

A INFLUÊNCIA DO SISTEMA NERVOSO AUTÓNOMO NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA DA SEPSIS

João Gonçalves¹

RESUMO

A Sepsis, síndrome de resposta inflamatória sistémica associada a infeção, é uma entidade clínica com crescente impacto social e médico. A desregulação da resposta inflamatória parece estar na base da sua fisiopatologia. O Sistema Nervoso Autónomo (SNA) assume um papel regulador de grande parte das funções orgânicas. Nos últimos anos, têm-se acumulado evidência de que a resposta imune está também sob a influência do SNA através dos seus dois braços eferentes: o sistema nervoso simpático (SNAS) e parassimpático (SNAP). A influência do SNAS parece ser complexa, apresentando efeitos pró e anti-inflamatórias, enquanto o SNAP induz efeitos predominantemente anti-inflamatórios. Curiosamente, parece que estes sistemas atuam de forma sinérgica na regulação de resposta imune a nível do baço. A capacidade de o SNA modular a resposta inflamatória poderá levar ao surgimento de novas abordagens terapêuticas da Sepsis, como o recurso a agonistas β_2 ou dos recetores nicotínicos do tipo α_7 . Estas abordagens deverão ter em conta a importância que a estimulação do SNAS tem na otimização da pressão de perfusão tecidual nos doentes sépticos. Assim, o aprofundamento do conhecimento do papel do SNA na fisiopatologia da Sepsis poderá abrir novas perspectivas de tratamento desta entidade.

PALAVRAS-CHAVE: SEPSIS, INFLAMAÇÃO, SISTEMA NERVOSO AUTÓNOMO

THE INFLUENCE OF THE AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM IN THE INFLAMMATORY RESPONSE OF SEPSIS

ABSTRACT

Sepsis, systemic inflammatory response syndrome associated with infection, is a clinical entity with increasing social and medical impact. The deregulation of the inflammatory response seems to be in the basis of its pathophysiology. Autonomic Nervous System (ANS) assumes a regulatory role in the majority of the body's functions. In the last years increasing evidence has shown that immune response is under influence of ANS through its two efferent arms: sympathetic (SNS) and parasympathetic nervous systems (PSNS). The influence of SNS seems complex showing pro and anti-inflammatory effects while PSNS has mainly anti-inflammatory features. Interestingly it seems that these systems act in a synergic way in the regulation of immune response at the spleen. ANS's ability to modulate the inflammatory response may lead to the emergence of new approaches to the treatment of Sepsis, like β_2 adrenergic receptor and α_7 nicotinic receptors agonists. These approaches ought to respect the importance of the SNS stimulation to the optimization of perfusion pressure in septic patients. In this way the deeper understanding of ANS's role in the pathophysiology of Sepsis will open new perspectives regarding the treatment of this entity.

KEY-WORDS: SEPSIS, INFLAMMATION, AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM

DATA DE RECEPÇÃO / RECEPTION DATE: 20/05/2013 - DATA DE APROVAÇÃO / APPROVAL DATE: 26/07/2013

1. FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

INTRODUÇÃO

A Sepsis é uma entidade clínica que se define como uma Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica (SIRS) associada a infeção confirmada ou presumida.¹ Trata-se de uma síndrome com significativo impacto social, atingindo cerca de 650.000 pessoas e sendo responsável pela morte de cerca de 200.000 pessoas anualmente nos EUA.²

Na verdade, a patogénese da Sepsis é extremamente complexa. Partindo da sua definição torna-se perceptível que se trata de uma entidade clínica em que a reação inflamatória assume um papel central. Atualmente, acredita-se que a resposta a um agente agressor leva à produção de citocinas inflamatórias, transformando um fenómeno inflamatório localizado num evento sistémico – o SIRS.³

Embora o SIRS seja um componente determinante nas fases iniciais da Sepsis, cada vez mais se consegue que o doente sobreviva a esta fase inflamatória inicial da Sepsis através da instituição precoce de antibioterapia, otimização da oxigenação tecidual e controlo do foco infeccioso.⁴ Todavia, os doentes que não atingem a cura nesta primeira fase, podem evoluir para uma fase mais tardia caracterizada por uma acrescida suscetibilidade a infeções secundárias, que poderão ser a causa da morte do doente. Assim, surgiu o conceito de imunoparalisia,

situação anormal resultante do exagero da resposta anti-inflamatória compensatória (CARS).^{5,6}

O Sistema Nervoso Autónomo (SNA) é constituído por dois componentes clássicos: o Sistema Nervoso Simpático (SNAS) e Sistema Nervoso Parassimpático (SNAPS).⁷ O SNA assume uma função de manutenção da homeostasia, influenciando desde a função cardiovascular, respiratória e gastrointestinal até ao controlo dos níveis glicémicos e a temperatura corporal.⁸ Nas últimas décadas têm-se verificado que a influência do SNA também se estende ao sistema imunológico. Embora classicamente o Sistema Imunológico seja considerado como um sistema autónomo, fora do alcance do sistema nervoso, tal conceito foi desafiado à medida que se verificou que o Sistema Nervoso Central (SNC) possuía capacidade de modular a resposta inflamatória/imune, primeiro através do eixo Hipotálamo-Hipófise-Supra Renal (HHSR) e seguidamente através do SNA.⁹

Tratando-se de uma entidade clínica que apresenta um sério desafio à manutenção da homeostasia corporal, a Sepsis induz profundas alterações no padrão de ativação do SNA.¹⁰ Ao impacto produzido pela patologia per se acrescentam-se as alterações induzidas pelas intervenções terapêuticas, nomeadamente o recurso a amins para otimização das pressões de perfusão.⁸

Portanto, considerando que a Sepsis induz profundas alterações na padrão de ativação do SNA e tendo em conta o carácter inflamatório desta patologia, faz todo o sentido tentar compreender qual o papel do SNA na regulação da inflamação durante a Sepsis.

A LIGAÇÃO ENTRE A INFLAMAÇÃO E O SNA

Sendo que o SNA é um sistema regulador de múltiplas funções orgânicas e uma vez que se tem descoberto interações entre o SNA e o sistema imune, é lógico equacionar a hipótese do SNA exercer funções reguladoras sobre a resposta inflamatória. Assim, para que o SNA assuma este papel, é necessário que exista: uma via aferente, que forneça informação sobre estado inflamatório; um centro regulador, que consoante as informações veiculadas gere uma resposta adequada às necessidades do organismo; uma via eferente que transmita essa resposta de modo a modular a resposta imune.¹¹

Considerando que os centros reguladores das funções orgânicas do SA se encontram no SNC é lógico presumir que o mesmo se aplique para a função imune. Assim, existem dois modos de serem veiculadas informações ao SNC: a via humoral, por substâncias solúveis que ativem recetores a nível do SNC; a via *hard-wired*, em que as informações ao SNC são veiculadas por fibras nervosas.^{7,12}

Para o papel de agente que atue pela via humoral surgem as citocinas, nomeadamente a IL-1 e o TNF α . Na verdade, como estas são geradas em situações de inflamação, servem, de uma forma simplista, como marcadores do estado inflamatório. Apesar da incapacidade da IL-1 ultrapassar a barreira hemato-encefálica (BHE), esta pode influenciar o SNC através de estruturas desprovidas de BHE, como os órgãos paraventriculares, ou através de recetores nas células endoteliais, que são responsáveis pela produção de mediadores secundários, como as prostaglandinas. O mecanismo da febre é um exemplo, já que a IL-1 induz alterações do termóstato hipotalâmico através da produção secundária de PGE₂.^{12,13}

Por outro lado, sabe-se que a administração intraperitoneal de baixas doses de IL-1, insuficientes para elevar as concentrações plasmáticas desta citocina, é capaz de induzir uma ativação do SNAS. Para além disto, num ensaio semelhante verificou-se que a administração intraperitoneal de IL-1 levava a um aumento da frequência de despolarizações do nervo vago.¹² Assim, parece que informações relativas ao estado inflamatório sistémico podem ser veiculadas ao SNC, via nervo vago, gerando uma resposta reflexa através do SNA – “o reflexo inflamatório”.⁹ As

células glómicas presentes no corpo carotídeo parecem ser sensíveis ao LPS assim como à IL-1, IL-6 e TNF α .¹⁴ A estimulação destas células com LPS e TNF α é capaz de modular a sensibilidade do corpo carotídeo a estímulos como a hipoxia.¹⁵ Assim, a alteração da função desta estrutura pode servir como um meio alternativo de veicular informações sobre estado inflamatório ao SNC.

A via eferente do SNA por este “reflexo inflamatório” passará pelos seus dois componentes: o SNAS e o SNAPS. Os efeitos destes sistemas sobre a resposta inflamatória/imune serão abordados em maior pormenor nos dois capítulos seguintes.

O SISTEMA SIMPÁTICO E A INFLAMAÇÃO

O SNAS e o eixo HHSR são os dois sistemas, com origem no SNC, que classicamente são ativados em resposta a agentes de *stress*. Tem-se verificado que após eventos indutores de *stress* (quer físicos quer psicológicos) se gera um estado de imunossupressão. Na realidade, o cortisol, produzido pelas glândulas supra-renais após a ativação do eixo HHSR, parece ser o principal responsável por esta imunossupressão.⁵ Contudo, nas últimas décadas têm-se acumulado evidência que aponta para um papel importante do SNAS.

A Sepsis induz uma ativação precoce do SNAS, com uma produção e libertação intensificada dos seus principais mediadores: adrenalina e noradrenalina.⁸ Para o tratamento do choque séptico, é muito comum o uso de catecolaminas com o objetivo de maximizar a pressão de perfusão dos órgãos.⁴ Assim, é muito importante perceber qual o impacto que este influxo de catecolaminas, endógenas e exógenas, tem na resposta imune/inflamatória no contexto da Sepsis.

Para que se possa compreender como é que o SNAS modula a resposta inflamatória é necessário primeiro reconhecer que o sistema imune é extremamente complexo, envolvendo uma cascata de células e moléculas mediadoras de grande diversidade. Deste modo, para simplificar a compreensão do papel do SNAS pode-se subdividir a resposta imune em várias fases. Contudo, deve-se ter sempre presente que estas fases não são independentes mas desenvolvem-se conjuntamente.

IMUNIDADE INATA

RECONHECIMENTO DA AMEAÇA - TLR

Quando ocorre a invasão por um agente patogénico, como por exemplo uma bactéria, para

que possa ser montada uma resposta há que, em primeiro lugar, identificar o agente agressor. Tal acontece através de receptores que reconhecem padrões moleculares associados a agentes patogénicos (PAMPs). O lipopolissacarídeo (LPS), existente nas bactérias Gram - é um exemplo de PAMP. Fazem parte desta classe de receptores várias famílias, como por exemplo os receptores *Toll-like* (TLR), que quando ativados iniciam a cascata inflamatória necessária à eliminação do agente agressor.¹⁶ Para a iniciação desta cascata é essencial o fator de transcrição NFkB. No estado basal, o NFkB encontra-se localizado no citosol, sendo que a estimulação dos TLR leva à sua ativação e translocação para o núcleo, onde promove a transcrição de genes envolvidos na resposta inflamatória, como as citocinas TNF α e IL-1.¹⁷

Acredita-se que a hiperestimulação dos TLR por antígenos patogénicos pode estar implicado na génese do estado hiperinflamatório associado à Sepsis.³ O SNAS é capaz de modular a ativação destes receptores. Demonstrou-se que adicionando noradrenalina a culturas de células mononucleares periféricas estimuladas com LPS, ocorre redução da produção de IL-1 e TNF α .¹⁸ Na verdade, este efeito é mediado via receptores adrenérgicos β_2 , que medeiam grande parte dos efeitos do SNAS a nível da resposta imune.^{18,19} Partindo desta descoberta, vários estudos confirmaram que o recurso a agonistas β não-seletivos (como a isoprenalina)²⁰ e β_2 -seletivos (como a terbutalina) induz uma resposta anti-inflamatória, com redução da produção de TNF α , IL-1e também da proteína *high-mobility-group-box-1* (HMGB1), que funciona como uma citocina de fase tardia na Sepsis. Curiosamente, a estimulação β_1 parece aumentar a resposta pro-inflamatória e não suprimi-la.²¹ Por outro lado, polimorfismos do gene do recetor β_2 , caracterizados por menor capacidade de supressão da produção de IL-6, estão associados a pior prognóstico de doentes com choque séptico.²²

Em contraponto com estes achados, verificou-se que a co-estimulação, de células de Kupffer e algumas linhas de macrófagos peritoneais, com LPS e noradrenalina leva não a uma redução da produção de citocinas, mas sim a um aumento sinérgico.^{18,19,23} Este efeito é mediado por receptores adrenérgicos α_2 (AR α_2), especificamente α_{2A} .^{24,25} Uma importante fonte de noradrenalina é o trato gastrointestinal, sendo que durante a Sepsis a concentração de noradrenalina na circulação portal pode ser duas vezes superior à da circulação sisté-

mica. A ativação de receptores α_2 presentes nas células de Kupffer, através da ação da noradrenalina de origem entérica, leva a um aumento da produção de TNF α , IL-1 e IL-10 e parece estar associada ao surgimento de disfunção hepática em modelos animais da Sepsis.^{23,26,27}

A evidência parece demonstrar que os monócitos circulantes apresentam um perfil de resposta β_2 , mas à medida que amadurecem e se deslocam para os tecidos perdem essa característica, passando a predominar os efeitos pró-inflamatórios α_{2A} .¹⁸ Para além disto, é possível que a Sepsis induza uma alteração fenotípica das células de Kupffer caracterizada por *upregulation* dos receptores adrenérgicos α_{2A} .²⁵ Deste modo, as catecolaminas poderão suprimir a resposta inflamatória nas células circulantes ao mesmo tempo que estimulam a resposta inflamatória local. Este perfil parece indicar que o SNAS poderá ter um papel importante na teoria da Compartimentação da resposta inflamatória da Sepsis.²⁸ Todavia, estes dados complicam a interpretação do efeito global do SNAS, indicando que poderá ter um papel complexo e variável.

QUIMIOTAXIA E RESPOSTA LOCAL

Após o reconhecimento da invasão, ocorre a ativação das células imunes locais, como os mastócitos e os macrófagos tecidulares, sendo que estas células produzem várias substâncias (citocinas, quimiocinas e mediadores lipídicos) vitais ao recrutamento de células imunes competentes capazes de gerar uma resposta inflamatória. Assim, a secreção de citocinas, como a IL-1 e o TNF- α , e quimiocinas, como a IL-8 e CCL-3, induz o recrutamento de neutrófilos, monócitos e linfócitos. Neste ponto, o SNAS produz efeitos mais complexos. Por um lado, poderá aumentar a produção de IL-8²⁹ mas, por outro lado, verificou-se que as catecolaminas suprimem a produção de CCL3.^{18,30} Para além disto, a supressão da produção de IL-1 e TNF α induziria uma redução da quimiotaxia. Sabe-se também que as catecolaminas possuem efeitos supressores da atividade dos neutrófilos, reduzindo o *burst* oxidativo, fagocitose e quimiotaxia, sendo estes mediados por receptores β .¹⁸ A estimulação α -adrenérgica tende a causar o efeito inverso.¹⁹ Todavia a modulação da produção de quimiocinas e do recrutamento celular possui duas facetas opostas. Por um lado, a supressão da sua produção causará um efeito anti-inflamatório mas, por outro lado, poderá reduzir o *clearance* bacteriano, o que por si só poderá prolongar a resposta inflamatória.

IMUNIDADE ADQUIRIDA

A RESPOSTA ADAPTATIVA -EQUILÍBRIO TH1/TH2:

CÉLULAS APRESENTADORAS DE ANTÍGENOS (APC)

Embora se dê particular atenção à desregulação do sistema imune inato, ocorrem também alterações na resposta imune adaptativa durante a Sepsis. Para a construção de uma resposta imune adquirida, assumem um papel central as APC, que internalizam, processam e apresentam os antígenos às células Th. São consideradas APC: as células dendríticas, os macrófagos e os linfócitos B. Da interação entre as APC e as células Th gera-se a ativação dos mecanismos de imunidade adquirida, quer sejam eles celulares (ativação macrofágica e de células T citotóxicas) quer humorais (por produção de anticorpos). A partir desta interação gera-se uma alteração fenotípica das células Th seguindo um fenótipo Th₁ ou Th₂. O fenótipo Th₁ é caracterizado pela produção de INFγ, TNFα e IL-13, estando associado à ativação da imunidade celular e a um *status* imunológico pró-inflamatório. O perfil Th₂ está associado à produção de IL-10, IL-4 e IL-3, induzindo um estado anti-inflamatório, e ativando a imunidade humoral (principalmente a produção da fração IgE). Crê-se que a capacidade de resposta imunológica depende muito do equilíbrio existente entre as vias Th₁/Th₂.^{18,31}

Considerando que a Sepsis resulta de uma ativação inflamatória sistêmica seria de esperar que a razão Th₁/Th₂ estivesse aumentada. Apesar disso para uma parte importante dos doentes sépticos o componente CARS é predominante, surgindo um estado de imunossupressão associado a uma redução da razão Th₁/Th₂.⁶

O SNAS induz profundas alterações no equilíbrio Th₁/Th₂, quer a nível das APC quer a nível linfocitário. Nas células dendríticas, a produção de IL-12 e INFγ é suprimida pela ação da norepinephrina e adrenalina, via receptores β₂, inclinando o equilíbrio para uma resposta Th₂.^{18,32} Como já foi referido acima, os efeitos nos monócitos/macrófagos são mais complexos. Assim, nos monócitos, e em algumas linhagens de macrófagos, as catecolaminas suprimem a produção de IL-1 e TNFα,^{20,33} citocinas que estimulam os macrófagos a produzir IL-12, uma citocina tipicamente Th₁. Para além disto, as catecolaminas também induzem um aumento da produção de IL-10, uma citocina que suprime as respostas Th₁.³⁴ Assim, através das APC, o SNAS parece favorecer uma resposta Th₂.

LINFÓCITOS

Os linfócitos apresentam diferentes expressões de receptores β-adrenérgicos à sua superfície. As células Th₁ e os linfócitos B exprimem estes receptores ao passo que as células Th₂ não.¹⁸ No que respeita ao eixo Th₁ as catecolaminas parecem induzir um efeito puramente supressor: inibem a diferenciação de células Th_{naive} em Th₁¹⁹; reduzem a capacidade de proliferação das células Th₁ podendo até induzir apoptose, possivelmente através da redução de receptores de IL-2; reduzem a produção de citocinas Th₁, como o INFγ.¹⁸ Aparentemente, no que respeita aos linfócitos Th₂, as catecolaminas não induzem alterações diretas na função. Resumindo as catecolaminas induzem um efeito supressor sobre os linfócitos Th₁, um efeito supressor sobre as citocinas Th₁ produzidas pelas APC (por exemplo IL-12) e um efeito nulo sobre as células Th₂. Assim, no que respeita à imunidade adquirida, as catecolaminas inclinam a resposta imune para um perfil Th₂, caracterizada pela produção de citocinas inibidoras da resposta inflamatória.¹⁸

SNAS E AS BACTÉRIAS

Como já foi referido, o estudo do impacto do SNAS na resposta inflamatória da Sepsis é uma tarefa complicada devido ao grande número de parâmetros a considerar. Na verdade, os pontos previamente mencionados relatam apenas alterações na função das células do hospedeiro. Contudo, a Sepsis resulta da interação de um agente patogénico e da resposta gerada pelo hospedeiro. Assim, para se compreender o impacto que o SNAS tem na resposta inflamatória é preciso compreender também o seu impacto nos agentes patogénicos.³⁵

Na realidade, vários estudos apontam para o facto de as catecolaminas terem a capacidade de induzir aumento da proliferação bacteriana e possivelmente um aumento da sua virulência.³⁶ Para além deste efeito, parece que a modulação que o SNAS exerce sobre as células do sistema imune pode afetar o *clearance* bacteriano de forma negativa para um tipo bacteriano mas de forma positiva para outros tipos. De facto, quando se avaliou o *clearance* bacteriano em ratinhos sujeitos a simpatectomia, foi verificado que ocorria uma redução da disseminação bacteriana perante a infeção por *Pseudomonas aeruginosa* e um aumento da disseminação aquando de uma infeção por *Staphylococcus aureus*.³⁷ Curiosamente, este estudo parece apontar para que o efeito do SNAS na imunidade seja também dependente do tipo de agente patogénico, possivelmente favorecendo o combate a

infecções por Gram + e dificultando a eliminação de agentes Gram -. Tal poderá dever-se ao facto de estes agentes levarem à ativação de respostas imunes com perfis diferentes.

RECEPTORES β E DESSENSIBILIZAÇÃO

A expressão dos receptores adrenérgicos nas membranas celulares é um processo dinâmico. De facto, a exposição prolongada a catecolaminas induz fenómenos de *downregulation* dos receptores β , envolvendo a fosforilação do recetor e consequente sequestro intracelular envolvendo β -arrestinas. Na verdade, um estudo que avaliava o impacto da isoprenalina na produção de TNF α por macrófagos CD14⁺, mostrou que, nas células obtidas de voluntários saudáveis, a isoprenalina induzia uma redução da produção desta citocina, sendo que este efeito não se verificou em macrófagos obtidos de doentes sépticos.³⁸ Contudo, a via de sinalização dos receptores β estava intacta, pois a estimulação da enzima adenilciclase simulava os efeitos da isoprenalina.

Compreende-se que a modulação que o SNAS induz no sistema imunológico é um fenómeno complexo. Por um lado, parece induzir fenómenos predominantemente anti-inflamatórios com depressão quer da imunidade inata quer adquirida, por outro, poderá prolongar a resposta inflamatória devido a uma redução da capacidade de *clearance* bacteriano e da estimulação de receptores α . Acrescenta-se ainda o facto de o nível de ativação do SNAS poder estar sujeito a variações temporais ao longo do processo evolutivo da Sepsis. A Figura 1 esquematiza o papel na regulação da resposta imune.

O SISTEMA PARASSIMPÁTICO E A INFLAMAÇÃO

O estudo do impacto do SNAPS na inflamação é mais recente e menos aprofundado que o estudo do SNAS. Contudo o volume de evidência a suportar o potencial clínico da modulação do SNAPS tem vindo a crescer de forma continua.

O interesse do SNAPS como sistema modulador da resposta inflamatória adveio da descoberta que a estimulação de macrófagos com acetilcolina inibe a produção de várias citocinas pró-inflamatórias (TNF α , IL-1, IL-6 e IL-18) sem contudo alterar a produção de IL-10.⁹ Posteriormente, verificou-se que a estimulação do nervo Vago era capaz de reduzir a produção de várias citocinas inflamatórias (TNF α , IL-1, HMGB-1) em vários modelos de Sepsis.

A acetilcolina exerce as suas ações através da estimulação dos receptores nicotínicos (nAChR) e muscarínicos (mAChR). Contudo, a subunidade responsável pelo efeito anti-inflamatório é a subunidade $\alpha 7$ do recetor nicotínico da acetilcolina ($\alpha 7$ nAChR). Apenas a estimulação deste subtipo gera uma resposta anti-inflamatória relevante, pois a estimulação de nAChR com outro tipo de subunidades ou a administração de agonistas muscarínicos periféricos não reduzem a resposta inflamatória induzida pela administração de LPS *in vitro* ou *in vivo*.³⁹ Para além disto, o bloqueio do $\alpha 7$ nAChR anula a capacidade anti-inflamatória do nervo vago.⁴⁰

Como foi dito acima, as fibras ascendentes vagais fazem parte da via *hard-wired*, que informa o SNC do estado inflamatório dos tecidos.⁷ No entanto, estes estudos mostraram que as fibras descendentes vagais poderão ser um dos componentes do braço eferente do SNC responsável por modular a resposta inflamatória.⁴¹

Para além da estimulação do nervo vago, os agonistas do $\alpha 7$ nAChR, como por exemplo a nicotina, colina e o GTS-21, assim como os inibidores da ace-

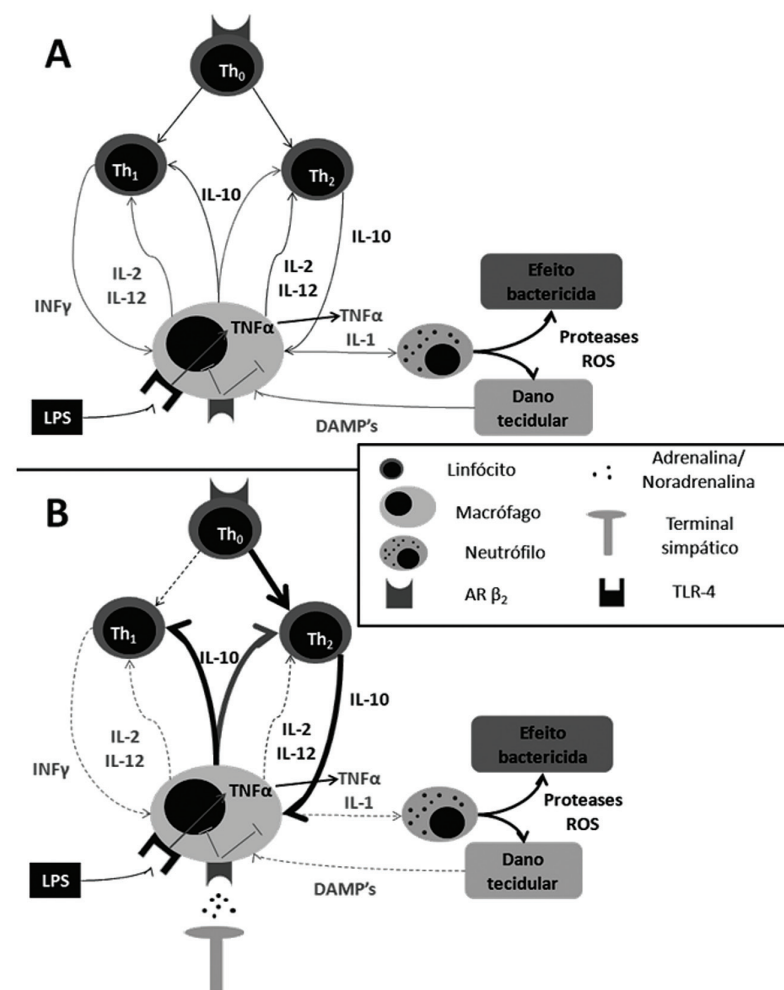


FIGURA 1: A - INTERAÇÃO ENTRE RESPOSTA IMUNE INATA E ADAPTATIVA NA AUSÊNCIA DE INFLUÊNCIA SIMPÁTICA.

B - REGULAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE PELO SNAS ATRAVÉS DOS ADRENORECEPTORES β

—| SUPRESSÃO —> ESTIMULAÇÃO —> EFEITO INTENSIFICADO - - -> EFEITO INIBIDO

ticolinesterase (iACE), têm capacidade de reduzir a produção de citocinas pró-inflamatórias, assim como melhorar a sobrevida nos modelos animais de Sepsis.⁴¹

Verificou-se que embora os mAcCoR periféricos não induzam alterações da produção de citocinas o mesmo não se aplica aos mAcCoR centrais. De facto, a estimulação dos receptores M1 centrais ou então estratégias que aumentem a concentração de acetilcolina na fenda sináptica a nível central (antagonistas M2 ou iACE de ação central), induzem uma redução das concentrações plasmáticas de TNF α .^{39,42} Na verdade, este efeito pode dever-se à estimulação vagal pois o uso de agonistas M1 leva a um aumento da frequência de despolarizações deste nervo.³⁹

O baço parece ser um órgão indispensável para o funcionamento deste “sistema colinérgico anti-inflamatório”. De facto, a esplenectomia anula os efeitos da estimulação vagal e dos agonistas $\alpha 7nAcCoR$.⁴³ Curiosamente, o efeito da esplenectomia pode ser reproduzido causando apenas a ablação do nervo esplênico.⁴⁴ Estes resultados são intrigantes porque nunca foram localizadas fibras colinérgicas no baço e o nervo esplênico é constituído puramente por fibras simpáticas.⁴¹ Assim, a estimulação do nervo vago nunca poderia modular diretamente a atividade das células imunes do baço. A presença de receptores $\alpha 7nAcCoR$ nos neurónios pós-ganglionares simpáticos do gânglio celiaco pode explicar este ponto: a estimulação vagal liberta acetilcolina que, via $\alpha 7nAcCoR$, ativa neurónios simpáticos pós-ganglionares no gânglio celiaco.^{41,45} Seguidamente as fibras destes neurónios seguem no nervo esplênico e podem modular a função das células imunes do baço via receptores adrenérgicos.⁴¹ Como foi dito acima, os receptores β_2 são responsáveis por muitos dos efeitos anti-inflamatórios das catecolaminas.¹⁹ Assim, acredita-se que a estimulação vagal produz um efeito anti-inflamatório por aumento da libertação de catecolaminas no baço e consequente estimulação de receptores β_2 .⁴¹ De facto, o antagonismo de receptores β_2 ⁴⁶ ou a depleção de catecolaminérgica⁴⁴ bloqueia o efeito anti-inflamatório da estimulação vagal. Este mecanismo de cooperação entre o SNAS e o SNAPS é curioso visto que estes dois sistemas funcionam de forma oposta na regulação da maior parte das funções orgânicas.⁷

Contudo, o funcionamento desta “via anti-inflamatória colinérgica” é ainda mais complexo. Como foi dito previamente, o baço não é enervado por fibras colinérgicas, contudo a estimulação do nervo esplênico induz um aumento das concentrações de acetilcolina no baço. Assim, parece existir uma fonte não-neuronal de acetilcolina a nível do baço.

Um estudo recente mostrou que essas células serão provavelmente linfócitos T reguladores (que expressam receptores β_2), sendo que a acetilcolina libertada poderá atuar em macrófagos esplênicos (via $\alpha 7nAcCoR$) induzindo um perfil anti-inflamatório.⁴⁶⁻⁴⁸ A Figura 2 esquematiza o funcionamento deste sistema.

Considerando os pontos referidos, parece que a ativação do SNAPS induz um efeito predominante anti-inflamatório. Contudo, como foi dito relativamente ao SNAS, a supressão da resposta inflamatória na Sepsis pode ter efeitos dúbios: por um lado suprimindo o SIRS, mas por outro diminuindo a capacidade de eliminação bacteriana prolongando a resposta inflamatória a estes agentes. Na verdade, um estudo utilizando ratinhos knockout para o $\alpha 7nAcCoR$ mostrou que estes possuíam uma maior capacidade de clearance bacteriano possivelmente devido a um maior recrutamento precoce de neutrófilos.⁴⁹ Estes dados são coincidentes com o facto de o GTS-21 reduzir o recrutamento neutrofílico, embora independentemente da supressão do TNF- α .⁵⁰

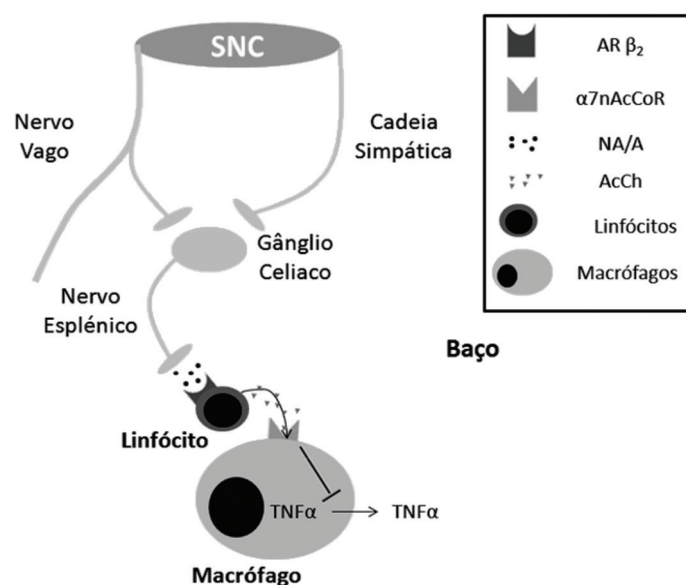


FIGURA 2: ESQUEMA DA VIA ANTI-INFLAMATÓRIA COLINÉRGICA

— SUPRESSÃO NA/A – NORADRENALINA/ADRENALINA ACCH – ACETILCOLINA

IMPACTO CLÍNICO

O SNA assume um papel de regulação de grande parte dos sistemas orgânicos incluindo o sistema imune. O conhecimento destes mecanismos de regulação pode permitir a criação de terapêuticas para patologias caracterizadas pela perturbação da resposta inflamatória/imune. Considerando que a Sepsis é um exemplo paradigmático deste tipo de patologias, a aplicação de terapêuticas moduladoras

do SNA poderá trazer benefícios no melhor controlo da desregulação inflamatória.

A premissa de que a desregulação inflamatória tem um papel central na Sepsis levou à tentativa de abordar esta entidade com terapêuticas anti-inflamatórias. Contudo, o recurso a fármacos como o ibuprofeno,⁵¹ eritoran (antagonista do MD2/TLR4),⁵² anticorpos monoclonais anti-TNF⁵³ e antagonistas dos recetores do TNF e IL-1⁵⁴ foi marcado pelo insucesso. Por seu lado, os corticosteróides têm um papel ainda pouco definido na abordagem aos doentes sépticos, parecendo úteis apenas nos doentes com choque refratário à fluidoterapia e vasopressores.⁵⁵ Considerando que a modulação do SNA produz efeitos predominantemente anti-inflamatórios, pode-se pensar que esta abordagem esteja condenada ao insucesso. Contudo, a modelação do SNA poderá abrir a oportunidade de controlar as respostas inflamatórias de forma mais fisiológica.

Por outro lado, o SNAS parece ter a dupla capacidade de ser anti e pró-inflamatório (Figura 3). Como já foi referido, este facto parece coincidir com a teoria da compartimentação da resposta imune. Contudo, pode ser especulado que esta capacidade permita ao SNAS modificar as respostas imunológicas consoante a necessidade do organismo, intensificando-a quando é necessário eliminar uma ameaça e suprimindo-a quando esta se torna deletéria.

O papel que a estimulação simpática tem na estabilização dos doentes hemodinâmicos não pode

ser esquecido. O recurso a aminas vasopressoras, como por exemplo a noradrenalina, é usado com o objetivo de assegurar a pressão de perfusão tecidual, apresentando um papel central no tratamento dos doentes sépticos. A hipoxia e a hipoperfusão são por si só fatores pró-inflamatórios pois ao induzirem isquemia, causam a libertação de substâncias pró-inflamatórias (*damage-associated molecular patterns*, DAMP's). Nesta perspetiva, as terapêuticas que otimizam a manutenção das condições de perfusão e oxigenação têm também um papel anti-inflamatório. Assim, as abordagens terapêuticas moduladoras do SNA, que serão explanadas a seguir, deverão respeitar necessidade de se manter uma estimulação α e β adrenérgicas necessárias à manutenção do débito cardíaco.

Considerando o que foi dito em relação ao SNAS, duas potenciais abordagens terapêuticas têm sido propostas: o recurso a agonistas dos recetores adrenérgicos β_2 e antagonistas dos recetores α_2 .

1) Agonistas β_2 . O uso destes fármacos tem como objetivo reduzir a produção de citocinas pró-inflamatórias, minimizando o componente SIRS através da ativação dos recetores β_2 nos macrófagos e linfócitos. De facto, esta abordagem aumentou a sobrevivência em alguns modelos animais de Sepsis.⁴⁶ Por outro lado, o recurso a β -bloqueadores não específicos, como o propranolol, está associado a pior sobrevivência em estudos animais,⁵⁶ embora o mesmo não aconteça para os bloqueadores β_1 -selectivos.⁵⁷ Curiosa-

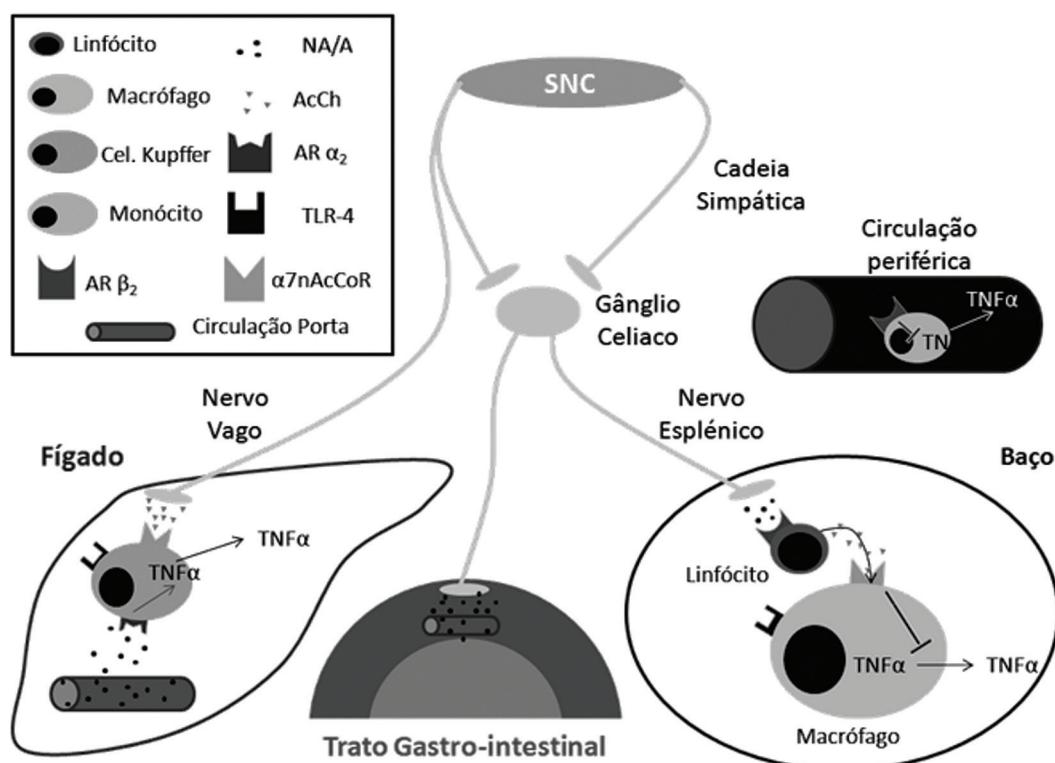


FIGURA 1: INTEGRAÇÃO DAS VIAS EFETORAS DO SNA E SNAS NA REGULAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA.

—| SUPRESSÃO → ESTIMULAÇÃO

mente doentes sépticos sob tratamento crônico com β -bloqueadores parecem ter melhor sobrevida.⁵⁸ Algumas condicionantes poderão limitar o uso deste tipo de abordagem. Por um lado, o efeito anti-inflamatório, condicionando redução da produção de TNF- α , IL-1 e da função fagocitária, poderá causar maior dano do que benefício. Como já foi referido, o recurso a agentes biológicos anti-TNF- α e a recetores solúveis IL-1 foi tentado com insucesso em vários ensaios clínicos.³⁵ Por outro lado, a estimulação de linfócitos com agonistas β_2 induz um desvio da resposta imune para um perfil Th₂ o que poderá implicar uma menor capacidade de resposta imune, comprometendo o clearance bacteriano. Por último, o recurso a agonistas β_2 tem o potencial de gerar alterações hemodinâmicas deletérias para os doentes em choque, como por exemplo a indução de vasodilatação (por estimulação de recetores β_2 do musculo liso das artérias) e o surgimento de arritmias.

2) Antagonistas α_2 . Esta abordagem baseia-se em estudos em modelos animais, que verificaram que a noradrenalina, libertada pelo trato gastrointestinal durante a Sepsis, estimula as células de Kupffer, induzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e podendo causar disfunção hepática.²⁵ Portanto, o antagonismo de recetores α_2 , especificamente os α_{2A} , poderia resultar numa menor ativação das células de Kupffer e menor produção de citocinas pró-inflamatórias e disfunção de órgão.²⁴ Contudo, os recetores α_2 estão também localizados pré-sinápticamente onde funcionam como um mecanismo de regulação da libertação de noradrenalina. Assim, em consequência do antagonismo deste recetor pode ocorrer um aumento da libertação de noradrenalina que atenua os efeitos anti-inflamatórios do antagonismo α_2 .

No que respeita ao SNAPS as abordagens que têm sido referidas são: Estimulação Nervosa Vagal, agonistas α_7 nAcCoR, iACE e agonistas muscarínicos centrais.

3) Estimulação Nervosa Vagal (VNS). A técnica de VNS por via transcutânea já é utilizada para o tratamento da depressão e epilepsia refratárias sendo que a sua aplicação em doentes sépticos já é tecnicamente possível. Em estudos animais a utilização de VNS permitiu reduzir os níveis séricos de citocinas “precoces” (IL-1 e TNF α) e “tardias” (HMGB1). A VNS não alterou de forma significativa os níveis séricos de IL-10. Para além disto, um estudo demonstrou melhoria da sobrevida no modelo de CLP (*cecal ligation and puncture*). Contudo, a VNS poderá induzir alterações hemodinâmicas,

nomeadamente bradicardia, que seriam prejudiciais no contexto da Sepsis. Todavia, nos estudos animais o limiar de voltagem e frequência necessário para suprimir a resposta inflamatória é inferior ao necessário para reduzir a frequência cardíaca o que poderá contornar este problema.⁴¹

4) Agonistas α_7 nAcCoR. Vários agonistas foram testados (GTS-21, nicotina, colina, acetil-colina) verificando-se uma redução dos níveis séricos de HMGB1 e melhoria da sobrevida quando se utilizou GTS-21 ou nicotina no modelo CLP. A nicotina é um agonista inespecífico do α_7 nAcCoR, apresentando afinidade para muitos outros subtipos de recetores nicotínicos. Esta característica faz com que a nicotina possa induzir alterações hemodinâmicas nefastas para o doente séptico. O recurso a um agonista mais seletivo, como o GTS-21, poderá contornar estas dificuldades.⁵⁹

5) Inibidores da ACE. Ao reduzirem a degradação da acetilcolina os iACE permitem prolongar a ação desta substância. No contexto da Sepsis, o objetivo passa por aumentar a quantidade de acetilcolina que se pode ligar ao α_7 nAcCoR a nível periférico e aos recetores M1 centrais. Num estudo com o modelo CLP, o recurso a iACE levou a redução da concentração plasmática de TNF α , IL-1 β e IL-6 (fisostigmina) assim como melhoria da sobrevida (neostigmina e fisostigmina). A grande limitação dos iACE prende-se com os efeitos hemodinâmicos podendo induzir bradicardia e hipotensão.⁴¹

Outro argumento a favor do uso das técnicas que estimulem o SNAPS advém da avaliação da variação espectral da frequência cardíaca e tensão arterial.⁶⁰ Estudos recentes apontam que nos doentes sépticos há uma redução do espectro de variação da frequência cardíaca associada ao tónus do SNAPS.⁶¹ Este facto apoia a ideia da existência de disfunção autonómica nos doentes sépticos que poderiam beneficiar da reversão desta disfunção com técnicas estimuladoras do SNAPS, como a estimulação vagal.⁷

Considerando o papel central que o uso de catecolaminas têm no paradigma atual do tratamento do choque séptico, o recurso a intervenções moduladoras do SNA com o objetivo de alterar a resposta imune só poderá ser posto em prática quando o papel deste sistema na patogénese da Sepsis for convenientemente esclarecido. Antes de se avançar com a aplicação clínica destas abordagens, algumas questões que deverão ser esclarecidas:

- a) Qual a evolução temporal da atividade SNAS/SNAPS ao longo da Sepsis?
- b) A manipulação do SNAS/SNAPS implica insta-

bilidade hemodinâmica? Se sim, esse risco é contra-balançado pelos benefícios inflamatórios/imunes?

c) O efeito anti-inflamatório destas abordagens induz redução significativa da capacidade de elimi-

nação bacteriana?

d) Considerando que a Sepsis é um processo dinâmico qual o melhor timing para a aplicação destas terapêuticas?

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao meu orientador Professor Doutor António Sarmento pelo seu apoio e dedicação durante a realização deste trabalho. Gostaria também de reconhecer o seu contributo muito construtivo através da revisão crítica deste manuscrito.

REFERÊNCIAS

1. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. 1992. *Chest* 2009;136(5 Suppl):e28.
2. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001;29(7):1303-10.
3. Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nat Rev Immunol* 2008;8(10):776-87.
4. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, Reinhart K, Angus DC, Brun-Buisson C, Beale R, Calandra T, Dhainaut JF, Gerlach H, Harvey M, Marini JJ, Marshall J, Ranieri M, Ramsay G, Sevransky J, Thompson BT, Townsend S, Vender JS, Zimmerman JL, Vincent JL. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit Care Med* 2008;36(1):296-327.
5. Woiciechowsky C, Schoning B, Lanksch WR, Volk HD, Docke WD. Mechanisms of brain-mediated systemic anti-inflammatory syndrome causing immunodepression. *J Mol Med (Berl)* 1999;77(11):769-80.
6. Lyn-Kew K, Standiford TJ. Immunosuppression in sepsis. *Curr Pharm Des* 2008;14(19):1870-81.
7. Czura CJ, Tracey KJ. Autonomic neural regulation of immunity. *J Intern Med* 2005;257(2):156-66.
8. Barnes SJ, Ackland GL. Beta-adrenoreceptor modulation of metabolic, endocrine and immunologic function during critical illness. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2010;10(3):292-300.
9. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature* 2002;420(6917):853-9.
10. Munford RS, Tracey KJ. Is severe sepsis a neuroendocrine disease? *Mol Med* 2002;8(8):437-42.
11. van Westerloo DJ. The vagal immune reflex: a blessing from above. *Wien Med Wochenschr* 2010;160(5-6):112-7.
12. Akrouf N, Sharshar T, Annane D. Mechanisms of brain signaling during sepsis. *Curr Neuroparmacol* 2009;7(4):296-301.
13. Hopkins SJ. Central nervous system recognition of peripheral inflammation: a neural, hormonal collaboration. *Acta Biomed* 2007;78 Suppl 1:231-47.
14. Zapata P, Larrain C, Reyes P, Fernandez R. Immunosenescence signalling by carotid body chemoreceptors. *Respir Physiol Neurobiol* 2011;178(3):370-4.
15. Fernandez R, Nardocci G, Simon F, Martin A, Becerra A, Rodriguez-Tirado C, Maisey KR, Acuna-Castillo C, Cortes PP. Lipopolysaccharide signaling in the carotid chemoreceptor pathway of rats with sepsis syndrome. *Respir Physiol Neurobiol* 2011;175(3):336-48.
16. Rudiger A, Stotz M, Singer M. Cellular processes in sepsis. *Swiss Med Wkly* 2008;138(43-44):629-34.
17. Liu SF, Malik AB. NF-kappa B activation as a pathological mechanism of septic shock and inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006;290(4):L622-L45.
18. Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES. The sympathetic nerve--an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacol Rev* 2000;52(4):595-638.
19. Bellinger DL, Millar BA, Perez S, Carter J, Wood C, ThyagaRajan S, Molinaro C, Lubahn C, Lorton D. Sympathetic modulation of immunity: relevance to disease. *Cell Immunol* 2008;252(1-2):27-56.
20. Szabo C, Hasko G, Zingarelli B, Nemeth ZH, Salzman AL, Kvetan V, Pastores SM, Vizi ES. Isoproterenol regulates tumour necrosis factor, interleukin-10, interleukin-6 and nitric oxide production and protects against the development of vascular hyporeactivity in endotoxaemia. *Immunology* 1997;90(1):95-100.
21. Grisanti LA, Evanson J, Marchus E, Jorissen H, Woster AP, DeKrey W, Sauter ER, Combs CK, Porter JE. Pro-inflammatory responses in human monocytes are beta1-adrenergic receptor subtype dependent. *Mol Immunol* 2010;47(6):1244-54.
22. Nakada TA, Russell JA, Boyd JH, Aguirre-Hernandez R, Thain KR, Thair SA, Nakada E, McConechy M, Walley KR. beta2-Adrenergic receptor gene polymorphism is associated with mortality in septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181(2):143-9.
23. Zhou M, Das P, Simms HH, Wang P. Gut-derived norepinephrine plays an important role in up-regulating IL-1beta and IL-10. *Biochim Biophys Acta* 2005;1740(3):446-52.
24. Zhang F, Wu R, Qiang X, Zhou M, Wang P. Antagonism of alpha2A-adrenoceptor: a novel approach to inhibit inflammatory responses in sepsis. *J Mol Med (Berl)* 2010;88(3):289-96.
25. Miksa M, Wu R, Zhou M, Wang P. Sympathetic excitotoxicity in sepsis: pro-inflammatory priming of macrophages by norepinephrine. *Front Biosci* 2005;10:2217-29.
26. Yang S, Koo DJ, Zhou M, Chaudry IH, Wang P. Gut-derived norepinephrine plays a critical role in producing hepatocellular dysfunction during early sepsis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000;279(6):G1274-81.
27. Yang S, Zhou M, Chaudry IH, Wang P. Norepinephrine-induced hepatocellular dysfunction in early sepsis is mediated by activation of alpha2-adrenoceptors. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;281(4):G1014-21.
28. Cavallion JM, Annane D. Compartmentalization of the inflammatory response in sepsis and SIRS. *J Endotoxin Res* 2006;12(3):151-70.
29. Kavelaars A, van de Pol M, Zijlstra J, Heijnen CJ. Beta 2-adrenergic activation enhances interleukin-8 production by human monocytes. *J Neuroimmunol* 1997;77(2):211-6.
30. Takahashi H, Kobayashi M, Tsuda Y, Herndon DN, Suzuki F. Contribution of the sympathetic nervous system on the burn-associated impairment of CCL3 production. *Cytokine* 2005;29(5):208-14.
31. Kindt T GR, Osborne B. Kuby Immunology 6th edition: WH Freeman and Co; 2007.
32. Manni M, Granstein RD, Maestroni G. beta2-Adrenergic agonists bias TLR-2 and NOD2 activated dendritic cells towards inducing an IL-17 immune response. *Cytokine* 2011;55(3):380-6.
33. Deng J, Muthu K, Gamelli R, Shankar R, Jones SB. Adrenergic modulation of splenic macrophage cytokine release in polymicrobial sepsis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004;287(3):C730-6.
34. Suberville S, Bellocq A, Fouqueray B, Philippe C, Lantz O, Perez J, Baud L. Regulation of interleukin-10 production by beta-adrenergic agonists. *Eur J Immunol* 1996;26(11):2601-5.
35. Sriskandan S, Altmann DM. The immunology of sepsis. *J Pathol* 2008;214(2):211-23.
36. Freestone PP, Williams PH, Haigh RD, Maggs AF, Neal CP, Lyte M. Growth stimulation of intestinal commensal *Escherichia coli* by catecholamines: a possible contributory factor in trauma-induced sepsis. *Shock* 2002;18(5):465-70.
37. Straub RH, Pongratz G, Weidner C, Linde HJ, Kirschning CJ, Gluck T, Scholmerich J, Falk W. Ablation of the sympathetic nervous system decreases gram-negative and increases gram-positive bacterial dissemination: key roles for tumor necrosis factor/phagocytes and interleukin-4/lymphocytes. *J Infect Dis* 2005;192(4):560-72.
38. Link A, Selejan S, Maack C, Lenz M, Bohm M. Phosphodiesterase 4 inhibition but not beta-adrenergic stimulation suppresses tumor necrosis factor-alpha release in peripheral blood mononuclear cells in septic shock. *Crit Care* 2008;12(6):R159.
39. Pavlov VA, Ochani M, Gallowitsch-Puerta M, Ochani K, Huston JM, Czura CJ, Al-Abed Y, Tracey KJ. Central muscarinic cholinergic regulation of the systemic inflammatory response during endotoxemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(13):5219-23.
40. Wang H, Yu M, Ochani M, Amella CA, Tanovic M, Susarla S, Li JH, Yang H, Ulloa L, Al-Abed Y, Czura CJ, Tracey KJ. Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature* 2003;421(6921):384-8.
41. Rosas-Ballina M, Tracey KJ. Cholinergic control of inflammation. *J Intern Med* 2009;265(6):663-79.
42. Pavlov VA, Parrish WR, Rosas-Ballina M, Ochani M, Puerta M, Ochani K, Chavan S, Al-Abed Y, Tracey KJ. Brain acetylcholinesterase activity controls systemic cytokine levels through the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Brain Behav Immun* 2009;23(1):41-5.
43. Huston JM, Ochani M, Rosas-Ballina M, Liao H, Ochani K, Pavlov VA, Gallowitsch-Puerta M, Ashok M, Czura CJ, Foxwell B, Tracey KJ, Ulloa L. Splenectomy inactivates the cholinergic anti-inflammatory pathway during lethal endotoxemia and polymicrobial sepsis. *J Exp Med* 2006;203(7):1623-8.
44. Rosas-Ballina M, Ochani M, Parrish WR, Ochani K, Harris YT, Huston JM, Chavan S, Tracey KJ. Splenic nerve is required for cholinergic anti-inflammatory pathway control of TNF in endotoxemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105(31):11008-13.
45. Vida G, Pena G, Deitch EA, Ulloa L. alpha7-cholinergic receptor mediates vagal induction of splenic norepinephrine. *J Immunol* 2011;186(7):4340-6.
46. Vida G, Pena G, Kanashiro A, Thompson-Bonilla Mdel R, Palange D, Deitch EA, Ulloa L. beta2-Adrenoreceptors of regulatory lymphocytes are essential for vagal neuromodulation of the innate immune system. *Faseb J* 2011;25(12):4476-85.
47. Rosas-Ballina M, Olofsson PS, Ochani M, Valdes-Ferrer SI, Levine YA, Reardon C, Tusche MW, Pavlov VA, Andersson U, Chavan S, Mak TW, Tracey KJ. Acetylcholine-synthesizing T cells relay neural signals in a vagus nerve circuit. *Science* 2011;334(6052):98-101.

48. Pena G, Cai B, Ramos L, Vida G, Deitch EA, Ulloa L. Cholinergic regulatory lymphocytes re-establish neuromodulation of innate immune responses in sepsis. *J Immunol* 2011;187(2):718-25.
49. Giebelen IA, van Westerloo DJ, LaRosa GJ, de Vos AF, van der Poll T. Stimulation of alpha 7 cholinergic receptors inhibits lipopolysaccharide-induced neutrophil recruitment by a tumor necrosis factor alpha-independent mechanism. *Shock* 2007;27(4):443-7.
50. Saeed RW, Varma S, Peng-Nemeroff T, Sherry B, Balakhaneh D, Huston J, Tracey KJ, Al-Abed Y, Metz CN. Cholinergic stimulation blocks endothelial cell activation and leukocyte recruitment during inflammation. *J Exp Med* 2005;201(7):1113-23.
51. Bernard GR, Wheeler AP, Russell JA, Schein R, Summer WR, Steinberg KP, Fulkerson WJ, Wright PE, Christman BW, Dupont WD, Higgins SB, Swindell BB. The effects of ibuprofen on the physiology and survival of patients with sepsis. The Ibuprofen in Sepsis Study Group. *N Engl J Med* 1997;336(13):912-8.
52. Opal SM, Laterre PF, Francois B, LaRosa SP, Angus DC, Mira JP, Wittebole X, Dugernier T, Perrotin D, Tidswell M, Jauregui L, Krell K, Pachi J, Takahashi T, Peckelsen C, Cordasco E, Chang CS, Oeyen S, Aikawa N, Maruyama T, Schein R, Kalil AC, Van Nuffelen M, Lynn M, Rossignol DP, Gogate J, Roberts MB, Wheeler JL, Vincent JL, Group AS. Effect of eritoran, an antagonist of MD2-TLR4, on mortality in patients with severe sepsis: the ACCESS randomized trial. *JAMA* 2013;309(11):1154-62.
53. Abraham E, Wunderink R, Silverman H, Perl TM, Nasraway S, Levy H, Bone R, Wenzel RP, Balk R, Allred R, et al. Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor alpha in patients with sepsis syndrome. A randomized, controlled, double-blind, multicenter clinical trial. TNF-alpha MAb Sepsis Study Group. *JAMA* 1995;273(12):934-41.
54. Opal SM, Fisher CJ, Jr., Dhainaut JF, Vincent JL, Brase R, Lowry SF, Sadoff JC, Slotman GJ, Levy H, Balk RA, Shelly MP, Pribble JP, LaBrecque JF, Lookabaugh J, Donovan H, Dubin H, Baughman R, Norman J, DeMaria E, Matzel K, Abraham E, Seneff M. Confirmatory interleukin-1 receptor antagonist trial in severe sepsis: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. The Interleukin-1 Receptor Antagonist Sepsis Investigator Group. *Crit Care Med* 1997;25(7):1115-24.
55. Minneci PC, Deans KJ, Natanson C. Corticosteroid therapy for severe sepsis and septic shock. *JAMA* 2009;302(15):1643; author reply 4-5.
56. Lang CH, Nystrom G, Frost RA. Beta-adrenergic blockade exacerbates sepsis-induced changes in tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in skeletal muscle and is associated with impaired translation initiation. *J Trauma* 2008;64(2):477-86.
57. Mori K, Morisaki H, Yajima S, Suzuki T, Ishikawa A, Nakamura N, Innami Y, Takeda J. Beta-1 blocker improves survival of septic rats through preservation of gut barrier function. *Intensive Care Med* 2011;37(11):1849-56.
58. Macchia A, Romero M, Comignani PD, Mariani J, D'Ettorre A, Prini N, Santopinto M, Tognoni G. Previous prescription of beta-blockers is associated with reduced mortality among patients hospitalized in intensive care units for sepsis. *Crit Care Med* 2012;40(10):2768-72.
59. Tracey KJ. Reflex control of immunity. *Nat Rev Immunol* 2009;9(6):418-28.
60. Tang CH, Chan GS, Middleton PM, Savkin AV, Lovell NH. Spectral analysis of heart period and pulse transit time derived from electrocardiogram and photoplethysmogram in sepsis patients. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2009;2009:1781-4.
61. Pancoto JA, Correa PB, Oliveira-Pelegrin GR, Rocha MJ. Autonomic dysfunction in experimental sepsis induced by cecal ligation and puncture. *Auton Neurosci* 2008;138(1-2):57-63.

CORRESPONDÊNCIA:

PAULO ANDRADEFACULDADE DE MEDICINA, UNIVERSIDADE DO PORTO. 4200-319, PORTO.
JOAO_C_GONCALVES@HOTMAIL.COM