível com a gravidade do quadro séptico, descrevendo então sobre a possibilidade de utilizar o BPV como preditor de prognóstico e disfunção orgânica nesse cenário, ilustrando a disfunção autonômica e inabilidade em manter a linearidade do controle pressórico (81).

Na segunda hora o grupo DSA sepse apresentou diminuição da modulação vascular simpática (LF-PAS) em comparação com o grupo sham, denotando o impacto da disfunção autonômica na modulação vascular no cenário séptico.

Uma das formas de avaliar a sensibilidade barorreflexa espontânea é através do índice alfa (30), que na 2a hora não apresentou nenhuma diferença entre os grupos, porém no momento final o grupo sham sepse apresentou diminuição comparado ao grupo sham, ilustrando a menor sensibilidade barorreflexa causada pela sepse no cenário de choque séptico. Esse dado tem extrema relevância e aplicabilidade clínica podendo justificar a pior adaptabilidade e resposta autonômica contribuindo para o pior desfecho presente no choque.

Outra forma de avaliação da sensibilidade barorreflexa espontânea é através do índice de eficácia barorreflexa (ALL BEI) (45), que demonstrou o mesmo comportamento do índice alfa para o grupo sham sepse em comparação ao grupo sham, fortalecendo o dado sobre o impacto desfavorável causado pela

sepse na sensibilidade barorreflexa espontânea, conforme discutido anteriormente.

8.2.2 Hemogasometrias arteriais

A avaliação hemogasométrica não demonstrou alteração no pH dos grupos avaliados independentes do momento, fato comum inclusive em pacientes graves, devido aos inúmeros mecanismos compensatórios, como soluções tampões, mecanismo respiratório, envolvidos na regulação do pH (82).

Observou-se diminuição da pressão parcial de CO₂ (pCO₂) para o grupo sham sepsse em comparação com o grupo sepsse no momento final, fato que pode ser explicado pelo aumento da frequência respiratória que esses animais demonstraram. Esse dado é interessante de ser comparado ao apresentado pelo grupo DSA sepsse, que possivelmente não demonstrou tal diminuição da pCO₂ devido tendência à retenção e bradipneia já descrita para o modelo (61)

O grupo sham sepsse apresentou diminuição de bicarbonato (HCO₃) em comparação com o grupo sham na segunda hora e no momento final, dado que está de acordo com o descrito na literatura sobre a frequência da acidose metabólica na sepsse. É interessante observar que ao longo do período de observação o valor do bicarbonato sérico do grupo sham sepsse decaiu, sendo menor no momento final, fato que também está de acordo com a literatura que correlaciona a gravidade da acidose metabólica com a gravidade do quadro (82).

O grupo DSA sepsse também apresentou diminuição do bicarbonato quando comparado ao sham e ao DSA, no momento final, corroborando com o descrito acima.

Não foi observada alteração significativa entre os grupos para o parâmetro base excess (BE) na segunda hora, porém no momento final o grupo sham sepsse apresentou diminuição importante quando comparado ao grupo sham e a ele mesmo na 2a hora; o grupo DSA sepsse apresentou o mesmo comportamento. A utilização do BE, "*Copenhagen approach*" é feita como uma forma de definir e quantificar a acidose metabólica, sendo considerada presente quando -2mEq/L , considerando-se maior a gravidade da acidose quanto mais negativo o valor,

uma vez que a mensuração diz respeito a quantia de base necessária para restaurar o pH de 7,4, em condições estáveis de pCO₂ (40mmHg) e temperatura (37°C) (82)

É importante que os dados de equilíbrio acido-base sejam discutidos juntamente com as informações sobre o cloro, uma vez que ele é parte ativa nesse processo de regulação. Sendo assim, na segunda hora não foi observada nenhuma alteração do cloro sérico entre os grupos, porém no momento final o grupo sham sepse apresentou aumento em comparação ao grupo sham, dado que condiz com a diminuição do bicarbonato para o mesmo grupo no mesmo momento, associado a diminuição do BE, nos levando a considerar a hipótese de acidose hiperclorêmica para esses animais.

Tal discussão se faz muito interessante uma vez que na literatura é bem estabelecida a relação existente entre pacientes críticos e hiperclorêmia, justificada na maioria das vezes pelos grandes volumes de solução salina NaCl 0,9% utilizados no tratamento desses pacientes, o que em nosso cenário não é uma hipótese viável visto que esses animais não passaram por terapia. Desta forma cabe o questionamento sobre o mecanismo endógeno da hiperclorêmia na sepse, pouco discutido na literatura. Kellum, et al compararam os níveis séricos de cloro de cães saudáveis anestesiados: os animais foram submetidos a coleta basal, e posteriormente a infusão de solução salina, tendo sua segunda amostra coletada após o procedimento; esses dados foram comparados com a segunda fase do experimento onde os animais tiveram a amostra basal coletada e posteriormente foram submetidos a injeção de endotoxina, tendo novamente uma segunda amostra coletada. O aumento de cloro foi significativo após a endotoxina ($137,0 \pm 6,1$ mmol/L) em comparação ao pós-solução salina ($127,7 \pm 5,1$ mmol/L) $p=0,016$. A hipótese postulada é que ocorra o shift de cloro, do extravascular para o intravascular, secundário à injúria endotelial causada pela endotoxina (83).

Ainda na avaliação dos eletrólitos, o potássio sérico não apresentou alteração entre os grupos na 2a hora. No momento final o grupo sham sepse apresentou aumento em comparação ao grupo sham e em comparação a ele

mesmo na 2ª hora, caracterizando um aumento progressivo no decorrer do tempo. Dentre as principais causas de hipercalemia descritas pela literatura estão a injúria renal e o prejuízo na taxa de filtração glomerular (84) dados condizentes com nossos achados, de acordo com o comportamento da creatinina entre os grupos. Na segunda hora tanto o grupo sham sepse quanto o DSA sepse apresentaram aumento da creatinina em comparação ao grupo sham. No momento final esse comportamento se manteve, além disso o grupo DSA também apresentou aumento em comparação ao controle, ilustrando de forma clara o impacto da disautonomia na função renal.

Os dois grupos sépticos apresentaram evolução crescente dos valores ao longo do tempo, apresentando maiores concentrações de creatinina sérica (quando comparados a eles mesmos) no cenário do choque, ou seja, no momento final. De acordo com a literatura, a injúria renal aguda (IRA) secundária a sepse é uma complicação frequente, sendo justificada por 3 principais mecanismos: disfunção microvascular, inflamação e reprogramação metabólica. Seu diagnóstico é feito principalmente com base no aumento da creatinina sérica e diminuição do débito urinário (85), desta forma podemos sugerir que os grupos sépticos desenvolveram IRA ao longo do protocolo.

Com relação ao metabolismo energético, na segunda hora não houve alteração significativa entre os grupos.

No momento final o grupo sham sepse apresentou diminuição importante da glicemia comparado ao valor apresentado na 2ª hora, cabendo ressaltar que no primeiro momento o valor estava tendendo a hiperglicemia e evoluiu para diminuição importante com tendência a hipoglicemia, na situação do choque séptico (momento final). Dados mostram que inicialmente a sepse apresenta um estado hiper catabólico caracterizado pela hiperglicemia, que ocorre devido aos altos níveis de hormônios contrarregulatórios circulantes como cortisol, catecolaminas e citocinas inflamatórias. Isto levaria a um quadro de resistência insulínica (86) além de alterações ainda mais específicas relacionadas a sensibilidade da insulina como: inibição da atividade tirosina quinase da subunidade beta, perda de receptores de membrana secundária a atividade

proteolítica, e translocação de receptores. Já a hipoglicemia também pode ser frequente, mas está relacionada com fases mais avançadas e estado hipocatabólico com alteração do metabolismo a nível hepático e esgotamento de reservas protéicas (87) Desta forma, justificando o comportamento apresentado pelo grupo sham sepse e nos permitindo o questionamento sobre a possível utilização do perfil glicêmico como auxiliar na estratificação do momento de evolução em que o paciente se encontra. De fato, a hiperglicemia pode ser considerada para fases precoces e a hipoglicemia para fases mais tardias, ou até mesmo como um possível marcador precoce de choque. Para tal entendimento, mais estudos são necessários.

Além disso, um dado muito interessante pôde ser observado: o comportamento do grupo DSA sepse foi diferente, fazendo com que o grupo se mantivesse hiperglicêmico mesmo na fase do choque. Tal dado é importante porque denota mais uma vez o impacto da disfunção autonômica nesse cenário, corroborando com o apresentado anteriormente (capítulo 1) sobre a tendência à hiperglicemia para o grupo desnervado e o devastador impacto metabólico da disfunção autonômica.

Sobre o metabolismo do lactato, na segunda hora não foi vista alteração entre os grupos. No momento final, o grupo sham sepse e o grupo DSA sepse apresentaram comportamento semelhante. Ambos aumentaram com relação ao grupo sham, além de apresentarem aumentos progressivos em comparação a eles mesmos no decorrer dos tempos de avaliação. Conforme discutido no capítulo 1 são várias as causas e mecanismos envolvidos no aumento do lactato, dentre as principais: estímulo glicolítico, estresse adrenérgico, disfunção microcirculatória, utilização de medicamentos (principalmente medicações que podem fazer bloqueio mitocondrial como metformina) (88). Anteriormente acreditava-se que o principal mecanismo para a hiperlactatemia na sepse estava relacionado ao metabolismo anaeróbico da má perfusão, porém hoje são conhecidos mecanismos específicos relacionados ao cenário séptico, tais como: inibição da piruvato desidrogenase, inibição de complexos citocromáticos na mitocôndria, estímulo da Na/Katpase e produção de lactato pelo músculo sob estímulo β 2 adrenérgico, redução da depuração, produção pulmonar (89).

9. Conclusão

Sendo a sepse um problema de saúde mundial, com números alarmantes principalmente para países em desenvolvimento, é de extrema importância que sejam realizadas cada vez mais pesquisas com o objetivo de otimização desses números principalmente através de redução da mortalidade e complicações relacionadas ao quadro séptico.

Dentre os pontos limitantes a serem considerados para obtenção de melhores resultados nos desfechos sépticos, a precocidade do diagnóstico deve ser considerada, junto a um melhor direcionamento sobre a estratificação da fase em que o doente se encontra no momento diagnóstico. De fato, a sepse apresenta fases divergentes (estresse adrenérgico x esgotamento adrenérgico, imunoestimulação x imunossupressão) sendo necessária uma abordagem terapêutica distinta e direcionada para cada uma delas. Nosso trabalho demonstrou que a análise da variabilidade da frequência cardíaca pode ser uma ferramenta valiosa nesse cenário, principalmente como auxiliar no estadiamento do perfil autonômico e imunológico através da utilização do domínio da frequência. Nossos dados de sensibilidade barorreflexa espontânea também sugerem a importância da implementação dessa análise para monitoração na sepse.

Além disso, o impacto metabólico observado para os grupos desnervados foi alarmante, principalmente em creatinina e glicemia, sugerindo a importância da disfunção autonômica nesse cenário.

Sendo assim, concluímos que a disfunção autonômica representada pela desnervação sinoaortica, causa prejuízos hemodinâmicos e metabólicos importantes impactando de forma direta na curva de mortalidade dos animais submetidos a sepse. Esses resultados podem dar subsídios a uma valorização da avaliação autonômica nos quadros de sepse contribuindo para intervenções mais precoces e direcionadas.

Referências

- 1- Singer M, Deutschman CS, Seymour C, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA - J Am Med Assoc.* 2016;315(8):801–10.
- 2- Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Surviving sepsis campaign : international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med* 2021
- 3- Van der Poll T, Opal SM. Host-pathogen interactions in sepsis. *Lancet Infect Dis.* 2008;8(1):32–43.
- 4- Parrillo JE. Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med.* 1993;328(20):1471–7.
- 5- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med.* 2003;29(4):530–8
- 6- Badke CM, Marsillio LE, Weese-Mayer DE, Sanchez-Pinto LN. Autonomic nervous system dysfunction in pediatric sepsis. *Front Pediatr.* 2018;6:1–8
- 7- Narkiewicz K, Somers VK. The sympathetic nervous system and obstructive sleep apnea: Implications for hypertension. *J Hypertens.* 1997;15(12 II):1613–9.
- 8- Toweill D, Sonnenthal K, Kimberly B, Lai S, Goldstein B. Linear and nonlinear analysis of hemodynamic signals during sepsis and septic shock. *Crit Care Med.* 2000;28(6):2051–7
- 9- Pontet J, Contreras P, Curbelo A, Medina J, Noveri S, Bentancourt S, et al. Heart Rate Variability as Early Marker of Multiple Organ Dysfunction Syndrome in Septic Patients. *J Crit Care.* 2003;18(3):156–63.
- 10- Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and Septic Shock: A History. *Crit Care Clin.* 2009;25(1):83–101
- 11- Azevedo LCP, Machado FR. Série Clínicas de Medicina Intensiva Brasileira – Sepse. 2ª edição. São Paulo. Editora Atheneu. 2019

- 12- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*. 1992;101(6):1644–55
- 13- Silva E, Pedro M de A, Sogayar ACB, Mohovic T, Silva CL de O, Janiszewski M, et al. Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). *Crit Care*. 2004;8(4):251–60.
- 14- Machado FR, Cavalcanti AB, Bozza FA, Ferreira EM, Angotti Carrara FS, Sousa JL, et al. The epidemiology of sepsis in Brazilian intensive care units (the sepsis prevalence assessment database, SPREAD): An observational study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(11):1180–9.
- 15- Machado FR, Ferreira EM, Sousa JL, Silva C, Schippers P, Pereira A, et al. Quality improvement initiatives in sepsis in an emerging country: Does the institution's main source of income influence the results? an analysis of 21,103 patients. *Crit Care Med*. 2017;45(10):1650–9
- 16- Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*. 2006;34(6):1589–96.
- 17- Seymour CW, Gesten F, Prescott HC, Friederich ME, Iwasha TJ, Phillips GS, et al. Time to Treatment and Mortality during Mandated Emergency Care for Sepsis. *N Engl J Med*. 2017;376(23):2235-2244
- 18- Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Immunosuppression in sepsis: A novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(3):260–8.
- 19- Andersson J. The inflammatory reflex - Introduction. *J Intern Med*. 2005;257(2):122–5.
- 20- Mayeux PR. Pathobiology of lipopolysaccharide. *J Toxicol Environ Health*. 1997;51(5):415-35.

- 21- Brand MD, Nicholls DG. Assessing mitochondrial dysfunction in cells. *Biochem J.* 2011;435(2):297–312
- 22- Oliveira CMB, Sakata RK, Issy AM, Gerola LR, Salomão R. Citocinas e Dor. *Rev Bras Anesthesiol [Internet].* 2011;61(2):255–65
- 23- Curfs JHAJ, Meis JFGM, Hoogkamp-Korstanje JAA. A primer on cytokines: Sources, receptors, effects, and inducers. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10(4):742–80.
- 24- Teixeira R, Ribeiro O, Araújo D, Karina M, Brunialti C, César L, et al. T helper type cytokines in sepsis: time-shared variance and correlation with organ dysfunction and hospital mortality. 2019;3(2):79–85.
- 25- Aires, MM. *Fisiologia.* 4ª edição. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 2015
- 26- Bear, MF, Connors BW, Paradiso MA. *Neurociências: Desvendando o Sistema Nervoso.* Porto Alegre. Artmed Editora. 2007
- 27- Wehrwein EA, Orer HS, Barman SM. Overview of the Anatomy, Physiology, and Pharmacology of the Autonomic Nervous System. *Comprehensive Physiology.* 2016;6(3):1239–78.
- 28- Guyton A, Hall J. *Tratado de Fisiologia Médica.* 13 ed. Rio de Janeiro. Elsevier. 2017
- 29- Irigoyen MC, Consolim-colombo FM, Krieger EM. Controle cardiovascular regulação reflexa e papel do sistema nervoso simpático. *Rev Bras Hipertens.* 2001;8(1):55–62.
- 30- Krieger EM, Salgado HC, Michelini LC. Resetting of the baroreceptors. In: Guyton AC and Hall JE. *Cardiovascular Physiology IV. International Review of Physiology.* Vol 26. Baltimore.1982. 119-146.
- 31- Narkiewicz K, Somers VK. The sympathetic nervous system and obstructive sleep apnea: Implications for hypertension. *J Hypertens.* 1997;15(12 II):1613–9.

- 32- Michelini LC. Regulação neuroendócrina do sistema cardiovascular. In: Neuroendocrinologia básica e aplicada. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005
- 33- Michelini, LC. Regulação momento a momento da pressão arterial na normo e na hipertensão. *Hipertensão*. 2000; 3: 90-8.
- 34- Sieck GC. Oxygen sensing in health and disease. *J Appl Physiol*. 2004;96(1):1–2
- 35- Arendse LB, Jan Danser AH, Poglitsch M, Touyz RM, Burnett JC, Llorens-Cortes C, et al. Novel therapeutic approaches targeting the renin-angiotensin system and associated peptides in hypertension and heart failure. *Pharmacol Rev*. 2019;71(4):539–70.
- 36- Manelli, M, Pupilli, C, Lanzillotti, L, Serio I. Catecholamines and blood pressure regulation. *Horm Res*. 1990;7(2):1–16.
- 37- Johnston BW, Barrett-Jolley R, Krige A, Welters ID. Heart rate variability: Measurement and emerging use in critical care medicine. *J Intensive Care Soc*. 2020;21(2):148–57.
- 38- Acharya UR, Joseph AP, Choo NE, Lim M, Suri AS. Heart rate variability : a review. 2006;1031–51.
- 39- Garrard CS, Kontoyannis DA, Piepoli M. Spectral analysis of heart rate variability in the sepsis syndrome. *Clin Auton Res*. 1993;3(1):5–13.
- 40- Gardim CB, de Oliveira BAP, Bernardo AFB, Gomes RL, Pacagnelli FL, Lorençoni RMR, et al. Variabilidade da frequência cardíaca em crianças com diabetes melito tipo 1. *Rev Paul Pediatr*. 2014;32(2):279–85.
- 41- Vanderlei LCM, Pastre CM, Hoshi RA, Carvalho TD de, Godoy MF de. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2009;24(2):205–17.

- 42- Porta A, Guzzetti S, Montano N, Furlan R, Pagani M, Malliani A, et al. Entropy , Entropy Rate , and Pattern Classification as Tools to Typify Complexity in Short Heart Period Variability Series. 2001;48(11):1282–91..
- 43- Guzzetti S, Borroni E, Garbelli PE, Ceriani E, Bella P Della, Montano N, et al. Symbolic Dynamics of Heart Rate Variability A Probe to Investigate Cardiac Autonomic Modulation. 2005;
- 44- Pontet J, Contreras P, Curbelo A, Medina J, Noveri S, Bentancourt S, et al. Heart Rate Variability as Early Marker of Multiple Organ Dysfunction Syndrome in Septic Patients. *J Crit Care*. 2003;18(3):156–63.
- 45- Silva LEV, Dias DPM, Da Silva CAA, Salgado HC, Fazan R. Revisiting the sequence method for baroreflex analysis. *Front Neurosci*. 2019;13:1–10.
- 46- Badke CM, Marsillio LE, Weese-Mayer DE, Sanchez-Pinto LN. Autonomic nervous system dysfunction in pediatric sepsis. *Front Pediatr*. 2018;6:1–8
- 47- Rittirsch D, Huber-lang MS, Flierl MA, Ward PA. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. 2009;4(1):31–6.
- 48- Gutierrez G, Das A, Ballarino G, Beyzaei-Arani A, Turkan H, Wulf-Gutierrez M, et al. Decreased respiratory rate variability during mechanical ventilation is associated with increased mortality. *Intensive Care Med*. 2013 39:1359–67
- 49- Czura C, Tracey K. Autonomic neural regulation of immunity. *J Int Med*. 2005. 257:156–66
- 50- Cooper TM, McKinley PS, Seeman TE, Choo TH, Lee S, Sloan RP. Heart rate variability predicts levels of inflammatory markers: evidence for the vagal anti-inflammatory pathway. *Brain Behav Immun*. 2015 49:94–100
- 51- Hartmann C, Radermacher P, Wepler M, Nussbaum B. Non- hemodynamic effects of catecholamines. *Shock*. 2017. 48:390–400.
- 52- Marvar PJ, Harrison DG. Inflammation, immunity and the autonomic nervous system. *Primer Auton. Nerv. Syst*. 2012:325–9

- 53- Krieger, E. M. Neurogenic Hypertension in the Rat. *Circulation Research*. 1964. v.15(6), p.511-21
- 54- Krieger, E. M., R. F. Marseillan. Aortic Depressor Fibers in the Rat: Na Electrophysiological Study. *Am J Physiol*, 1963; v.205, p.771-4.
- 55- Ferreira, M. J., Sanches, I. C., Jorge, L., Llesuy, S. F., Irigoyen, M. C., De Angelis, K. Ovarian status modulates cardiovascular autonomic control and oxidative stress in target organs. *Biol Sex Differ*. 2020;11(1):1-10.
- 56- Hamzaoui O, Teboul JL. Importance of diastolic arterial pressure in septic shock. *J Crit Care*. 2019;51:238–40.
- 57- Shan ZZ, Dai SM, Su DF. Arterial baroreflex deficit induced organ damage in sinoaortic denervated rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2001;38(3):427–37.
- 58- Pumplra J, Howorka K, Groves D, Chester M, Nolan J. Functional assessment of heart rate variability: Physiological basis and practical applications. *Int J Cardiol*. 2002;84(1):1–14
- 59- Hadase M, Azuma A, Zen K, Asada S, Kawasaki T, Kamitani T, et al. Very Low Frequency Power of Heart Rate Variability is a Powerful Predictor of Clinical Prognosis in Patients with Congestive Heart Failure. *Circ J*. 2004;68(4):343–7.
- 60- Irigoyen MC, Fiorino P, Angelis K, Krieger EM. Sistema nervoso simpatico e hipertensao arterial: reflexos cardiocirculatorios. *Revista brasileira de hipertensão*. 2005; (4):229-233
- 61- Amorim MR, Souza GMPR, Machado BH. Possible Breathing Influences on the Control of Arterial Pressure After Sino-aortic Denervation in Rats. *Current Hypertension Reports* 2018;20(2)
- 62- Wenker IC, Abe C, Viar KE, Stornetta DS, Stornetta XRL, Guyenet XPG. Blood Pressure Regulation by the Rostral Ventrolateral Medulla in Conscious Rats: Effects of Hypoxia , Hypercapnia , Baroreceptor Denervation , and Anesthesia. 2017;37(17):4565–83

- 63- Osborn JW, England K. Normalization of arterial pressure after barodenervation: role of pressure natriuresis. *Am J Physiol.* 1990;(259):1172–80
- 64- Krieger EM. Effect of sinoaortic denervation on cardiac output. *Am J Physiol.* 1967;213:139–42
- 65- Sykora M, Diedler J, Poli S, Rizos T, Kellert L, Turcani P, et al. Association of non-diabetic hyperglycemia with autonomic shift in acute ischaemic stroke. *Eur J Neurol.* 2012; 19(1):84–90
- 66- Machado BH. Role of respiratory changes in the modulation of arterial pressure in rats submitted to sino-aortic denervation. 2016;11:1359–70.
- 67- Irigoyen MC, Consolim-colombo FM, Krieger EM. Controle cardiovascular_ regulação reflexa e papel do sistema nervoso simpático. *Revista brasileira de hipertensão.* 2001;8(1):55–62.
- 68- Stewart IB, McKenzie DC. The human spleen during physiological stress. *Sport Med.* 2002;32(6):361–9.
- 69- Bellinger DL, Lorton D. Sympathetic Nerve Hyperactivity in the Spleen: Causal for Nonpathogenic-Driven Chronic Immune-Mediated Inflammatory Diseases (IMIDs). *Int J Mol Sci.* 2018; 19(4):1188
- 70- Bonnin P, Levy BI. Effect of normovolemic hematocrit changes on blood pressure and flow. *Life Sci.* 2016
- 71- Wardi G, Brice J, Correia M, Liu D, Self M, Tainter C. Demystifying Lactate in the Emergency. *Ann Emerg Med.* 2019; 75(2):287-298
- 72- Lindmark S, Wiklund U, Bjerle P, Eriksson JW. Does the autonomic nervous system play a role in the development of insulin resistance? A study on heart rate variability in first-degree relatives of Type 2 diabetes patients and control subjects. *Diabet Med.* 2003;20(5):399–405.
- 73- Dell’Oro R, Trevano FQ, Gamba P, Ciuffarella C, Seravalle G, Mancina G, et al. Sympathetic and baroreflex abnormalities in the uncomplicated prediabetic state. *J Hypertens.* 2018;36(5):1195–200

- 74- Zawalich WS, Kelley GG. The pathogenesis of NIDDM: the role of the pancreatic beta cell. *Diabetologia*. 1995;986–91.
- 75- Sun Y, Fan J, Chai D, Zhang M. Oxidative Stress Is Involved in the Renal Dysfunction Induced by Sinoaortic Denervation in Rats. 2016;64(10):1458–65.
- 76- Vincent JL, Backer DD. Circulatory Shock. *N Eng J Med*. 2013;369(18):1726-34
- 77- Goldstein B, Fiser D, Kelly M, et al: Autonomic modulation of heart rate variability during endotoxin shock in rabbits. *Crit Care Med*. 1995 23:1694-1702
- 78- Pancoto JAT, Correa PBF, Oliveira-Pelegrin GR, Rocha MJA. Autonomic dysfunction in experimental sepsis induced by cecal ligation and puncture. *Auton Neurosci Basic Clin*. 2008;138(1–2):57–63.
- 79- Kiryachkov YY, Technologies R, Bosenko SA, Muslimov BG, Care I, Petrova M V, et al. Dysfunction of the Autonomic Nervous System and its Role in the Pathogenesis of Septic Critical Illness - Review. *Sovrem Tekhnologii Med*. 2020;12(4):106–16
- 80- Barnaby DP, Fernando SM, Ferrick KJ, Herry CL, Seely AJE, Bijur PE, et al. Use of the low-frequency / high-frequency ratio of heart rate variability to predict short-term deterioration in emergency department patients with sepsis. 2017;1–8.
- 81- Zhu Y, Li Y, Cai W, Zhang C. Predictive value of blood pressure variability for organ dysfunction in patients with sepsis. *Ann Palliat Med* 2021;10(9):9678–84.
- 82- Maciel AT, Noritomi DT, Park M. Metabolic Acidosis in Sepsis. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2010;10(3):252–7.
- 83- Kellum, J A., Bellomo, R., Kramer, D.J., Pinsky MR. Etiology of metabolic acidosis during saline resuscitation in endotoxemia. *Shock* 1998;9(5).364–8.
- 84- Lindner G, Burdmann EA, Clase CM, Hemmelgarn BR, Herzog CA, Małyszko J, et al. Acute hyperkalemia in the emergency department : a summary from a

Kidney Disease: Improving Global Outcomes conference. *Eur J Emerg Med.* 2020;27(5):329–37.

85- Peerapornratana S, Manrique-caballero CL, Gómez H. Acute kidney injury from sepsis: current concepts, epidemiology, pathophysiology, prevention and treatment. *Kidney Int.* 2019;96(5):1083–99.

86- Aleman, L, Guerrerro J. Hiperglicemia por sepsis: del mecanismo a la clínica. *Rev Med Chile.* 2018;146:502–10.

87- Rivas, M., Nugent, K. Hyperglycemia, insulin, and insulin resistance in sepsis. *Am J Med Sci.* 2021;361(3):297-302

88- Wardi G, Brice J, Correia M, Liu D, Self M, Tainter C. Demystifying Lactate in the Emergency. *Ann Emerg Med.* 2020;75(2):287-298

89- Suetrong B, Walley KR. Lactic acidosis in sepsis: It's Not All anaerobic: Implications for diagnosis and management. *Chest.* 2016;149(1):252–61

Apêndice

	Sham 2h	Sham Sepse 2h	DSA 2h	DSA Sepse 2h	Sham Final	Sham Sepse Final	DSA Final	DSA Sepse Final	Tempo	DSA	Sepse
PAD	90.10 ± 2.15	87.27±6.10	70.92±4.27	55.35±6.82	97.16 ± 3.76	67.36±9.35	82.14±6.60	46.15±3.23	0.4658	<0.0001*	<0.0001*
PAS	134.4±3.99	123.1±9.46	106.2±6.06	94.04±7.42	135.7±3.68	100.8±11.59	117.4±6.51	79.22±4.71	0.1881	<0.0001*	<0.0001*
PAM	109.4±2.70	99.85±6.77	85.42±4.91	68.45±6.89	114.2±3.26	77.79±9.82	96.91±7.00	58.70±3.78	0.3339	<0.0001*	<0.0001*
FC	355.1±9.62	460.6±23.58	506.3±3.682	423.3±11.93	381.7±19.05	506.3±3.68	439.5±16.00	448.9±20.32	0.0461*	0.9165	<0.0001*

Tabela 1: Parâmetros hemodinâmicos

	Sham 2h	Sham Sepse 2h	DSA 2h	DSA Sepse 2h	Sham Final	Sham Sepse Final	DSA Final	DSA Sepse Final	Tempo	DSA	Sepse
SD-IP	5,53±1.07	1,94±0,30	4,59±0,87	1,78±0,30	7.243±0,70	1,34±0,22	5,79±0,23	1,36±0,18	0.1815	0.1155	<0.0001*
RMSSD	4.19±0,56	1,84±0,24	2,92±0,42	1,21±0,02	5,04±0,60	1,42±0,20	3,18±0,40	1,53±0,20	0,2544	0,0409*	0,0136*

Tabela 2: Variabilidade da frequência cardíaca – domínio do tempo

	Sham 2h	Sham Sepse 2h	DSA 2h	DSA Sepse 2h	Sham Final	Sham Sepse Final	DSA Final	DSA Sepse Final	Tempo	DSA	Sepse
LF	20,59±3,83	16,4±5,48	21,94±3,50	10,57±2,23	23,99±1,76	9,28±2,47	27,57±4,71	7,55±1,14	0,9109	0,7914	<0,0001*
HF	79,41±3,83	83,60±5,48	78,06±3,50	89,43±2,23	76,01±1,76	90,72±2,47	72,43±4,71	92,44±1,14	0,9109	0,7914	<0,0001*
LF/HF	0,27±0,06	0,23±0,09	0,30±0,06	0,12±0,02	0,31±0,03	0,10±0,03	0,42±0,08	0,08±0,01	0,9555	0,9143	<0,0001*

Tabela 3: Variabilidade da frequência cardíaca – domínio da frequência (u.n)

	Sham 2h	Sham Sepse 2h	DSA 2h	DSA Sepse 2h	Sham Final	Sham Sepse Final	DSA Final	DSA Sepse Final	Tempo	DSA	Sepse
SD-PAS	4,89±0,47	7,12±0,81	8,92±1,11	6,99±1,27	4,87±0,57	5,89±0,71	9,84±0,67	8,06±1,25	0,9203	0,0013*	0,7349
LF-PAS	5,84±1,47	4,89±1,84	4,28±1,10	0,98±0,22	7,013±1,76	1,14±0,28	5,21±1,17	0,96±0,26	0,2106	0,0132*	0,0005*

Tabela 4: Variabilidade pressão arterial sistólica

	Sham 2h	Sham Sepse 2h	DSA 2h	DSA Sepse 2h	Sham Final	Sham Sepse Final	DSA Final	DSA Sepse Final	Tempo	DSA	Sepse
0V	30,76±3,29	32,34±4,59	39,47±5,17	32,40±5,20	30,40±4,37	42,66±10,65	45,64±6,50	33,07±7,77	0,3558	0,4276	0,7489
1V	40,80±2,86	37,99±1,72	36,91±3,00	38,27±1,68	42,64±2,56	32,03±5,60	36,31±4,82	37,47±3,34	0,5770	0,6510	0,2728
2V	28,44±2,78	29,68±3,86	26,63±3,55	29,37±4,39	26,94±2,53	25,30±5,26	18,01±2,01	29,47±4,96	0,5403	0,0159*	0,3870

Tabela 5: Análise simbólica

Tabela 5: Variabilidade pressão arterial sistólica

	Sham 2h	Sham Sepses 2h	DSA 2h	DSA Sepses 2h	Sham Final	Sham Sepses Final	DSA Final	DSA Sepses Final	Tempo	DSA	Sepses
UP BP RAMPS	305,1±32,79	429,1±37,47	341,3±30,72	453,4±20,95	302,0±27,75	463,6±36,15	323,0±24,56	442,4±28,11	0,9804	0,4875	<0,001*
DOWN BP RAMPS	278,0±38,28	432,8±26,81	343,9±26,51	395,5±17,08	271,7±23,87	469,9±50,95	328,6±28,93	411,0±37,32	0,7407	0,7766	<0,0001*
ALL BP RAMPS	583,1±69,38	861,9±55,23	685,1±47,48	848,9±30,29	573,7±48,85	933,5±76,09	651,6±52,72	853,4±60,49	0,8375	0,5923	<0,0001*
BRR UP RAMPS	74,13±11,60	35,00±8,53	35,57±9,16	30,88±4,44	86,25±14,54	37,43±6,02	28,00±6,49	29,50±4,35	0,8264	<0,0001*	0,0007*
BRR DOWN RAMPS	54,00±8,43	14,80±0,91	35,71±10,17	23,50±3,13	75,38±9,91	20,83±3,99	27,83±7,20	26,88±6,71	0,2934	0,0219*	<0,0001*
BRR ALL RAMPS	128,1±17,94	37,40±3,37	60,50±16,24	54,38±6,93	161,6±21,89	47,20±3,65	52,67±13,84	56,38±10,63	0,3849	0,0010*	<0,0001*
BRR UP BEI	0,255±0,04	0,05±0,00	0,10±0,02	0,06±0,00	0,28±0,04	0,06±0,01	0,09±0,02	0,06±0,00	0,6776	0,0002*	<0,0001*
BRR DOWN BEI	0,22±0,04	0,03±0,00	0,08±0,02	0,06±0,00	0,28±0,03	0,04±0,01	0,07±0,01	0,06±0,01	0,3373	0,0003*	<0,0001*
BRR ALL BEI	0,23±0,03	0,04±0,00	0,08±0,02	0,06±0,00	0,28±0,03	0,05±0,00	0,07±0,01	0,06±0,00	0,5499	<0,0001*	<0,0001*

Tabela 06: Sensibilidade barorreflexa espontânea

	Sham 2h	Sham Sepse 2h	DSA 2h	DSA Sepse 2h	Sham Final	Sham Sepse Final	DSA Final	DSA Sepse Final	Tempo	DSA	Sepse
pH	7,47±0,01	7,45±0,01	7,46±0,02	7,48±0,02	7,45±0,00	7,22±0,06	7,48±0,02	7,36±0,01	0,0180*	0,1680	<0,0001
pCO2	31,49±2,14	24,13±1,18	38,84±3,93	32,75±2,56	32,75±2,04	18,95±4,36	33,19±3,55	25,75±1,50	0,1458	0,0281*	0,0007*
pO2	79,3±2,63	76,68±4,34	72,84±5,09	69,78±8,09	77,41±1,26	79,24±9,74	69,70±3,82	80,87±4,67	0,5839	0,2196	0,6421
sO2	94,38±1,37	94,31±1,17	94,43±0,84	90,08±2,34	94,09±0,99	80,69±9,40	94,42±1,13	94,66±0,62	0,3465	0,3081	0,0799
Ht	42,69±2,07	41,10±2,32	46,60±3,70	41,29±2,13	42,03±1,62	42,85±1,59	40,76±4,29	39,01±1,78	0,3468	0,8930	0,2951
Hb	14,36±0,65	13,83±0,73	15,69±1,19	13,88±0,66	14,09±0,51	14,36±0,49	13,73±1,41	13,05±0,54	0,2934	0,9002	0,2529
HCO3	23,83±1,10	16,61±0,86	23,61±1,42	20,50±1,33	23,86±1,01	9,68±1,65	24,41±1,90	15,05±1,12	0,0036*	0,0145*	<0,0001*
BE	-0,07±1,32	-6,40±0,97	-4,71±1,52	-3,55±2,05	-0,56±1,30	-18,81±2,30	1,07±1,99	-11,78±1,66	0,0023*	0,1564	<0,0001*
K	3,66±0,18	3,57±0,09	3,47±0,24	3,57±0,26	3,71±0,08	7,63±0,95	3,35±0,20	4,85±0,53	<0,0001*	0,0068*	<0,0001*
Na	146,3±1,01	146,8±1,08	148,4±1,37	147,3±2,93	145,5±0,77	144,0±1,59	148,9±2,38	141,8±1,16	0,0812	0,4366	0,0583
Ca	1,05±0,08	0,85±0,09	1,07±0,05	0,74±0,13	1,08±0,08	0,90±0,05	0,91±0,08	0,89±0,10	0,7787	0,2975	0,0062*
Cl	112,0±1,74	114,5±0,84	105,3±2,11	113,7±1,28	110,4±1,04	118,1±1,17	108,3±2,43	113,4±1,77	0,3152	0,0034*	<0,0001*
Glu	130,6±4,15	201,1±28,54	196,3±16,29	213,1±24,26	128,4±3,69	72,61±21,59	163,2±18,9	205,0±39,48	0,0121*	0,0005*	0,2724
Lac	1,23±0,14	2,40±0,33	1,81±0,32	2,47±0,38	1,35±0,10	7,97±1,26	1,34±0,07	5,76±0,88	<0,0001*	0,3818	<0,0001*
Crea	0,36±0,01	0,62±0,00	0,54±0,05	0,60±0,02	0,45±0,03	1,12±0,10	0,71±0,08	0,91±0,05	<0,0001*	0,1714	<0,0001*

Tabela 07: Hemogasometrias