


Estudo da termorregulação como marcador de agravamento do quadro de sepse experimental em modelo animal*

André Luiz Thomaz de Souza^{1,2}

 <https://orcid.org/0000-0001-5158-9247>

Marcelo Eduardo Batalhão¹

 <https://orcid.org/0000-0003-3342-6625>

Evelin Capellari Cárnio¹

 <https://orcid.org/0000-0002-8735-4252>

Objetivo: analisar as variações na temperatura corporal e nas concentrações de nitrato e lactato plasmáticos em ratos submetidos ao modelo de sepse experimental. **Método:** foram utilizados 40 ratos divididos igualmente em cinco grupos. A indução da endotoxemia foi realizada com administração endovenosa de lipopolissacarídeo, respectivamente 0,5 mg/Kg, 1,5 mg/Kg, 3,0 mg/Kg e 10 mg/Kg. O grupo controle recebeu 0,5 mL de solução salina. O experimento teve duração de seis horas, com avaliações realizadas na 0 (dados basais), 2^a, 4^a e 6^a hora. **Resultados:** os animais que receberam doses de até 3,0 mg/Kg apresentaram aumento significativo na temperatura corporal em relação ao grupo com 10 mg/Kg, que apresentou diminuição nesses valores. O aumento nas concentrações de nitrato e lactato plasmáticos nos grupos com lipopolissacarídeo foi significativamente superior ao grupo que recebeu salina e esteve correlacionado com o aumento na temperatura corporal. **Conclusão:** as variações na temperatura corporal observadas neste estudo mostraram efeito dose dependentes de lipopolissacarídeo e estiveram correlacionadas com o aumento nas concentrações dos biomarcadores nitrato e lactato plasmáticos. O estudo traz como implicações, a importância no monitoramento da temperatura corporal, em conjunto com a avaliação destes marcadores fisiopatológicos, os quais sugerem agravamento no prognóstico da sepse.








* Artigo extraído da tese de doutorado "Influência do óxido nítrico sobre a temperatura corporal em ratos com sepse, sepse grave e choque séptico", apresentada à Universidade de São Paulo, Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Centro Colaborador da OPAS/OMS para o Desenvolvimento da Pesquisa em Enfermagem, Ribeirão Preto, SP, Brasil. Apoio Financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Processo 2016/176819, Brasil.

¹ Universidade de São Paulo, Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Centro Colaborador da OPAS/OMS para o Desenvolvimento da Pesquisa em Enfermagem, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

² Faculdades Integradas do Vale do Ribeira, Faculdade de Enfermagem, Registro, SP, Brasil.

Descritores: Endotoxemia; Sepse; Temperatura Corporal; Óxido Nítrico; Lactato Sérico; Biomarcadores.

Como citar este artigo

Souza ALT, Batalhão ME, Cárnio EC. Study of thermo-regulation as a worsening marker of experimental sepsis in an animal model. Rev. Latino-Am. Enfermagem. 2020;28:e3290. [Access   ]; Available in:  . DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1518-8345.3364.3290>.   

URL

Introdução

Apesar do amplo número de estudos disponíveis na literatura, ainda são encontradas limitações na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos, que resultam nas elevadas taxas de morbimortalidades relacionadas à sepse nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs)⁽¹⁾. O percurso clínico da doença pode levar à piora do prognóstico, quando ocorrem mudanças para os estágios de sepse grave e choque séptico⁽²⁾. Essa mudança representa um índice de mortalidade que varia de 10% a 40%⁽³⁻⁴⁾.

Dentre as manifestações clínicas apresentadas na doença, a temperatura corporal é um importante sinal cardinal sobre as condições de saúde, cujo controle rigoroso da termorregulação pode aumentar as chances de sobrevivência dos pacientes⁽⁵⁾. No entanto, os mecanismos que resultam na termorregulação ineficaz, durante os estágios mais graves da sepse, principalmente relacionados à hipotermia, permanecem incompreendidos^(1,5).

A resposta inflamatória exacerbada e a infecção são fatores determinantes na evolução clínica da sepse⁽⁶⁾, o que acompanha o aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias (interleucina – (IL-) 1 β , fator de necrose tumoral – (TNF-) α , e interferon – (IFN-) γ) ou citocinas anti-inflamatórias (interleucina – (IL-) 10, fator de transformação de crescimento – (TGF-) β)⁽⁷⁻⁸⁾. Durante a resposta imune, também é observado aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, como por exemplo, o Óxido Nítrico (NO)⁽⁹⁾.

A formação do NO ocorre endogenamente a partir do catabolismo da L-arginina, resultando na formação de L-citrulina e NO por meio de reação enzimática da enzima NO sintase (NOS)⁽¹⁰⁻¹¹⁾. Dentre as isoformas de NOS produzidas no organismo, o NO induzível (iNOS) é o que participa da resposta imune e pode ser produzido através de estímulos externos, como por exemplo, na presença de lipopolissacarídeo (LPS) e por citocinas pró-inflamatórias⁽¹⁰⁻¹¹⁾.

Além do aumento do NO durante os estágios da sepse, o lactato plasmático também pode ser encontrado em concentrações elevadas. Esse aumento pode ser considerado um marcador de hipoperfusão tecidual quando em concentrações $>1,0$ mmol/L⁽²⁾. A elevação do lactato plasmático resulta da produção de energia por via glicolítica anaeróbia⁽¹²⁾, observada principalmente no choque séptico. Embora estes dois biomarcadores apresentem aumento significativo no percurso da doença, somente o lactato é usado como variável preditora de gravidade na prática clínica.

A termorregulação tem sido amplamente investigada em modelos experimentais de sepse e choque séptico⁽¹³⁻¹⁴⁾, sendo evidenciado que o mesmo agente inflamatório pode induzir tanto a febre quanto a hipotermia⁽¹⁴⁾. Contudo,

os mediadores que participam da hipotermia ainda são incompreendidos⁽¹⁵⁾. Acredita-se que o NO possa influenciar no controle da temperatura corporal.

Estudos com animais mostraram efeitos distintos do NO na temperatura, quer seja em situações nas quais são administrados doadores ou inibidores da sua síntese⁽¹⁶⁻¹⁷⁾. Em um estudo com modelo animal submetido à endotoxemia (quadro análogo à sepse), foi identificado que o NO atua como mediador pirético da febre. O estudo mostrou que a administração farmacológica de inibidores da síntese de NO resultou na diminuição da temperatura corporal durante a resposta febril⁽¹⁶⁾. Em contrapartida, a redução de estados febris também foi observada quando administrado doadores de NO no ventrículo cerebral lateral de coelhos, revelando estímulo na atividade antipirética no sistema nervoso central⁽¹⁷⁾.

Estudos envolvendo a mensuração da produção de NO durante a sepse em humanos são raros, porém, em geral evidenciam um pequeno aumento nessa produção⁽¹⁸⁾. Sugere-se que esse aumento possa estar correlacionado com a diminuição da temperatura corporal em pacientes com choque séptico⁽¹⁹⁾.

No que se refere ao lactato, assim como o NO, a relação entre as concentrações deste marcador fisiopatológico e a temperatura corporal na sepse é pouco discutida na literatura. No contexto clínico, altas concentrações de lactato servem como parâmetro global para identificar comprometimento metabólico em pacientes críticos^(12,20).

Durante a atuação da enfermagem, o controle da temperatura corporal é utilizado como referência sobre as condições fisiopatológicas do paciente. O aumento ou a diminuição da temperatura sinalizam situações que requerem intervenções imediatas, com foco em preservar a homeostasia. Logo, o monitoramento dos sinais vitais permite à equipe de enfermagem a identificação precoce de alterações orgânicas sugestivas de sepse e/ou outras complicações⁽²¹⁾. Neste cenário, o gerenciamento na assistência em saúde, realizado pelo enfermeiro, exige conhecimento sobre as modificações morfofuncionais evidenciadas pelo organismo.

Frente à problemática que envolve os estágios da sepse e suas manifestações clínicas, este estudo teve como objetivo analisar as variações na temperatura corporal e nas concentrações de nitrato e lactato plasmáticos em ratos submetidos ao modelo de sepse experimental. Essa investigação é importante para ampliar a compreensão sobre a participação de biomarcadores na termorregulação.

Método

Estudo experimental realizado com 40 ratos *Wistar*, com idade de 8 a 12 semanas e massa corporal entre

200 - 300 gramas. Os animais foram mantidos em estantes ventiladas com temperatura ambiente controlada ($25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$). Além disso, foram expostos a regime de luz com ciclo claro-escuro de 12/12 horas e tiveram acesso livre à água e dieta comercial balanceada. Para evitar variações circadianas, todos os experimentos foram iniciados sempre entre 8:00 e 10:00 horas. As etapas experimentais foram conduzidas em conformidade com a Comissão de Ética no Uso Animal da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil (protocolo no. 15.737.22.0).

O protocolo experimental adotado neste estudo envolveu a administração endovenosa de solução fisiológica 0,9% (salina) ou diferentes concentrações de LPS de *Escherichia coli* Sorotipo 0111:B4 (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA), os registros da temperatura corporal ($^{\circ}\text{C}$), e a coleta de sangue para análise do nitrato (μM) e lactato (mmol/L) plasmáticos. Os 40 animais foram distribuídos igualmente em cinco grupos com oito animais cada. Um grupo (controle) recebeu 0,5 mL de solução salina e os demais receberam doses de LPS iguais a 0,5 mg/Kg, 1,5 mg/Kg, 3,0 mg/Kg e 10 mg/Kg, respectivamente.

Para o controle da temperatura corporal, seis dias antes da indução dos modelos experimentais, uma cápsula de *data logger* foi inserida dentro da cavidade peritoneal, através de incisão cirúrgica na parede abdominal, sob anestesia geral com cloridrato de xilazina 2% (2 mg/mL) e cloridrato de ketamina 10% (10 mg/mL), administrada em dose única de 0,10 mL para cada 100g de peso animal, por via intraperitoneal (IP).

As cápsulas de *data loggers* foram previamente programadas para efetuar os registros da temperatura corporal ($^{\circ}\text{C}$) em intervalos de 15 minutos por períodos de 24 horas. Após a inserção, o local da incisão foi suturado com fios reabsorvíveis. Ao término da cirurgia, os animais receberam profilaxia com benzilpenicilina (120,000 UI) e estreptomicina (50 mg) e analgesia com flunixinameglumina (2,5 mg/Kg) por via intramuscular (IM) em dose única. O tempo de recuperação pós-cirúrgica correspondeu a cinco dias.

Para administração do LPS ou solução salina por via endovenosa, os ratos foram novamente anestesiados e tiveram a veia jugular canulada conforme técnica descrita na literatura⁽²²⁾. Foram utilizadas cânulas de silástico (Sigma-Aldrich®) heparinizadas, com comprimento total de 10 cm. Aproximadamente 1,7 cm foram inseridos dentro da veia jugular em direção ao átrio direito. As demais partes da cânula foram posicionadas no dorso do animal com o auxílio de um trocater e fixadas com fios de algodão em blocos com pontos simples.

Imediatamente após a canulação da veia jugular, os animais tiveram a artéria femoral canulada. Uma

cânula de polietileno (PE), constituída por um segmento de PE-10 de 4,5 cm de comprimento, conectado a um cateter de PE-50 de 15 cm foi inserida na artéria femoral em direção à aorta abdominal. Ao término, a cânula foi fixada no local e sua extremidade livre exteriorizada, e também fixada no dorso do animal. Esta cânula foi utilizada para coleta das amostras de sangue.

Terminados os procedimentos de canulação de vasos, os animais receberam novamente a mesma profilaxia realizada após a inserção do *data logger* e foram alojados na estante ventilada, permanecendo com acesso livre à água e à ração, até o início da indução dos modelos experimentais que ocorreram após 24 horas.

Na sala de experimento, a temperatura ambiente foi mantida em $25\pm 2^{\circ}\text{C}$. Inicialmente, os animais foram submetidos à adaptação neste local para que ocorresse o equilíbrio térmico do corpo com a temperatura ambiente. Após as seis horas de experimento, os animais foram sacrificados e a cápsula de *data logger* retirada da cavidade peritoneal. Tanto a programação quanto a obtenção dos registros da temperatura foram realizadas por meio do *software SubCue Analyzer*.

Para avaliar as concentrações do nitrato e lactato plasmáticos, foram realizadas coletas de sangue por meio da cânula femoral (0,4 mL) na 0 h (dados basais), na 2ª h, na 4ª h e na 6ª h após a indução dos modelos experimentais. Após a dosagem do lactato, as amostras de sangue foram armazenadas em tubos de polipropileno contendo heparina sódica (1500 UI/tubo), sendo imediatamente colocadas no gelo. A reposição volêmica, referente às alíquotas de sangue retiradas dos animais nos horários descritos, foi realizada na mesma proporção (0,4 mL) com solução fisiológica 0,9%.

A determinação do lactato plasmático foi realizada pelo aparelho portátil ACCUTREND PLUS (Roche®), com o uso de fitas reagentes específicas (Accusport BM - Lactate). Imediatamente após a coleta do sangue, uma pequena alíquota era colocada sobre a fita reagente e as demais partes armazenadas a -20°C , para posterior dosagem do nitrato plasmático. Com a fita preenchida por sangue, o aparelho permitia identificar uma faixa de valores de 0,8 a 22 mmol/L, com um tempo de medição de 60 segundos.

O nitrato plasmático foi determinado por meio do sistema de Sievers (*Instruments Nitric Oxide Analyzer*). Após centrifugação do sangue a 5000 rpm por 10 minutos, as amostras de plasma obtidas foram desproteïnadas usando-se etanol absoluto frio. Na sequência, essas amostras foram injetadas em um recipiente contendo tricloreto de vanádio (VCl_3), que converte o nitrato em NO. O NO produzido foi detectado

por ozônio induzido por quimioluminescência. As concentrações de pico do NO dessas amostras, foram determinadas usando a curva-padrão, estabelecida com soluções de nitrato de sódio de várias concentrações (0; 7,5; 15; 30; 60; 120; 240 μM).

Os dados foram analisados empregando a Análise de Variância Unidirecional (One-Way ANOVA) seguida do pós-teste de Tukey para testar as diferenças entre as médias dos grupos experimentais com 0, 2, 4, e 6 horas após a administração do LPS ou salina. Os valores médios obtidos na 0 hora foram considerados como valores basais. Ainda, o Teste de Correlação de Pearson e/ou o Teste de Correlação de Spearman foi usado para identificar possíveis associações entre as variáveis investigadas e conforme a dose de LPS administrada. Os resultados foram apresentados em gráficos de média e erro padrão da média (EPM). O nível de significância adotado para todos os teste foi de 0,05 (5%).

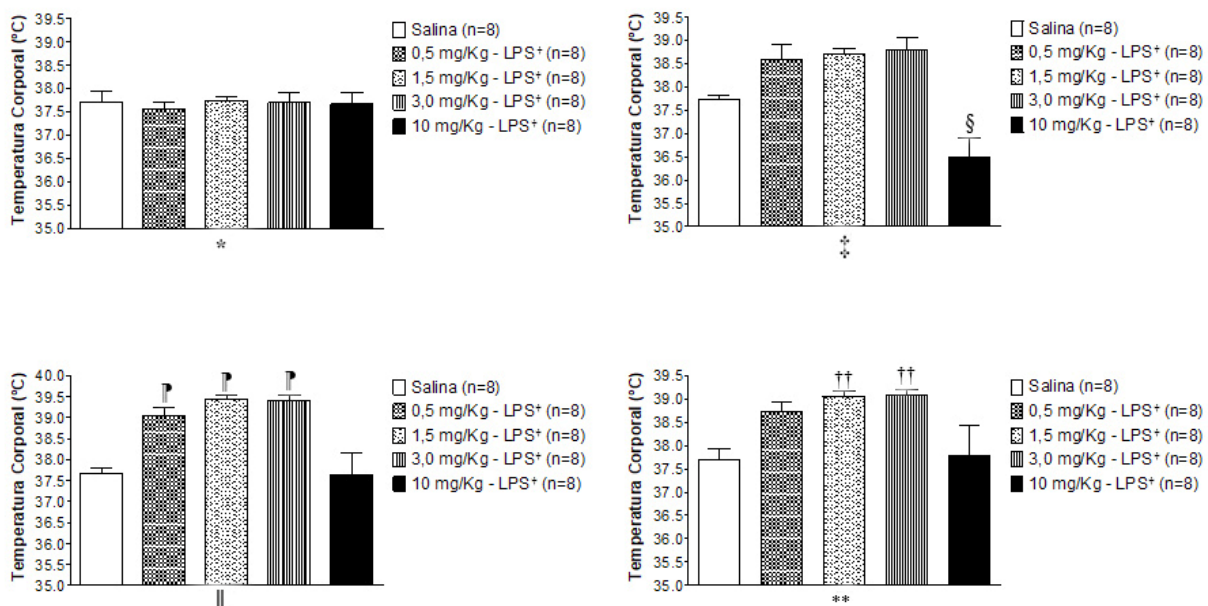
Resultados

A administração de LPS na concentração de 10 mg/Kg diminuiu significativamente a temperatura corporal dos animais quando comparada aos demais grupos após duas horas de experimento (Figura 1[†]). Na quarta hora, a temperatura dos animais com 0,5, 1,5 e 3,0 mg/Kg de LPS foi maior quando comparada ao grupo salina e 10 mg/Kg, sendo os valores estatisticamente significativos (Figura 1[‡]). Na sexta hora, nos grupos com LPS não houve diferenças estatísticas. Contudo, a temperatura

corporal dos grupos 1,5 e 3,0 mg/Kg de LPS permaneceu estatisticamente superior ao grupo salina (Figura 1^{**}).

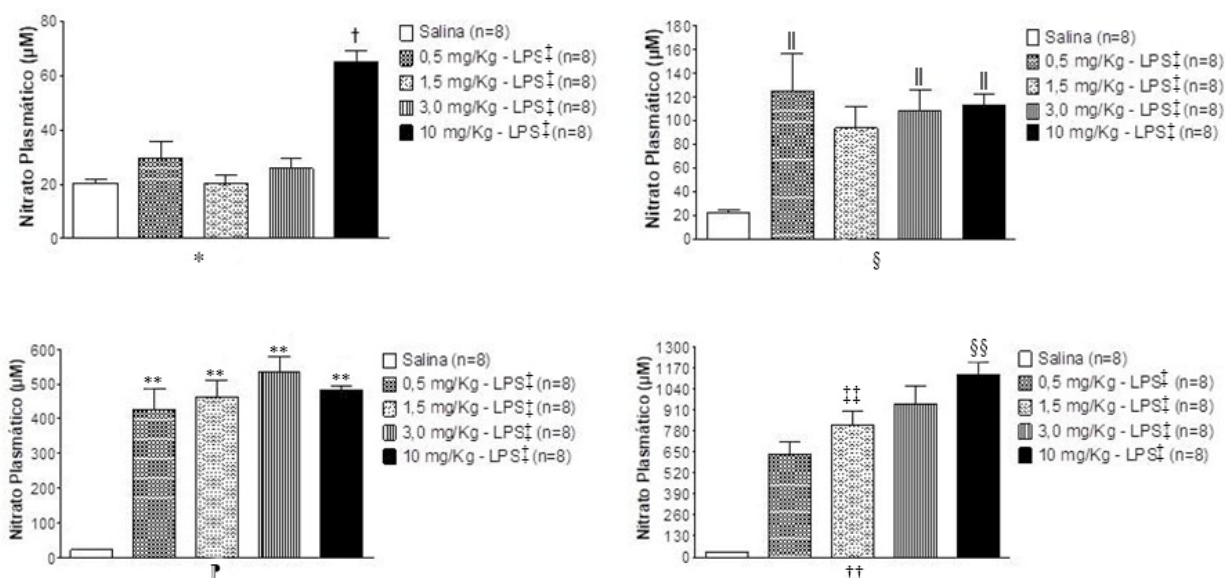
As concentrações de nitrato plasmático foram estatisticamente diferentes nos animais com LPS quando comparados ao grupo salina (Figura 2). Na zero hora (Figura 2*) os animais com 10 mg/Kg de LPS apresentaram médias superiores aos demais grupos, contudo, as concentrações de nitrato plasmático não ultrapassam 100 μM , diferente dos níveis observados nas demais horas. Após duas horas da administração do LPS, observaram-se diferenças significativas entre os grupos 0,5, 3,0 e 10 mg/Kg - LPS quando comparados ao grupo salina (Figura 2[§]). Na quarta hora os grupos com LPS diferiram-se estatisticamente do grupo salina apresentando um aumento expressivo nas concentrações de nitrato chegando a ultrapassar 500 μM (Figura 2[¶]). Passadas seis horas após a administração do LPS a diferença significativa com o grupo salina permaneceu, além disso, os grupos com maiores doses de LPS apresentaram concentrações estatisticamente superiores de nitrato plasmático chegando a ultrapassar 900 μM (Figura 2^{**}).

As concentrações de lactato plasmático na zero hora não diferiram entre os grupos experimentais, no entanto, na segunda e na quarta hora ocorreram aumentos expressivos nessas concentrações levando a uma elevação estatisticamente significativa quando comparado LPS *versus* salina (Figura 3[†] e 3[‡]). Após seis horas, diferenças significativas foram observadas somente na comparação dos grupos com maiores doses



*0 hora - mensurada antes da administração do LPS ou salina; †LPS = Lipopolissacarídeo; ‡2 horas após; §Indica diferença estatística entre os grupos 10 mg/Kg - LPS *versus* os grupos 0,5, 1,5 e 3,0 mg/Kg - LPS; ¶4 horas após; ††Indica diferença estatística entre os grupos 0,5, 1,5 e 3,0 mg/Kg - LPS *versus* os grupos salina e 10 mg/Kg - LPS; **6 horas após; †††Indica diferença estatística entre os grupos 1,5 e 3,0 mg/Kg - LPS *versus* o grupo salina. Diferença estatística identificada pela ANOVA One-Way seguida do pós-teste de comparação múltipla de Tukey ($p < 0,05$)

Figura 1 - Efeito da administração de diferentes doses de LPS sobre a temperatura corporal



*0 hora – mensurada antes da administração do LPS ou salina; †Indica diferença estatística entre o grupo 10 mg/Kg – LPS versus os grupos salina, 0,5, 1,5 e 3,0 mg/Kg – LPS; ‡LPS = Lipopolissacarídeo; §2 horas após; ¶Indica diferença estatística entre os grupos 0,5, 3,0 e 10 mg/Kg – LPS versus os grupos salina e 1,5 mg/Kg – LPS; ††4 horas após; †††Indica diferença estatística entre os grupos 0,5, 1,5, 3,0 e 10 mg/Kg – LPS versus o grupo salina; ††††6 horas após; †††††Indica diferença estatística entre o grupo 1,5 mg/Kg – LPS versus o grupo 3,0 mg/Kg – LPS; ††††††Indica diferença estatística entre o grupo 10 mg/Kg – LPS versus os grupos 0,5 e 1,5 mg/Kg – LPS. Diferença estatística identificada pela ANOVA One-Way seguida do pós-teste de comparação múltipla de Tukey (p < 0,05)

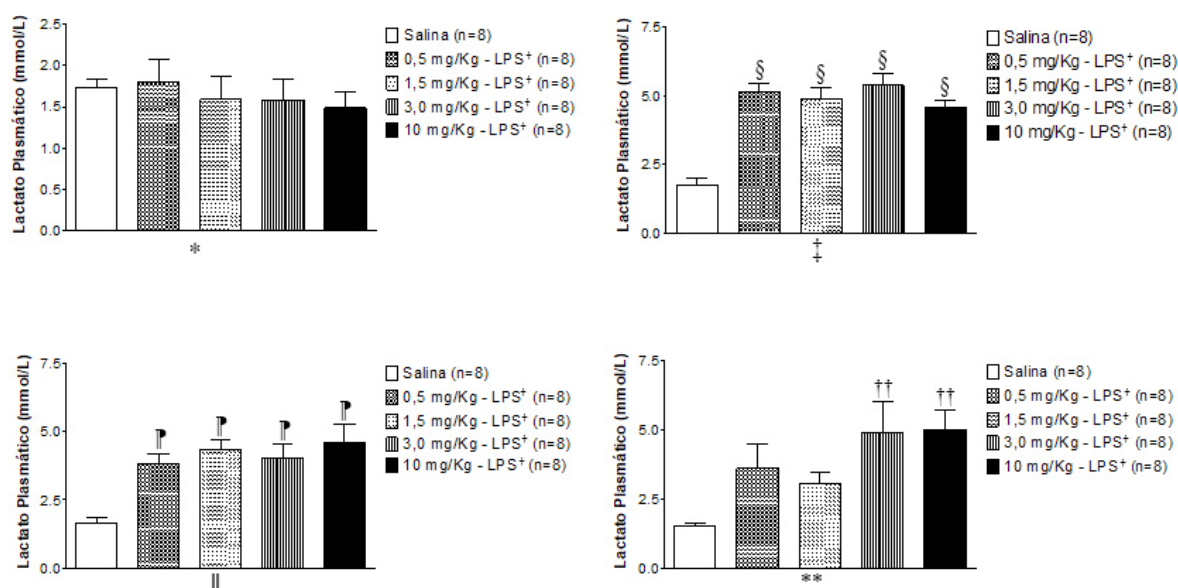
Figura 2 – Efeito da administração de diferentes doses de LPS na concentração de nitrato plasmático

de LPS, respectivamente 3,0 e 10 mg/Kg, quando comparado ao grupo salina (Figura 3**).

Na análise de correlação entre as concentrações de nitrato plasmático e a temperatura corporal dos modelos experimentais (Figura 4), não foram encontradas diferenças significativas nos grupos salina e 10 mg/Kg – LPS. Entretanto, houve correlação significativa no grupo 0,5 mg/Kg – LPS; 1,5 mg/Kg – LPS; e 3,0 mg/Kg – LPS. A correlação significativa apresentada na Figura 4 sugere que quanto maior

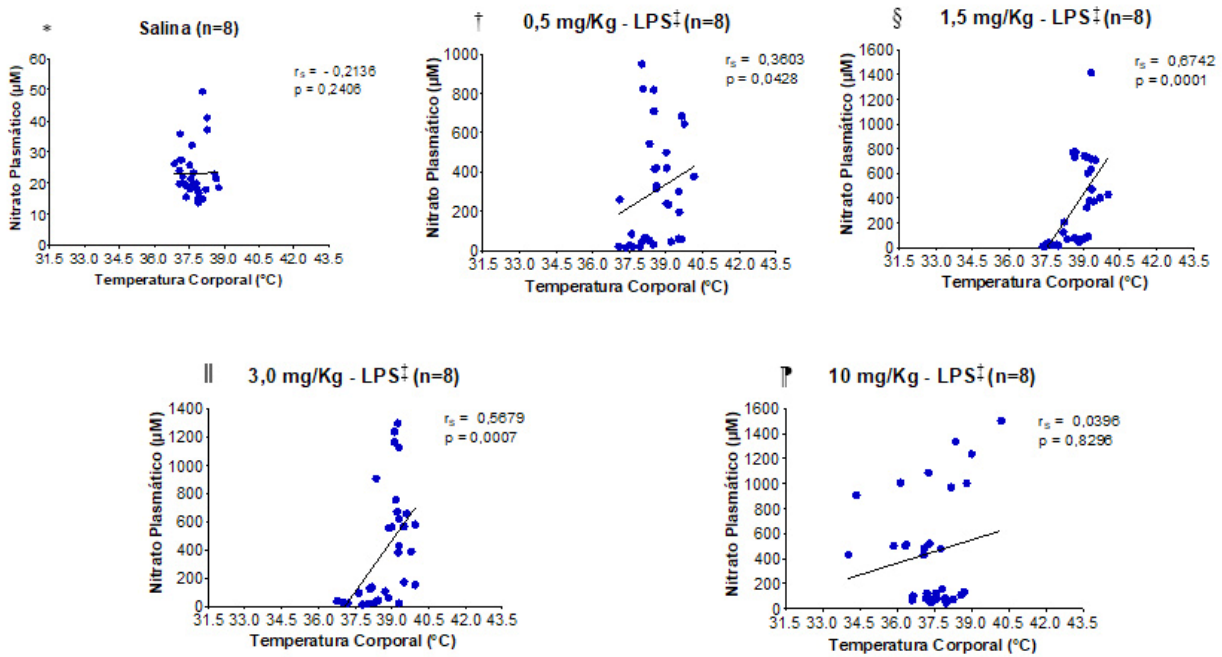
a concentração de nitrato plasmático, maior a temperatura corporal.

A correlação entre as concentrações de lactato plasmático e a temperatura corporal dos modelos experimentais (Figura 5) não apresentou diferenças estatísticas nos grupos salina; 0,5 mg/Kg – LPS; 10 mg/Kg – LPS. Porém, os animais que receberam 1,5 mg/Kg - LPS e 3,0 mg/Kg - LPS apresentaram correlação significativa, sendo que, quanto maior a concentração de lactato plasmático, maior o valor da temperatura corporal.



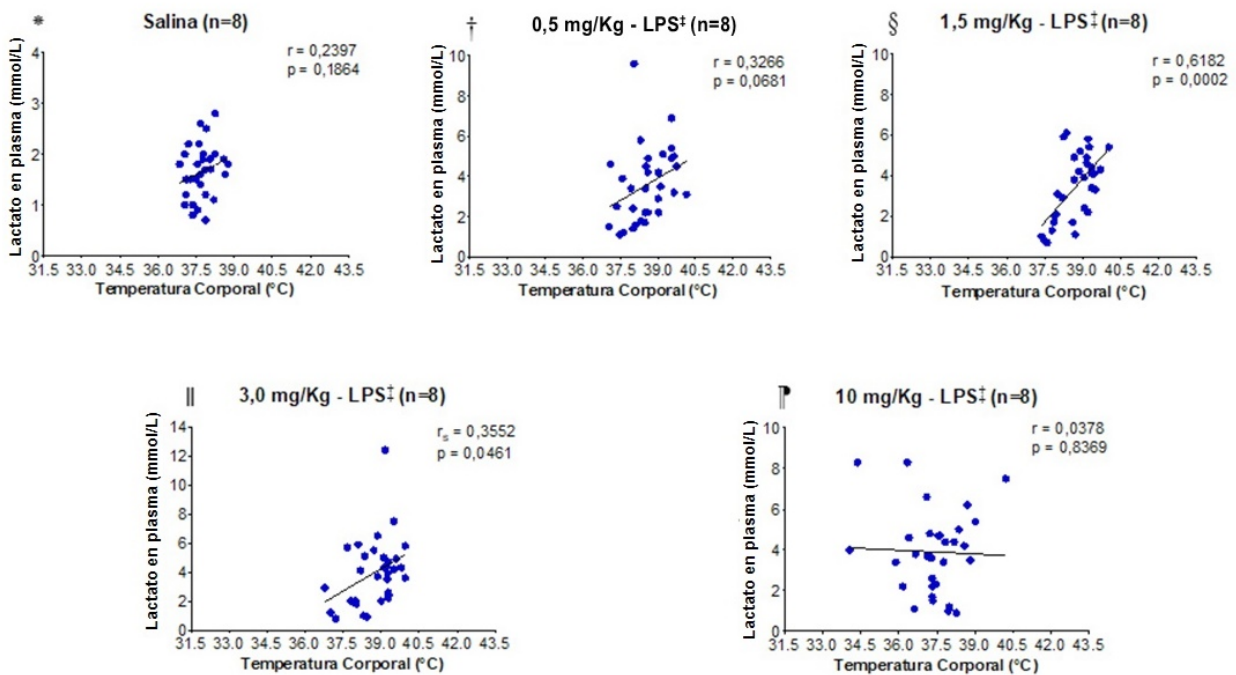
*0 hora – mensurada antes da administração do LPS ou salina; †LPS = Lipopolissacarídeo; ‡2 horas após; §Indica diferença estatística entre os grupos 0,5, 1,5 e 3,0 e 10 mg/Kg – LPS versus o grupo salina; ¶4 horas após; †Indica diferença estatística entre os grupos 0,5, 1,5 e 3,0 e 10 mg/Kg – LPS versus o grupo salina; ††6 horas após; †††Indica diferença estatística entre os grupos 3,0 e 10 mg/Kg – LPS versus o grupo salina. Diferença estatística identificada pela ANOVA One-Way seguida do pós-teste de comparação múltipla de Tukey (p < 0,05)

Figura 3 – Efeito da administração de diferentes doses de LPS nas concentrações de lactato plasmático



*Solución salina; †0,5 mg/Kg - LPS; ‡LPS = Lipopolisacárido; §1,5 mg/Kg - LPS; ¶3,0 mg/Kg - LPS; ¶10 mg/Kg - LPS

Figura 4 – Diagrama de dispersión para el análisis de la correlación entre las concentraciones de nitrato en plasma y la temperatura corporal



*Salina; †0,5 mg/Kg - LPS; ‡LPS = Lipopolissacarídeo; §1,5 mg/Kg - LPS; ¶3,0 mg/Kg - LPS; ¶10 mg/Kg - LPS.

Figura 5 – Diagrama de dispersão para análise de correlação entre as concentrações de lactato plasmático e a temperatura corporal

Discussão

Este estudo, mostra pela primeira vez a correlação entre a temperatura corporal e mediadores que participam da fisiopatologia da sepse e do choque

séptico (NO e lactato plasmáticos) em animais submetidos à sepse experimental com diferentes doses de LPS. Os animais apresentaram termorregulação ineficaz, acompanhada pelo aumento nas concentrações plasmáticas dos marcadores fisiológicos analisados.

Em humanos, as mudanças na temperatura corporal identificadas na sepse, também estão relacionadas à febre e/ou hipotermia, sendo estes sinais característicos para o rastreamento e diagnóstico da doença⁽²⁾. Sugere-se que a febre seja uma manifestação frequente na sepse. Em contrapartida, a hipotermia é comum no choque séptico, sendo interpretada como uma piora clínica no prognóstico do paciente, aumentando as chances de óbito^(5,23-24).

Embora existam diferentes tentativas de reproduzir a sepse e o choque séptico em modelos animais, é importante interpretar os resultados com cautela, visto que os ratos apresentam respostas distintas das respostas dos humanos⁽²⁴⁾. Nos quadros de infecção, normalmente o homem apresenta febre e em alguns casos pode haver diminuição na temperatura, ao passo que os roedores normalmente apresentam diminuição da temperatura corporal frente a uma infecção significativa⁽²⁴⁻²⁵⁾.

Até o momento, a compreensão sobre a participação do NO na regulação da temperatura corporal leva a interpretações distintas – alguns estudos apontam que a inibição da síntese do NO com o uso de L-NAME (inibidor da síntese de NO) injetado no peritônio preveniu a febre em animais submetidos à administração de LPS⁽²⁶⁾, sugerindo que o NO possa atuar como mediador pirético da febre. Por outro lado, também é demonstrado que o aumento nas concentrações de NO em animais submetidos à endotoxemia resultou em hipotermia⁽²⁷⁾. Além disso, a administração de doadores de NO na região intracerebroventricular reduziu a febre em coelhos⁽¹⁷⁾, sugerindo um efeito antipirético central.

Em estudo com humanos, realizado por pesquisadores do nosso laboratório, observou-se uma correlação entre a queda da temperatura corporal e a elevação das concentrações plasmáticas de NO em situações de choque séptico, que não foi observada durante a sepse⁽¹⁹⁾. No entanto, observamos correlação positiva nos grupos de animais que receberam doses menores de LPS, sendo os valores de temperatura corporal diretamente relacionados às concentrações de NO. Essa diferença entre os grupos de animais que receberam doses distintas pode ser atribuída a uma maior resistência dos animais experimentais ao LPS.

A correlação observada entre as doses de NO e a temperatura corporal na endotoxemia, com doses menores de LPS, pode sugerir a ação do NO, com sua propriedade bactericida⁽²⁸⁾, associado ao aumento da temperatura corporal, como forma de defesa do organismo. Assim, o aumento na temperatura pode estar vinculado à maior atividade do sistema imunológico, com a produção de prostaglandina E2 (PGE2) e consequentemente elevação da temperatura corporal.

Por outro lado, sabendo-se do efeito deletério do NO em altas concentrações, a correlação inversa

observada em estudo com humanos⁽¹⁹⁾ durante o choque séptico pode ser um indicativo de falência na capacidade de resposta do organismo, associada ao aumento do estresse oxidativo e consequentemente a hipotermia.

Considerando as respostas distintas entre humanos e animais, os resultados do nosso estudo sugerem que provavelmente a maior concentração de NO em humanos resultaria na diminuição da temperatura corporal, visto que nos animais ocorre efeito oposto. Essa hipótese tem sido investigada em estudos com humanos, sendo confirmada a correlação entre o aumento nas concentrações de nitrato com a diminuição da temperatura corporal no choque séptico⁽¹⁹⁾.

Ressalta-se que a diminuição intensa da temperatura corporal observada no grupo que recebeu maior dose de LPS (10 mg/Kg), acompanhada pelo aumento expressivo nas concentrações de nitrato, mostra que quanto maior a dose administrada menor será a temperatura corporal, confirmando os apontamentos encontrados na literatura⁽²⁹⁾.

O aumento significativo nas concentrações plasmáticas de lactato nos grupos com LPS também foi observado em nosso estudo. Ambos os marcadores da sepse (nitrato e lactato), em conjunto com a avaliação dos sinais vitais, são importantes indicadores sobre a gravidade clínica da sepse em humanos. Ressalta-se que o lactato é utilizado como parâmetro para o diagnóstico do choque séptico⁽³⁰⁾. Por se tratar de um mediador de difícil dosagem no ambiente clínico, frequentemente a avaliação do NO se restringe à pesquisa científica.

Nos estágios da sepse e em situações de endotoxemia, ocorre aumento no metabolismo anaeróbio e na produção de lactato, que por sua vez alteram o funcionamento das células imunes⁽³¹⁾. A elevação nessa produção pode resultar na regulação negativa de enzimas glicolíticas, especificamente a hexoquinase e a fosfofrutoquinase, nas células imunes⁽³²⁾ e em uma variedade de tecidos⁽³³⁾. Assim, considerando a importância da glicólise aeróbia para o funcionamento das células do sistema imunológico em atividade, a regulação negativa dessas enzimas sob influência do lactato implica no comprometimento funcional dessas células⁽⁶⁾.

Estudos recentes mostraram que a diminuição na produção de lactato resultou na melhora da sobrevivência de animais⁽³⁴⁻³⁶⁾, ao passo que altas concentrações de lactato em soluções de diálise peritoneal inibiu a maturação de células dendríticas induzida por LPS (10 ng/mL)⁽³⁷⁾. O tratamento com lactato também aumentou a produção de genes associados ao M2 (VEGF e Arg1) e marcadores (Fizz1, Mgl1 e Mgl2)⁽³⁸⁾. O M2 é um fenótipo imunossupressor derivado dos macrófagos encontrado nos estágios tardios da sepse, seu aumento pode resultar em disfunção crítica no sistema imunológico⁽³⁸⁾.

No sistema imune adaptativo, a presença de altas concentrações de lactato no líquido sinovial e nas articulações de pacientes com artrite reumatoide desempenhou um papel de sinalizador para localização de células T no local da inflamação⁽³²⁾. Ao realizar experimentos *in vitro*, os autores do estudo apontam que o lactato de sódio extracelular e o ácido láctico bloqueiam respectivamente a motilidade das células T CD4+ e CD8+⁽³²⁾.

Assim como nos modelos animais, o aumento nas concentrações de lactato na sepse e no choque séptico em humanos é interpretado como um prognóstico ruim. Esse aumento repercute na redução das chances de sobrevivência⁽²⁰⁾ e sinaliza disfunções no sistema imunológico⁽³¹⁻³²⁾. Neste contexto, nossos resultados reforçam a importância no monitoramento do lactato em pesquisas experimentais e clínicas, visto que é uma variável fácil de ser mensurada e possibilita compreender seu comportamento na endotoxemia e/ou sepse.

Os dados obtidos em nosso estudo, mostrando a elevação das concentrações de lactato após a administração de LPS, estão de acordo com as evidências da literatura^(13,39). Esse aumento parece ter um efeito imunomodulador levando às alterações na termorregulação. No entanto, é necessária a ampliação de estudos que possam explicar o efeito do lactato na temperatura corporal. Acreditamos que existe potencial para se considerar as avaliações da temperatura corporal, associadas às concentrações de NO e lactato plasmáticos, como forma de se avaliar uma mudança no prognóstico do paciente séptico.

As limitações do presente estudo estão relacionadas à ausência de caracterização no modelo experimental de choque séptico, como forma para analisar os efeitos da endotoxemia sobre a temperatura corporal. A análise da termorregulação em modelo choque séptico experimental poderá refletir de forma mais clara os efeitos do LPS na hipotermia e nas concentrações de nitrato e lactato plasmáticos. Portanto, também sugerimos a avaliação desses biomarcadores em modelos experimentais de choque séptico.

Conclusão

Este estudo mostrou que os animais submetidos à sepse experimental apresentaram termorregulação ineficaz, conforme a dose de LPS administrada. Os animais que receberam doses maiores de LPS apresentaram temperatura significativa menor em relação aos demais grupos endotóxicos, que apresentaram aumento na temperatura. Esse comportamento foi acompanhado pelo aumento nas concentrações de NO e lactato plasmáticos. Também foi identificado que a febre esteve correlacionada

com altas concentrações de NO e lactato plasmáticos, importantes mediadores fisiopatológicos observados durante a endotoxemia. O estudo traz como implicações para enfermagem a importância no monitoramento da temperatura corporal, em conjunto com a avaliação destes marcadores fisiopatológicos, os quais sugerem um agravamento no prognóstico da sepse.

Referências

1. Zhang Z, Chen L, NI H. Antipyretic therapy in critically ill patients with sepsis: an interaction with body temperature. *PLoS One*. [Internet]. 2015 [cited Jan 24, 2019];10(3):e0121919. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0121919>
2. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012. *Crit Care Med*. [Internet]. 2013 [cited Jan 20, 2019];41(2):590-637. Available from: <https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=23353941>
3. Vincent JL, Jones G, Olariu E, Cadwell KK. Frequency and mortality of septic shock in Europe and North America: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. [Internet]. 2019 [cited Jan 05, 2020];23(1):196. Available: <https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13054-019-2478-6>
4. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations. *Am J Respir Crit Care Med*. [Internet]. 2016 [cited Jan 05, 2020];193(3):259-72. Available from: https://www.atsjournals.org/doi/full/10.1164/rccm.201504-0781OC?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed
5. Léon K, Pichavant-Rafini K, Ollivier H, Monbet V, L'Her E. Does induction time of mild hypothermia influence survival duration of septic rats? *Ther Hypothermia Temp Manag*. [Internet]. 2015 [cited Jan 15, 2019];5(2):85-8. Available from: https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ther.2014.0024?rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&journalCode=ther
6. Fan X, Liu Z, Jin H, Yan J, Liang HP. Alterations of dendritic cells in sepsis: featured role in immune paralysis. *Biomed Res Int*. [Internet]. 2015 [cited Jan 15, 2019];903720. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/903720/>
7. Novotny AR, Reim D, Assfalg V, Altmayr F, Friess HM, Emmanuel K, et al. Mixed antagonist response and sepsis severity-dependent dysbalance of pro-

- and anti-inflammatory responses at the onset of postoperative sepsis. *Immunobiology*. [Internet]. 2012 [cited Jan 16, 2019];217(6):616-21. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0171298511002294?via%3Dihub>
8. Gautam A, Dixit S, Embers M, Gautam R, Philipp MT, Singh SR, et al. Different patterns of expression. And of IL-10 modulation of inflammatory mediators from macrophages of Lyme disease-resistant and -susceptible mice. *PLoS One*. [Internet]. 2012 [cited Jan 16, 2019];7(9):e43860. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0043860>
 9. Yarosz EL, Chang CH. The role of reactive oxygen species in regulating T cell-mediated immunity and disease. *Immune Netw*. [Internet]. 2018 [cited Jan 05, 2020];18(1):e14. Available from: <https://immunenetwork.org/DOIx.php?id=10.4110/in.2018.18.e14>
 10. Cinelli MA, Do HT, Miley GP, Silverman RB. Inducible nitric oxide synthase: regulation, structure and inhibition. *Med Res Rev*. [Internet]. [cited Jan 05, 2020];40(1):158-89. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/med.21599>
 11. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*. [Internet]. 1991 [cited Jan 15, 2019];43(2):109-42. Available from: <http://pharmrev.aspetjournals.org/content/43/2/109.long>
 12. Ryoo SM, Kim WY. Clinical applications of lactate testing in patients with sepsis and septic shock. *J Emerg Crit Care Med*. [Internet]. 2018 [cited Jan 15, 2019];2(14):1-10. Available from: <http://jcccm.amegroups.com/article/view/4083/4694>
 13. Saia RS, Bertozzi G, Mestriner FL, Antunes-Rodrigues J, Queiróz Cunha F, Cárnio EC. Cardiovascular and inflammatory response to cholecystokin in during endotoxemic shock. *Shock*. [Internet]. 2013 [cited Jan 16, 2019];39(1):104-13. Available from: <https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=23247127>
 14. Romanovsky AA, Almeida MC, Aronoff DM, Ivanov AI, Konsman JP, Steiner AA, et al. Fever and hypothermia in systemic inflammation: recent discoveries and revisions. *Front Biosci*. [Internet]. 2005 [cited Jan 16, 2019];10:2193-216. Available from: <https://www.bioscience.org/2005/v10/af/1690/fulltext.htm>
 15. Garami A, Steiner AA, Romanovsky AA. Fever and hypothermia in systemic inflammation. *Handb Clin Neurol*. [Internet]. 2018 [cited Jan 16, 2019];157:565-97. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444640741000343?via%3Dihub>
 16. Scammell TE, Elmquist JK, Saper CB. Inhibition of nitric oxide synthase produces hypothermia and depressões lipopolysaccharide fever. *Am J Physiol*. [Internet]. 1996 [cited Jan 17, 2019];271(2 Pt 2):R333-8. Available from: <https://www.physiology.org/doi/abs/10.1152/ajpregu.1996.271.2.R333>
 17. Gourine AV. Pharmacological evidence that nitric oxide can act as an endogenous antipyretic factor in endotoxin-induced fever rabbits. *Gen Pharmacol*. [Internet]. 1995 [cited Jan 18, 2019];26(4):835-41. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030636239400240N?via%3Dihub>
 18. Hakim TS, Pedoto A, Nandi J, Bosco G, Rubini A, Mangar D, et al. Hypothermia attenuates NO production in anesthetized rats with endotoxemia. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. [Internet]. 2014 [cited Jan 18, 2019];387(7):659-65. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00210-014-0977-1>
 19. Pereira FH, Batalhão ME, Cárnio EC. Correlation between body temperature, blood pressure and plasmatic nitric oxide in septic patients. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. [Internet]. 2014 [cited Jan 15, 2019];22(1):123-8. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-1692014000100123&script=sci_arttext&lng=pt
 20. Song JE, Kim MH, Jeong WY, Jung IY, Oh DH, Kim YC, et al. Mortality risk factors for patients with septic shock after implementation of the surviving sepsis campaign bundles. *Infect Chemother*. [Internet]. 2016 [cited Jan 05, 2020];48(3):199-208. Available from: <https://www.icjournal.org/DOIx.php?id=10.3947/ic.2016.48.3.199>
 21. Torsvik M, Gustad LT, Mehl A, Bangstad IL, Vinje LJ, Damås JK, et al. Early identification of sepsis in hospital inpatients by ward nurses increases 30-day survival. *Crit Care*. [Internet]. 2016 [cited Jan 05, 2020];20(1):244. Available from: <https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13054-016-1423-1>
 22. Harms PG, Ojeda SR. A rapid and simple procedure for chronic cannulation of the rat jugular vein. *J Appl Physiol*. [Internet]. 1974 [cited Jan 15, 2019];36(3):391-2. Available from: <https://www.physiology.org/doi/abs/10.1152/jappl.1974.36.3.391>
 23. Rumbus Z, Matics R, Hegyi P, Zsiboras C, Szabo I, Illes A, et al. Fever is Associated with reduced, hypothermia with increased mortality in septic patients: a meta-analysis of clinical trials. *PLoS One*. [Internet]. 2017 [cited Jan 05, 2020];12(1):e0170152. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0170152>
 24. Remick DG, Xia H. Hypothermia and sepsis. *Front Biosci*. [Internet]. 2006 [cited Jan 20, 2019];11:1006-13. Available from: <https://www.bioscience.org/2006/v11/af/1858/fulltext.htm>
 25. Saito H, Sherwood ER, Varma TK, Evers BM. Effects of aging on mortality, hypothermia, and cytokine induction in mice with endotoxemia or sepsis. *Mech Ageing Dev*. [Internet]. 2003 [cited Jan 20, 2019];124(10-12):

- 1047-58. Available from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0047637403001763?via%3Dihub>
26. Soszynski D. The inhibition of nitric oxide synthase suppresses LPS – and psychological stress-induced fever in rats. *Physiol Behav.* [Internet]. 2001 [cited Jan 20, 2019];72(1-2):65-72. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031938400003759?via%3Dihub>
27. Saia RS, Anselmo-Franci JA, Carnio EC. Hypothermia during endotoxemic shock in female mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Shock.* [Internet]. 2008 [cited Jan 20, 2019];29(1):119-26. Available from: <https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=17621253>
28. Zhou X, Potoka DA, Boyle P, Nadler EP, McGinnis K, Ford HR. Amino guanidine renders inducible nitric oxide synthase knockout mice more susceptible to *Salmonella typhimurium* infection. *FEMS Microbiology Letters.* [Internet]. 2002 [cited Jan 20, 2019];206(1):93-7. Available from: <https://academic.oup.com/femsle/article/206/1/93/621788>
29. Rudaya AY, Steiner AA, Eobbins JR, Dragic AS, Romanovsky AA. Thermoregulatory responses to lipopolysaccharide in the mouse: dependence on the dose and ambient temperature. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* [Internet]. 2005 [cited Jan 20, 2019];289(5):R1244-52. Available from: https://www.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpregu.00370.2005?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed
30. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* [Internet]. 2016 [cited Jan 20, 2019];315(8):801-10. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2492881>
31. Nolt B, Tu F, Wang X, Ha T, Winter R, Williams DL, et al. Lactate and immunosuppression in sepsis. *Shock.* [Internet]. 2018 [cited Jan 21, 2019];49(2):120-5. Available from: <https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=28767543>
32. Haas R, Smith J, Rocher-Ros V, Montero-Melendez T, D'Acquisto F, Bland EJ, et al. Lactate regulates metabolic and pro-inflammatory circuits in control of T cell migration and effector functions. *PLoS Biol.* [Internet]. 2015 [cited Jan 14, 2019];13(7):e1002202. Available from: [em:https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.1002202](https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.1002202)
33. Leite TC, Coelho RG, Da Silva D, Coelho WS, Marinho-Carvalho MM, Sola-Penna M. Lactate downregulates the glycolytic enzymes hexokinase and phosphofructokinase in diverse tissues from mice. *FEBS Lett.* [Internet]. 2011 [cited Jan 14, 2019];585(1):92-8. Available from: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1016/j.febslet.2010.11.009>
34. Zheng Z, Ma H, Zhang X, Tu F, Wang X, Ha T, et al. Enhanced glycolytic metabolism contributes to cardiac dysfunction in polymicrobial sepsis. *J Infect Dis.* [Internet]. 2017 [cited Jan 15, 2019];215(9):1396-406. Available from: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1093/infdis/jix138>
35. Xie M, Yu Y, Kang R, Zhu S, Yang L, Zeng L. PKM2-dependent glycolysis promotes NLRP3 and AIM2 inflammasome activation. *Nat Commun.* [Internet]. 2016 [cited Jan 18, 2019];7:13280. Available from: <https://www.nature.com/articles/ncomms13280>
36. Yang L, Xie M, Yang M, Yu Y, Zhu S, Hou W, et al. PKM2 regulates the Warburg effect and promotes HMGB1 release in sepsis. *Nat Commun.* [Internet]. 2014 [cited Jan 18, 2019];5:4436. Available from: <https://www.nature.com/articles/ncomms5436>
37. Puig-Kröger A, Pello OM, Muñoz-Pello O, Selgas R, Criado G, Bajo MA, et al. Peritoneal dialysis solutions inhibit the differentiation and maturation of human monocyte-derived dendritic cells: effect of lactate and glucose-degradation products. *J Leukoc Biol.* [Internet]. 2003 [cited Jan 18, 2019];73(4):482-92. Available from: <https://jlb.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1189/jlb.0902451>
38. Colegio OR, Chu NQ, Szabo AL, Chu T, Rhebergen AM, Jairam V. Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. *Nature.* [Internet]. 2014 [cited Jan 18, 2019];513(7519):559-63. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature13490>
39. Fodor RS, Georgescu AM, Cioc AD, Grigorescu BL, Cotoi OS, Fodor P, et al. Time- and dose-dependent severity of lung injury in a rat model of sepsis. *Rom J Morphol Embryol.* [Internet]. 2015 [cited Jan 18, 2019];56(4):1329-37. Available from: <http://www.rjme.ro/RJME/resources/files/56041513291337.pdf>

Recebido: 06.05.2019

Aceito: 12.03.2020

Editora Associada:
Maria Lúcia Zanetti


Copyright © 2020 Revista Latino-Americana de Enfermagem
Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da Licença Creative Commons CC BY.

Esta licença permite que outros distribuam, remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que lhe atribuam o devido crédito pela criação original. É a licença mais flexível de todas as licenças disponíveis. É recomendada para maximizar a disseminação e uso dos materiais licenciados.

Autor correspondente:

Evelin Capellari Carnio

E-mail: carnioec@eerp.usp.br

 <https://orcid.org/0000-0002-8735-4252>