

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**“ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS E
INFLAMATÓRIOS DA INJEÇÃO INTRAPERITONEAL DE
LIPOPOLISSACARÍDEO (LPS) EM EQÜINOS: EFEITOS
DA LIDOCAÍNA”**

**Juliana Regina Peiró
Prof. Dr. Carlos Augusto Araújo Valadão**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias do Câmpus de
Jaboticabal – UNESP, para obtenção do
Título de Doutor em Cirurgia Veterinária
– Área de Concentração em Cirurgia
Veterinária.

Jaboticabal – São Paulo – Brasil

2002

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**“ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS E
INFLAMATÓRIOS DA INJEÇÃO INTRAPERITONEAL DE
LIPOPOLISSACARÍDEO (LPS) EM EQÜINOS: EFEITOS
DA LIDOCAÍNA”**

**Juliana Regina Peiró
Prof. Dr. Carlos Augusto Araújo Valadão**

Jaboticabal – São Paulo – Brasil
2002

Peiró, Juliana Regina
P377a Aspectos clínico-laboratoriais e inflamatórios da injeção
intraperitoneal de lipopolissacarídeo (LPS) em eqüinos : Efeitos da
lidocaína / Juliana Regina Peiró. -- Jaboticabal, 2002
xiii, 74 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2002
Orientador: Carlos Augusto Araújo Valadão
Banca examinadora: Aureo Evangelista Santana, Gervásio
Henrique Bechara, Raimundo Souza Lopes, Fernando de Queiroz
Cunha
Bibliografia

1. Eqüinos-endotoxemia. 2. Lidocaína. 3. Líquido peritoneal. I.
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.38:636.1

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da
Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JULIANA REGINA PEIRÓ, nascida em Araraquara em 02 de Abril de 1968, SP, é Médica Veterinária formada pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Câmpus de Jaboticabal, em janeiro de 1993. Participou do Programa de Aprimoramento em Medicina Veterinária da Fundação do Desenvolvimento Administrativo (FUNDAP), área de Clínica Cirúrgica de Grandes Animais de fevereiro de 1994 a fevereiro de 1996. Ingressou no Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária, Área de Concentração em Cirurgia Veterinária em março de 1996 e obteve o Título de Mestre em outubro de 1997 com a dissertação intitulada: “Endotoxemia experimental em eqüinos: avaliação clínico-laboratorial”. É professora de Clínica Cirúrgica de Grandes Animais no Curso de Medicina Veterinária – Câmpus de Araçatuba, de abril de 1998 até a presente data.

**AOS MEUS PAIS
ODILA
E JOSÉ (*IN MEMORIAN*)
OFEREÇO**

**A LUIZ CLAUDIO,
POR TODOS ESTES ANOS DE CARINHO,
CUMPLICIDADE, PROTEÇÃO E COMPREENSÃO
DEDICO**

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	v
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA.....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
2.1 Animais.....	15
2.2 Equipamentos.....	15
2.3 Delineamento Experimental.....	15
2.3.1 Indução da Endotoxemia (IE).....	15
2.3.2 Colheita de Líquido Peritoneal.....	16
2.3.3 Colheita do Sangue.....	17
2.3.4 Mensuração do Tnf-Alfa Sérico e Peritoneal.....	17
2.3.5 Avaliação Clínica.....	18
2.3.6 Análise Estatística.....	18
3. RESULTADOS.....	19
4. DISCUSSÃO.....	48
5. CONCLUSÕES.....	58
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1. Valores médios de temperatura retal (°C) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	22
2. Valores médios de freqüência cardíaca (batimentos/minuto) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	23
3. Valores médios de freqüência respiratória (movimentos/minuto) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	24
4. Valores médios da pressão arterial média (mmHg) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	25
5. Valores médios de leucócitos totais ($n \times 10^3$)/ μ L obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	26
6. Valores médios de neutrófilos segmentados ($n \times 10^3$)/ μ L obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	27
7. Valores médios de neutrófilos bastonetes ($n \times 10^3$)/ μ L obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	28

Tabela	Página
8. Valores médios de basófilos ($n \times 10^3$)/ μL obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	29
9. Valores médios de eosinófilos ($n \times 10^3$)/ μL obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	30
10. Valores médios de linfócitos ($n \times 10^3$)/ μL obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	31
11. Valores médios de monócitos ($n \times 10^3$)/ μL obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	32
12. Valores médios de hemácias ($n \times 10^6$)/ μL obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	33
13. Valores médios dos teores de hemoglobina (g/dL) obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	34
14. Valores médios de hematócrito (%) obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	35

Tabela	Página
15. Valores médios das concentrações de proteínas totais plasmáticas (g/dL) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	36
16. Valores médios da taxa de glicose plasmática (mg/dL) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	37
17. Valores médios do número de células nucleadas peritoneais ($n \times 10^3$)/ μ L obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	38
18. Valores médios do número de polimorfonucleares peritoneais ($n \times 10^3$)/ μ L obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	39
19. Valores médios do número de monócitos-macrófagos peritoneais ($n \times 10^3$)/ μ L obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	40
20. Valores médios da taxa de glicose peritoneal (mg/dL) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	41
21. Valores médios das concentrações das proteínas totais peritoneais (g/dL) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	42

Tabela	Página
22. Valores médios da taxa de fibrinogênio peritoneal (mg/dL) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	43
23. Valores médios da atividade da creatina quinase peritoneal (UI) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	44
24. Valores médios da atividade da fosfatase alcalina peritoneal (UI) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	45
25. Valores médios de TNF- α sérico (ng/mL) anotados nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 240 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	46
26. Valores médios de TNF- α encontrados no líquido peritoneal (ng/mL) anotados nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 240 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i>	47

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Variações da temperatura retal média (°C), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	22
2. Variações da frequência cardíaca (batimentos/minuto) média, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	23
3. Variações da frequência respiratória (movimentos/minuto) média, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	24
4. Variações da pressão arterial (mmHg) média, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	25
5. Variações do número médio de leucócitos totais ($n \times 10^3$)/ μ L, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	26
6. Variações do número médio de neutrófilos segmentados ($n \times 10^3$)/ μ L, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	27
7. Variações do número médio de neutrófilos bastonetes ($n \times 10^3$)/ μ L, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	28
8. Variações do número médio de basófilos ($n \times 10^3$)/ μ L, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	29
9. Variações do número médio de eosinófilos ($n \times 10^3$)/ μ L, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	30
10. Variações do número médio de linfócitos ($n \times 10^3$)/ μ L, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	31

Figura	Página
11. Variações do número médio de monócitos ($n \times 10^3$)/ μL , ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	32
12. Variações do número médio de hemácias ($n \times 10^6$)/ μL , ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	33
13. Variações dos teores médios de hemoglobina (g/dL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	34
14. Variações dos valores médios do hematócrito (%), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	35
15. Variações dos valores médios das concentrações de proteínas totais plasmáticas (g/dL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	36
16. Variações da taxa média da glicose plasmática (mg/dL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	37
17. Variações do número médio de células nucleadas peritoneais ($n \times 10^3$)/ μL , ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	38
18. Variações do número médio de polimorfonucleares peritoneais ($n \times 10^3$)/ μL , ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	39
19. Variações do número médio de monócitos-macrófagos peritoneais ($n \times 10^3$)/ μL , ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	40
20. Variações da taxa média de glicose peritoneal (mg/dL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	41

Figura	Página
21. Variações dos valores médios das concentrações de proteínas totais peritoneais (g/dL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	42
22. Variações da taxa média de fibrinogênio peritoneal (mg/dL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	43
23. Variações da atividade da creatina quinase peritoneal (UI), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	44
24. Variações da atividade da fosfatase alcalina peritoneal (UI), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	45
25. Variações dos valores médios de TNF- α sérico (ng/mL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	46
26. Variações dos valores médios de TNF- α encontrados no líquido peritoneal (ng/mL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de <i>E. coli</i> em eqüinos.....	47

“ASPECTOS CLÍNICO-LABORATORIAIS E INFLAMATÓRIOS DA INJEÇÃO INTRAPERITONEAL DE LIPOPOLISSACARÍDEO (LPS) EM EQÜINOS: EFEITOS DA LIDOCAÍNA” - RESUMO

A endotoxemia é a maior causa de mortalidade em eqüinos. O desencadeamento da endotoxemia clínica nos eqüinos é freqüente em decorrência da elevada sensibilidade desta espécie aos lipopolissacarídeos (LPS) da membrana externa de bactérias Gram-negativas liberados para a circulação durante o processo de choque séptico. Em resposta a esta agressão, o organismo libera substâncias pró-inflamatórias, as citocinas, na corrente circulatória. Dentre estas, o fator de necrose tumoral (TNF) tem sido implicado como a principal citocina no desencadeamento do quadro endotoxêmico dos eqüinos, sendo encontrados níveis elevados desta citocina, tanto séricos como peritoneais, em eqüinos com cólica. Os anestésicos locais, com o grupamento amídico em sua estrutura molecular, têm exibido ação inibitória sobre a resposta inflamatória por bloqueio da resposta funcional da atividade dos polimorfonucleares na liberação das citocinas. A lidocaína tem sido utilizada com sucesso, como anestésico local, na prevenção da vasoconstrição mesentérica durante o choque endotóxico em cães, assegurando proteção a esta agressão e demonstrando ser efetiva no tratamento de processos inflamatórios localizados no intestino delgado quando aplicada topicamente na serosa, ou na forma de “bolus” seguida de infusão contínua para o tratamento do ileus adinâmico. O principal objetivo deste ensaio foi estudar os efeitos da infusão contínua de lidocaína, sobre a resposta clínica, laboratorial e na resposta inflamatória, avaliados através da produção do TNF alfa, antes e após a injeção intraperitoneal de LPS em eqüinos, e avaliar a segurança desta dose de lidocaína neste modelo experimental. Com base nos achados clínicos e laboratoriais deste estudo, concluiu-se que a utilização da lidocaína após a administração do LPS foi mais efetiva na inibição da produção do TNF- α , muito embora não tenha impedido o aumento do número de células inflamatórias no líquido peritoneal.

Palavras-Chave: endotoxemia, lidocaína, TNF- α , líquido peritoneal, eqüinos.

**“CLINICAL, LABORATORY AND INFLAMMATORY ASPECTS OF THE
INTRAPERITONEAL INJECTION OF LIPOPOLYSACCHARIDE (LPS) IN HORSES:
EFFECTS OF LIDOCAINE” – ABSTRACT**

Endotoxemia is the major cause of mortality in horses. The onset of signs of endotoxemia in horses occurs frequently due to their sensitivity to the release of lipopolysaccharides (LPS) of the outer membranes of gram negative bacteria during the septic shock. In response, the host releases proinflammatory cytokines into the bloodstream. Tumor necrosis factor- α is an important cytokine released during the onset of endotoxemia and increased levels of TNF can be found in peritoneal fluid as in serum of colicky horses. Amide local anaesthetics have shown to inhibit polymorphonuclear release of cytokines. Lidocaine has also been shown to be an effective method for treating small intestine inflammatory conditions when injected as an intravenous “bolus” followed by continuous infusion or acting as a prokinetic drug during postoperative ileus.

The main goal of this study was to evaluate the effects of lidocaine continuous infusion on clinical, laboratory responses and inflammatory response, in terms of TNF- α activity, before and after intraperitoneal injection of lipopolysaccharides in horses. Based on the clinical and laboratory findings in this study, we concluded that lidocaine administered after LPS was more effective in inhibiting TNF- α activity, although it was not able to avoid the increasing of inflammatory cells in the peritoneal fluid.

Keywords: endotoxemia, lidocaine, TNF- α , peritoneal fluid, horses.

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

A endotoxemia é a maior causa de mortalidade em eqüinos (MORRIS et al., 1990; MOORE, 2001). Vários autores têm utilizado os termos endotoxina e lipopolissacarídeo (LPS) como sinônimos; contudo, é extremamente importante reconhecer que estes dois produtos bacterianos podem ser significativamente diferentes, em relação à composição química e à atividade biológica, que varia de acordo com o método de extração (MORRISON e ULEVITCH, 1978). A fração lipopolissacarídica refere-se ao glicolípido purificado, enquanto que a endotoxina contém pequenas quantidades de proteínas da membrana celular, lipídios, lipoproteínas e polissacarídeos associados ao lipopolissacarídeo (FINK e HEARD, 1990). Assim, estes dois termos também serão utilizados como sinônimos neste trabalho.

As endotoxinas, oriundas da membrana externa de bactérias Gram-negativas, são compostas por uma cadeia lateral de polissacarídeos relativamente constantes entre enterobacteriáceas, um oligossacarídeo central que confere antigenicidade específica e pelo lipídio A, conhecido como o componente tóxico da molécula de endotoxina (BURROWS, 1981; SEARLE, 1989; HENRY e MOORE, 1990; MacKAY et al., 1991; ASTIZ et al., 1993; ASTIZ et al., 1995; COLLATOS, 1995; MOORE et al., 1995; OLSON et al., 1995; BARTON, 1998; MOORE e BARTON, 1998). Embora a endotoxina permaneça intimamente associada à membrana externa na bactéria viva, ela é liberada quando ocorre replicação bacteriana rápida, lise ou morte do microrganismo (MOORE et al., 1981; HENRY e MOORE, 1990; OLSON et al., 1995; SHUSTER et al., 1997).

As endotoxinas têm sido implicadas como o componente principal do choque séptico/endotóxico (OCHALSKI et al., 1993; ASTIZ et al., 1994; STEVERINK et al., 1994; ASTIZ et al., 1995) ou do choque circulatório (ASTIZ et al., 1995; MOORE, 1995; OPAL e YU Jr, 1998). A endotoxina é uma molécula que estimula o sistema imune do hospedeiro vertebrado na presença de bactérias Gram-negativas invasoras no organismo, ativando as defesas imunes inata e adaptativa num esforço para eliminar o patógeno microbiano. Este mecanismo de defesa fisiológico evoluiu como uma estratégia de sobrevivência para localizar, conter e erradicar os patógenos bacterianos

invasores. Infelizmente, algumas das respostas imunológicas às endotoxinas que servem para proteger o hospedeiro em infecções bacterianas podem precipitar um processo inflamatório sistêmico generalizado e potencialmente fatal na presença de infecção causada por organismos Gram-negativos na corrente circulatória (OPAL e YU Jr, 1998).

A endotoxemia e a septicemia por Gram-negativos são quadros clínicos importantes em suínos, ruminantes, cães, gatos e em humanos. Na verdade, o aparecimento da endotoxina na circulação parece ser o fator desencadeante do choque séptico clínico durante a endotoxemia/bacteremia. Na fisiopatologia da endotoxemia e do choque séptico, os mecanismos bioquímicos, celulares e humorais envolvidos na deterioração da função cardiovascular não estão bem compreendidos (OLSON et al., 1995). Acredita-se que a endotoxina induz a ativação de numerosos mecanismos de defesa do hospedeiro levando à inflamação tecidual excessiva, à disfunção e falha generalizada dos órgãos, incluindo colapso cardiovascular, falência renal aguda e íleo adinâmico (BEUTLER et al., 1986; HENRY e MOORE, 1990; SEETHANATHAN et al., 1990; MOORE et al., 1995; OLSON et al., 1995; OPAL e YU Jr, 1998).

Nos estágios iniciais do choque séptico e da endotoxemia/bacteremia experimental, ocorre ativação das células mononucleares fagocitárias. Além disso, neutrófilos e plaquetas são seqüestrados na microcirculação, onde podem contribuir para a injúria vascular em associação com as células endoteliais, macrófagos e monócitos circulantes (OLSON et al., 1995; MORRESEY, 2001). Ocorrem, ainda, a produção de citocinas pró-inflamatórias e a ativação do sistema complemento, da cascata da coagulação extrínseca e do sistema fibrinolítico, do fator ativador de plaquetas (PAF), das cininas, das prostaglandinas e leucotrienos, de espécies reativas de oxigênio, do óxido nítrico e, provavelmente, de outros mediadores ainda não determinados (OPAL e YU Jr, 1998).

Existem diferenças marcantes entre espécies tanto na sensibilidade à endotoxina quanto na dose requerida para se obter 100% de letalidade (DL_{100}). Os suínos e ruminantes são extremamente sensíveis à endotoxina, uma vez que doses baixas de LPS ($< 5\mu\text{g/kg}$) induzem efeitos marcantes sobre o sistema cardiovascular, particularmente na circulação pulmonar. Kenison et al. (1991) e Olson et al. (1988)

citados por Olson et al. (1995) acreditam que estes efeitos podem estar relacionados à presença de macrófagos intravasculares, localizados na circulação pulmonar em suínos, ruminantes e eqüinos.

Os efeitos cardiovasculares da endotoxemia em gatos, coelhos e pôneis também são marcantes; contudo, não tão dramáticos quanto aqueles verificados em suínos e ruminantes (HARDIE e KRUSE-ELLIOT, 1990; CULLOR, 1992; BOURY et al., 1997). Deve-se mencionar, contudo, que a infusão de doses baixas de endotoxina (0,03-0,10 µg/kg) em cavalos é suficiente para induzir hipertensão pulmonar moderada e diminuir significativamente o fluxo sangüíneo para o tecido intestinal, sem induzir hipotensão arterial sistêmica e choque (CLARK e MOORE, 1989; CLARK et al., 1991; MOORE e MORRIS, 1992; BAXTER, 1995). Contrariamente, Burrows (1981), King e Gerring (1988), Bochsler et al. (1992), MacKay et al. (1991) e Moore et al. (1995) descreveram uma sensibilidade maior dos eqüinos aos efeitos do LPS administrado parenteralmente, mesmo em doses baixas, e é provável que a endotoxina exerça um papel principal na patogenia de um grande número de doenças nessa espécie.

As endotoxinas são freqüentemente detectadas em alta concentração no líquido peritoneal de eqüinos com doença gastrointestinal aguda e no sangue de potros septicêmicos (KING e GERRING, 1988; BARTON et al., 1993; COLLATOS et al., 1994; COLLATOS et al., 1995), devido a alterações na barreira mucosa intestinal, a qual constitui a defesa primária contra a absorção de endotoxina, iniciadas por pequenos desequilíbrios no ciclo de fermentação colônica, facilitando a passagem de endotoxinas do lúmen intestinal para a corrente circulatória (CUEVAS e FINE, 1972; KING e GERRING, 1988; COLLATOS, 1995; MOORE, 1995).

Quando a permeabilidade do intestino inflamado ou isquêmico está aumentada, a endotoxina liberada induz a síntese de muitos mediadores inflamatórios pelas células do hospedeiro, as quais, por sua vez, medeiam a patogênese da endotoxemia (MORRIS e MOORE, 1989; SEETHANATHAN et al., 1990; MORRISON et al., 1994; MOORE, 1995; MOORE et al., 1995; ROBERTS, 1995; BARTON et al., 1996; PEIRÓ, 1997; BARTON e COLLATOS, 1999; MORRESEY, 2001).

As concentrações de endotoxina no sangue e no líquido peritoneal de cavalos com doenças gastrointestinais agudas e no sangue de potros septicêmicos, mensuradas

por King e Gerring (1988) e Collatos et al. (1995), mostraram indícios da passagem da endotoxina do lúmen intestinal para o líquido peritoneal, e sua drenagem para a circulação sistêmica através dos vasos linfáticos da cavidade abdominal (OLOFSSON et al., 1986; COLLATOS, 1995; MOORE e BARTON, 1998).

O lipopolissacarídeo interage com o receptor CD14, presente em monócitos/macrófagos e neutrófilos. A proteína ligante de LPS (LBP), uma proteína sérica de fase aguda, facilita a transferência do LPS para o receptor CD14 (FENTON e GOLENBOCK, 1998) ou auxilia na remoção do LPS da circulação. Nas populações celulares que não expressam CD14, como as células endoteliais, os receptores CD14 solúveis (sCD14) atuam como ponte para o reconhecimento de superfície do complexo LPS-LBP. A molécula que reconhece o complexo de LPS-LBP-sCD14 ainda não foi identificada em células CD14⁺. O receptor CD14 não possui uma porção citoplasmática; tem-se demonstrado que um receptor “toll-like” 4 é o responsável para a transdução do sinal do complexo LPS-CD14 para o interior da célula (AKIRA, 2000; BARTON, 2000; KRUTZIK et al., 2001; MOORE, 2001). Os receptores “toll-like” representam uma família conservada de receptores para o reconhecimento da resposta imune inata. Estes receptores estão associados com a via de sinalização, resultando na ativação de genes que medeiam a resposta imune inata (MEANS et al., 2000). Concentrações baixas de LPS requerem CD14 para a ativação celular; contudo, uma alta concentração de LPS pode estimular as células via independente do receptor CD14. O mecanismo da via de sinalização independente do CD14 ainda é desconhecido, contudo acredita-se que os receptores “toll-like” estejam envolvidos (MOORE, 2001; MORRESEY, 2001).

Vários mediadores derivados das células do hospedeiro são responsáveis para a maioria das manifestações da endotoxemia. As citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 e INF- γ , possuem um papel importante nas respostas inflamatórias (HACK et al., 1997). Algumas quimiocinas estão envolvidas no desenvolvimento da lesão tecidual induzida pelo LPS. Vários mediadores lipídicos como o PAF, prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, que exercem efeitos importantes durante a endotoxemia, assim como o óxido nítrico (NO), responsável por várias outras respostas além da hipotensão, têm sido muito estudados recentemente. (MOORE, 2001; MORRESEY, 2001).

Pesquisas e dados clínicos sugerem que uma citocina produzida por monócitos/macrófagos, o fator de necrose tumoral (TNF), ou caquexina (CARSWELL et al. 1975 citado por FLICK e GIFFORD, 1984), seja um mediador inicial importante nas respostas biológicas às endotoxinas (MORRIS et al., 1991; CARGILE et al., 1995a; MOORE et al., 1995). Embora o TNF- α seja predominantemente secretado por monócitos/macrófagos e células T e B, ele também é produzido por várias outras células. O TNF- α é o regulador central das interações entre as citocinas. O RNAm constitutivo para TNF- α é expresso em vários tecidos com um aumento mínimo durante a endotoxemia (GIROIR, 1993).

Uma vez liberado para os tecidos ou para a circulação, o fator de necrose tumoral medeia uma gama diversa de efeitos inflamatórios e metabólicos, incluindo-se a ativação, a aderência ao endotélio e a degranulação de neutrófilos, a indução de febre, o aumento da síntese das catecolaminas, a expressão de antígenos da superfície das células endoteliais e aumento da atividade pró-coagulante resultando em microtrombose, extravasamento capilar e necrose hemorrágica em órgãos vitais (HARDIE e KRUSE-ELLIOT, 1990; MOORE, 1995; BARTON et al., 1996; PEIRÓ, 1997; BARTON, 1998; BARTON e COLLATOS, 1999; MABIKA e LABURN, 1999; MORRESEY, 2001).

É importante ressaltar que o fator de necrose tumoral (TNF) tem sido implicado como a citocina primária envolvida na seqüência de eventos celulares e microvasculares da resposta inflamatória (SEETHANATHAN et al., 1990; MacKAY et al., 1991; MORRIS et al., 1991; MOORE, 1995), sendo encontrados níveis elevados desta citocina, tanto séricos como peritoneais, em eqüinos com cólica (MOORE et al., 1981; EDWARDS et al., 1991).

As concentrações séricas de TNF- α começam a aumentar 15 minutos após a indução da endotoxemia, alcançando um pico ao redor de 1-2h decrescendo progressivamente após 4 horas (HARDIE e KRUSE-ELLIOT, 1990; BAXTER, 1995; PEIRÓ, 1997; BARTON, 1998).

As células mononucleares fagocitárias quando expostas à endotoxina liberam IL-1, uma proteína que difere bioquímica e imunologicamente do TNF- α . O fator de necrose tumoral- α , por sua vez, promove a liberação de IL-1 pelos macrófagos, células

endoteliais e células sangüíneas. Inversamente, as células mononucleares estimuladas com IL-1 podem iniciar a liberação autócrina de IL-1 adicional, TNF- α e outras citocinas, resultando em uma amplificação e potenciação evidentes do sinal biológico da inflamação (SEETHANATHAN et al., 1990; OLSON et al., 1995; MORRESEY, 2001).

Os picos de IL-1 geralmente ocorrem aproximadamente 90 minutos após o pico do TNF- α (aproximadamente 3h do início do processo). Assim como o TNF- α , a IL-1 tem um espectro de atividade amplo e potente e pode induzir injúrias ao tecido do hospedeiro durante a sepse (SEETHANATHAN et al., 1990; OLSON et al., 1995).

Muitos dos efeitos flogísticos durante a endotoxemia são mediados através da liberação secundária de produtos do metabolismo do ácido aracdônico, um constituinte normal das membranas celulares, que é liberado pelas células lesadas do organismo através das vias ciclooxigenase e lipoxigenase, resultando na produção de eicosanóides (FLETCHER, 1993), uma família de ácidos graxos com 20 átomos de carbono, responsáveis pelas respostas celular e sistêmica que contribuem para as manifestações da resposta inflamatória sistêmica (BULGER e MAIER, 2000). A via ciclooxigenase (COX) leva à formação de tromboxano A_2 , prostaglandinas E_2 , I_2 e $F_{2\alpha}$. O tromboxano A_2 e a $PGF_{2\alpha}$ causam vasoconstrição, enquanto que a PGE_2 promove uma vasodilatação devido ao aumento de AMPc no interior das células da musculatura lisa vascular (MOORE e MORRIS, 1992). A enzima COX ocorre em duas formas: COX-1 e COX-2. A COX-1 é a enzima constitutiva responsável por muitas funções fisiológicas. O gene para a COX-2, contudo, é altamente induzido sob condições inflamatórias. A via lipoxigenase (LOX) resulta na formação dos leucotrienos B_4 , C_4 , D_4 e E_4 e de proteases (SEETHANATHAN et al., 1990; FLETCHER, 1993; MOORE, 1995; MOORE et al., 1995; OLSON et al., 1995). A maioria dos efeitos hemodinâmicos iniciais da endotoxemia são mediados pelos metabólitos do ácido aracdônico derivados da via COX (MOORE e MORRIS, 1992).

A endotoxemia estimula as células endoteliais a expressarem glicoproteínas (selectinas e integrinas) presentes na superfície de neutrófilos, promovendo a aderência de neutrófilos ao endotélio vascular (MEUER, 1994 citado por ZINKL e KABBUR, 1997). Uma vez aderidos, os neutrófilos marginados são ativados pela exposição a mediadores inflamatórios (TNF- α e LB_4). Os neutrófilos marginalizados ativados

lesionam os vasos tornando-os permeáveis pela descarga de seus grânulos e espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio tóxicas para o endotélio adjacente e membranas basais (MORRIS et al., 1990; MacKAY, 1992; CARGILE et al., 1995; TANIGUCHI et al., 1996; MORRESEY, 2001). Os neutrófilos ativados pela exposição aos mediadores da endotoxemia geralmente são descritos como tóxicos devido sua aparência (HARDIE e KRUSE-ELLIOT, 1990; MacKAY, 1992; LASSEN e SWARDSON, 1995).

A produção e a liberação de neutrófilos a partir da medula óssea são estimuladas pelos fatores estimuladores de colônias (CSF) e outros mediadores (neutropoietina). Assim, inicialmente ocorre leucopenia conseqüente a uma neutropenia seguida por leucocitose neutrofílica com desvio à esquerda do tipo regenerativo (WARD et al., 1987; MORRIS et al., 1990; MacKAY, 1992; COLLATOS, 1995; LASSEN e SWARDSON, 1995).

Paralelamente à resposta inflamatória, ocorre uma elevação dos níveis da glicose plasmática devido ao aumento da glicogenólise estimulada pelo aumento de catecolaminas circulantes (SPURLOCK et al., 1985) após 30 minutos de uma dose subletal de endotoxina. Uma vez depletados os estoques de glicogênio, os níveis plasmáticos de glicose retornam a valores normais ou subnormais. Esta tendência à hipoglicemia é mais evidente em potros neonatos com infecções bacterianas Gram-negativas. A hipoglicemia ocorre como resultado do grande aumento da utilização da glicose pelos tecidos, particularmente pelos leucócitos inflamatórios e músculos esqueléticos. Devido em grande parte da utilização da glicose pelos leucócitos ser via anaeróbica, desenvolve-se acidose láctica. O aumento da disponibilidade do ácido láctico associado ao aumento das concentrações plasmáticas dos hormônios do estresse (glucagon, catecolaminas e glicocorticóides) estimulam a gliconeogênese aumentando a disponibilidade da glicose (MacKAY, 1992).

Os sinais clínicos da endotoxemia experimental podem variar de febre sem mal estar evidente à falha múltipla de órgãos, dependendo da dose de LPS. Em um cavalo exposto a um “bolus” intravenoso de dose subletal de endotoxina (1µg/kg), há um período de taquipnéia discreta. Ao redor de uma hora, depressão, inquietação e inapetência manifestam-se gradualmente, verificando-se um aumento progressivo da temperatura corpórea ao final de 2 horas (MacKAY et al., 1991; MacKAY, 1992). Os

sons intestinais cessam abruptamente, podendo permanecer suprimidos por várias horas. Sinais intermitentes de cólica são observados e podem levar o animal ao decúbito, geralmente sem rolamento. O animal pode eliminar pequenas quantidades de fezes amolecidas, porém de aspecto não diarreico (HENRY e MOORE, 1990; MORRIS et al., 1990; MacKAY, 1991; MaCKAY, 1992; COLLATOS, 1995).

As freqüências cardíaca e respiratória aumentam rapidamente nas primeiras 4 a 6 horas após a injeção de LPS e podem apresentar um pico ao redor de 50% acima dos valores normais antes de começarem a declinar (MacKAY, 1992; PEIRÓ, 1997).

Até a primeira hora, segundo Henry e Moore (1990), as membranas mucosas visíveis estão pálidas e o pulso periférico é forte (fase de vasoconstrição periférica). Na fase hipotensiva da endotoxemia (inicia-se 1 hora após a injeção subletal de LPS), as membranas mucosas tornam-se progressivamente mais congestionadas, o tempo de preenchimento capilar está prolongado e uma linha escura pode tornar-se aparente ao redor das margens gengivais dos dentes (WILSON e GORDON, 1987). Evidências clínicas de desidratação, provavelmente, tornar-se-ão aparentes neste momento. Estes sinais de insuficiência circulatória, como também os sinais de depressão e mal estar, persistem por várias horas após a injeção, enquanto a temperatura retal pode permanecer elevada por mais de 18 horas (SMITH, 1978; MacKAY, 1992).

Os sinais de falha circulatória e transtornos homeostáticos dominam o quadro clínico em animais ambulatoriais ou experimentais com endotoxemia severa induzida por doses letais de LPS (100 µg/kg). Geralmente estes animais apresentam-se letárgicos e totalmente anoréxicos. À medida que o fluxo sangüíneo torna-se mais comprometido, a temperatura pode cair para valores normais a subnormais. Além das membranas mucosas congestionadas, escuras, outros sinais incluem pulsos periféricos fracos e rápidos, extremidades frias, sudorese e, ocasionalmente, fasciculações musculares e decúbito (MacKAY, 1992; COLLATOS, 1995).

Um sinal de prognóstico ruim é o desenvolvimento de hipercoagulabilidade, durante a qual a venopunção ou a colocação de cateter pode resultar em trombose ao longo das veias jugulares ou de outras veias superficiais (COLLATOS et al., 1995). Se os animais, moderada a gravemente, afetados sobrevivem por mais de 24 horas, geralmente observa-se edema visível do abdômen ventral e dos membros pélvicos. Os

sinais de laminite podem primeiro tornar-se evidentes nesta fase e podem progredir em gravidade mesmo quando os outros sinais sistêmicos de endotoxemia melhoram (SPROUSE et al., 1987; MacKAY, 1992; BAXTER, 1995; COLLATOS, 1995).

A avaliação físico-química e citológica do líquido peritoneal é um método auxiliar importante no diagnóstico de doenças abdominais agudas em eqüinos, tem sido bem documentada (HAMILTON e HARDENBROOK, 1973; BROWNLOW et al., 1981; BROWNLOW et al., 1982; TULLENERS, 1983; JUZWIAK et al., 1991; VALADÃO et al., 1996; PEIRÓ, 1997; GARMA-AVIÑA, 1998; MENDES et al., 1999; PEIRÓ et al., 1999) e geralmente é considerada uma técnica inócua. Porém, Tulleners (1983) descreveu complicações em quatro cavalos (laceração linear em uma alça estrangulada, perfuração do estômago, celulite e áreas de abscedação no abdômen e perfuração de alça com formação de abscesso na linha branca). Da mesma forma, Swanwick e Wilkinson (1976) relatam apenas dois acidentes (perfuração de alça) em 100 coletas realizadas. A perfuração acidental de um segmento de alça não distendido e saudável, provavelmente, é inconseqüente, pois o pequeno orifício é selado rapidamente. Contudo, o extravasamento de conteúdo e conseqüente peritonite podem ocorrer se a víscera estiver muito distendida e desvitalizada (TULLENERS, 1983; JUZWIAK et al., 1991).

A resposta inicial à inflamação intra-abdominal ou à oclusão vascular mesentérica é o extravasamento de proteínas do plasma para o líquido peritoneal. Em condições normais, o líquido peritoneal é amarelo-palha, transparente e contém menos de 2,5 g/dL de proteínas, e pouco mais de 5000 células nucleadas/ μ L. O líquido peritoneal torna-se turvo quando o número de células nucleadas e a taxa de proteínas aumentam (RICKETTS, 1983; WILSON e GORDON, 1987; SPIER e SNYDER, 1992; MENDES et al., 1999; PEIRÓ, 1997). Nelson (1979) e Garma-Aviña (1998) sugeriram que qualquer valor de proteína total acima de 1,5 g/dL indicaria alterações no líquido peritoneal. Milne et al. (1990) recomendam taxas de 0,63 a 1,13 g/dL como valores normais para proteína total no líquido peritoneal, enquanto valores inferiores a 2,5 g/dL não descartariam a presença de um processo inflamatório.

Por sua vez, concentrações de fibrinogênio superiores a 100 mg/dL, no líquido peritoneal, são indicadoras de um processo inflamatório agudo ou contaminação por

sangue (WILSON e GORDON, 1987). A lesão vascular progressiva faz com que as hemácias sejam extravasadas para a cavidade peritoneal e, conseqüentemente, aumente a migração de leucócitos (VALADÃO et al., 1995).

As defesas celulares da cavidade peritoneal são providas principalmente pelos macrófagos peritoneais e pelas células mesoteliais (BOWMAN, 1990). Os macrófagos peritoneais possuem atividade antimicrobiana em conseqüência de seus receptores para o complemento, função fagocítica e participação nas respostas imunes dependentes das células T. Além disso, participam no processo de quimiotaxia de neutrófilos e indução da coagulação que ajudam no aprisionamento das bactérias. As células mesoteliais, uma fonte rica de ativadores do plasminogênio, são responsáveis pela atividade fibrinolítica normal na superfície do peritônio (BOWMAN, 1990).

A concentração das enzimas fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase e desidrogenase láctica quando aumentada no líquido peritoneal de cavalos reflete lesões em órgãos como o fígado, músculos e intestino (WITTEWER, 1988; MacKAY, 1992). Contudo, a importância clínica destas alterações na detecção da isquemia intestinal inicial é considerada limitada. As concentrações pareadas de glicose plasmática e peritoneal raramente são determinadas em casos de cólica. Entretanto, sua avaliação, combinada com a contagem total de células nucleadas e a mensuração das proteínas totais, podem fornecer informações importantes com relação ao grau de isquemia intestinal e estado cardiovascular (PARRY e BROWNLOW, 1992; PEIRÓ et al., 1999).

Dentre as respostas às injeções de LPS em baixas concentrações, a liberação de mediadores inflamatórios como o TNF- α , aliado a outros, parece ter um papel importante na lesão tecidual generalizada e no desenvolvimento do complexo choque-endotoxemia que pode levar o animal à morte (WARD et al., 1987; CARGILE et al., 1995a).

A fim de se obter um modelo experimental para a endotoxemia, vários pesquisadores vêm propondo diferentes doses e vias de administração de LPS em eqüídeos anestesiados ou conscientes (BURROWS, 1970; BURROWS e CANNON, 1970; BURROWS, 1971; BURROWS, 1979; MOORE et al., 1981; BOTTOMS et al., 1982; TEMPLETON et al., 1987; VALADÃO et al., 1995; MENDES et al., 1999; PEIRÓ, 1997; PEIRÓ et al., 1999; MENDES et al., 2000). Os modelos experimentais para

endotoxemia através da infusão intraperitoneal de LPS parecem estar relacionados mais intimamente com os problemas clínicos dos eqüinos do que a via intravenosa.

Assim, os objetivos do tratamento a ser instituído incluem a prevenção da passagem transmural de endotoxinas, a sua neutralização antes que esta interaja com as células inflamatórias, a prevenção da ativação celular induzida pela endotoxina, evitando a síntese, a liberação e a ação de mediadores inflamatórios. Os antiinflamatórios esteroidais e não-esteroidais (AINEs) têm sido utilizados para tratar tais reações inflamatórias; contudo, estes fármacos exibem efeitos colaterais evidentes mesmo quando utilizados em doses terapêuticas (SEMRAD et al., 1987; TEMPLETON et al., 1987; MacKAY et al., 1991; GIROIR, 1993; SINCLAIR et al., 1993; CUNNINGHAM e LEES, 1994; MORRESEY, 2001). Além disso, em alguns casos estas substâncias mascaram os sinais clínicos indicativos de endotoxemia, retardando a decisão para a cirurgia reduzindo a chance de sobrevivência do animal (MOORE, 1988). Altas doses de esteróides têm demonstrado aumentar a mortalidade quando comparados aos AINEs (ZENI et al., 1997 citado por MORRESEY, 2001).

Embora os mecanismos exatos ainda não tenham sido explicados (FISHER et al., 2001), dados recentes demonstram que os anestésicos locais amídicos possuem propriedades antiinflamatórias com poucos efeitos colaterais nas concentrações utilizadas na prática clínica (SINCLAIR et al., 1993). Bloqueiam a resposta neural e exercem efeitos antiinflamatórios nos quais inclui-se a inibição de várias respostas funcionais aos granulócitos polimorfonucleares, cujos possíveis mecanismos envolvem o antagonismo da ação das prostaglandinas na área inflamada, a inibição da migração e do metabolismo de leucócitos. Inclui-se, ainda, a inibição da liberação de enzimas lisossomais dos neutrófilos, da produção de espécies reativas de oxigênio (MacGREGOR et al., 1980; RIMBACK et al., 1988; RIMBACK et al., 1990; SASAGAWA, 1991; SINCLAIR et al., 1993; TANIGUCHI et al., 1996; HYVÖNEN e KOWOLIK, 1998; AZUMA et al., 2000) e da liberação de mediadores (PECK et al., 1985; CEDERHOLM et al., 1994; HATTORI et al., 1997; FISCHER et al., 2001), além de afetar linfócitos e macrófagos peritoneais (DICKSTEIN et al., 1985).

A lidocaína inibe a migração de leucócitos para o foco inflamatório (SCHREINER e HOPEN, 1979; MacGREGOR et al., 1980), como na peritonite e em feridas cirúrgicas.

Um mecanismo possível para a inibição da migração e do acúmulo de leucócitos pelos anestésicos locais poderia ser a redução da aderência dos leucócitos ao endotélio vascular *in vivo* e superfícies não-biológicas *in vitro* (SINCLAIR et al., 1993; SCHMIDT et al., 1997). Além disso, pesquisas têm demonstrado que a lidocaína atenua a produção de prostaglandinas (GOEL et al., 1994), leucotrienos (SINCLAIR et al., 1993) e tromboxanos (SCHREINER e HOPEN, 1979), diminuindo, também, a liberação de proteases pelos neutrófilos e macrófagos através da estabilização de membranas celulares (WACHTFOGEL et al., 1987).

A lidocaína tem sido utilizada com sucesso, como anestésico local, na prevenção da vasoconstrição mesentérica durante o choque endotóxico em cães, assegurando proteção a esta agressão (FLETCHER e RAMWELL, 1978). Demonstrou ser efetiva no tratamento de processos inflamatórios localizados no intestino delgado quando aplicada topicamente na serosa (NELLGÅRD et al., 1996), na forma de “bolus” seguida de infusão contínua para o tratamento do ileus adinâmico (MALONE et al., 1994; MALONE et al., 1998; MEYER e HANSON, 2000) ou durante a síndrome da angústia respiratória aguda (ARDS) (KIYONARI et al., 2000). Além disso, alguns pesquisadores têm investigado os efeitos imunomoduladores da lidocaína em doenças alérgicas (OHNISHI et al., 1996; OKADA et al., 1998; DECCO et al., 1999; WEDI et al., 2000).

Os efeitos inibitórios da lidocaína sobre leucócitos humanos *in vitro* têm sido bem documentados. Este fármaco reduz a liberação de mediadores inflamatórios quimiotáticos para leucócitos, como IL-1, leucotrieno B₄, ânion superóxido e enzimas lisossomais de leucócitos, além de inibir a aderência de neutrófilos normais ao endotélio (MacGREGOR et al., 1980; PECK et al., 1985; SINCLAIR et al., 1993). Evidências adicionais para mecanismos antiinflamatórios alternativos da lidocaína incluem a inibição da atividade das células “natural killer” (RENZI e GINNS, 1990) e a inibição das respostas de eosinófilos à interleucina-5 (BANKERS-FULBRIGHT et al., 1998; OKADA et al., 1998) ou inibição de outras citocinas pró-inflamatórias, como o fator estimulador de colônias de granulócitos (OHSAKA et al., 1994).

Devido as suas propriedades estabilizadoras de membranas, a lidocaína pode ser benéfica no tratamento do choque endotóxico (FETTMAN et al., 1984a). Os anestésicos locais são substâncias estabilizadoras de membrana que afetam o

polimorfismo lipídico, promovem a expansão da membrana, deslocam os íons Ca^{+2} dos sítios de ligação e diminuem os fluxos facilitados de solutos através das membranas celulares. A maior propriedade dos anestésicos locais, o bloqueio da condução nervosa, é refletida pela sua estrutura química. Alterações químicas dos anestésicos produzem alterações quantitativas nas suas propriedades fisicoquímicas, isto é, a solubilidade lipídica e a ligação a proteínas, as quais, por sua vez, alteram o perfil anestésico dos componentes (TAKMAN et al., 1974 citados por SASAGAWA, 1991). Os anestésicos locais agem sobre muitas células imunocompetentes, inibindo a transformação de linfócitos induzida por mitógenos (FERGUSON et al., 1976 citados por SASAGAWA, 1991; AZUMA et al., 2001).

O mecanismo pelo qual a lidocaína inibe a aderência de polimorfonucleares (PMN) permanece em aberto. Uma publicação recente demonstra que a lidocaína *in vitro* inibe a estimulação do CD11b/CD18 e a liberação do radical superóxido (O_2^-) pelos PMNs humanos (OSHAKA et al., 1994), sugerindo que a lidocaína pode interferir com a via de transdução do sinal pós-receptor. A lidocaína inibe os canais de sódio rápidos e lentos (JOSEPHSON, 1988 citado por SCHMID et al., 1996). Os eventos iniciais da ativação são semelhantes nas células endoteliais e leucócitos. Um aumento do Ca^{+2} citosólico livre tanto nos leucócitos quanto nas células endoteliais é um sinal inicial importante na aderência de leucócitos às células endoteliais. Nas células endoteliais ativadas, o aumento do Ca^{+2} citosólico livre tem uma função reguladora sobre a permeabilidade vascular, a aderência e a migração de PMNs. Nos monócitos, o aumento do Ca^{+2} citosólico regula a função de alta afinidade do CD11b/CD18. A lidocaína poderia ser efetiva na inibição dos sinais da ativação das células endoteliais como também dos PMNs (SCHMID et al., 1996)

A lidocaína tem sido amplamente utilizada na prática clínica, possui baixo custo e segurança alta. Um problema clínico potencial é a toxicidade da droga. Concentrações plasmáticas tóxicas de lidocaína (5 – 10 $\mu\text{g/mL}$) produzem vasodilatação periférica, depressão direta do miocárdio ou bradicardia com hipotensão. Efeitos colaterais da lidocaína no SNC também ocorrem de maneira dose-dependente, induzindo convulsões quando a concentração plasmática de lidocaína excede 5 $\mu\text{g/mL}$, observando-se

depressão do SNC, apnéia e parada cardíaca quando a concentração de lidocaína excede a 10 µg/mL (KIYONARI et al., 2000).

Em consequência do interesse pela utilização da infusão intravenosa contínua da lidocaína em eqüinos, várias questões têm sido levantadas com relação à dose sistêmica segura máxima que pode ser administrada e quais os efeitos produzidos quando esta dose for excedida. Segundo dados de literatura, existe uma ampla variação sobre os níveis séricos de lidocaína entre espécies que produzem sinais de intoxicação (MEYER et al., 2001). Além disso os dados para a espécie eqüina são escassos e as poucas informações publicadas foram extrapoladas de dados de cães (SKARDA, 1991). Em um estudo recente, Meyer et al. (2001) observaram algumas alterações comportamentais nos momentos finais da experimentação com infusão contínua de lidocaína, como alteração na função visual, movimentos rápidos porém intermitentes de piscar de olhos, ansiedade e tentativas de inspecionar mais de perto objetos. Um animal desenvolveu ataxia severa e decúbito esternal súbito momentos após o início do piscar de olhos, recuperando-se dez minutos após a interrupção da administração da lidocaína, sendo capaz de levantar-se e caminhar sem auxílio. Sete animais pareciam levemente sedados no tempo médio do estudo, enquanto outros dez não manifestaram alterações comportamentais. A recuperação rápida da sobredose de lidocaína é justificada pela curta meia-vida deste fármaco (40 minutos) no eqüino (ENGELKING et al., 1987).

Embora vários relatos descrevam a influência da lidocaína sobre a função de leucócitos *in vitro*, existe pouca informação sobre a resposta da lidocaína à endotoxina *in vivo*.

Assim, neste ensaio objetivou-se estudar os efeitos da infusão contínua de lidocaína, sobre a resposta clínica, laboratorial e na resposta inflamatória, antes e após a injeção intraperitoneal de LPS em eqüinos, medida através da produção do TNF-alfa, e avaliar a segurança desta dose de lidocaína neste modelo experimental.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais - Foram utilizados 18 cavalos machos, raça Mangalarga Paulista, com idade variando entre 2 e 3 anos. Os animais foram distribuídos em três grupos: GI (controle) e GII e GIII (experimentais). Todos receberam a mesma alimentação, água *ad libitum* e foram vermifugados com ivermectina. A contagem global e diferencial de células, a quantificação das concentrações da proteína total e do fibrinogênio do líquido peritoneal e hemograma completo foram determinados antes da realização do experimento para assegurar a uniformidade dos grupos. Somente animais com valores dentro dos limites normais para esta raça foram incluídos neste estudo.

2.2 Equipamentos - Para minimizar complicações potenciais induzidas pela sobredose de lidocaína, os parâmetros clínicos descritos no item “Avaliação clínica” foram monitorados. Para isso utilizou-se o sistema de diagnóstico programável modelo SDM - 2000 neo¹, composto de um canal para eletrocardiograma, respiração, dois canais para temperatura e dois canais para pressão invasiva.

Devido ao grande volume e a necessidade de precisão das doses de lidocaína e solução fisiológica a serem infundidos nos períodos propostos para diferentes tratamentos, foi utilizada uma bomba de infusão contínua para seringas com escala de 0,15 - 60 ml².

2.3 Delineamento Experimental

2.3.1 Indução da endotoxemia (IE) - A endotoxemia foi induzida em todos os grupos através de 500 ng/kg de endotoxina de *E. coli* 055:B5³ diluída em 50 ml de soro fisiológico, infundida durante 5 minutos, por uma cânula mamária estéril, introduzida na cavidade peritoneal, por punção da região paralombar direita, respeitando-se todas as normas de assepsia.

¹ DIXTAL Biomédica Ltda, São Paulo.

² SAGE – Thomas Scientific, Inglaterra.

³ Sigma, Estados Unidos.

2.3.1.1 Grupo I (controle) - Nos animais do grupo controle foi, inicialmente, administrada solução salina i.v., por um período de 5 minutos, em igual volume programado para a lidocaína a 2 %⁴ a ser administrado aos grupos experimentais. Subsequentemente, procedeu-se a injeção i.p. de endotoxina como descrita anteriormente (IE). Decorridos 20 minutos da aplicação da endotoxina, injetou-se em cada animal solução salina i.v., em igual volume calculado para a lidocaína a 2% no GIII (1,3 mg/kg), durante 5 minutos. Em seguida, infundiu-se salina em volume equivalente ao da lidocaína (0,05 ml/kg/min) nos grupos II e III, utilizando-se uma bomba de infusão para seringas, durante 6 horas.

2.3.1.2 Grupo II (experimental) – Inicialmente, os animais deste grupo receberam lidocaína i.v., na dose de 1,3 mg/kg, ao longo de 5 minutos. A seguir foi administrada uma injeção de endotoxina i.p. como descrito anteriormente (IE), aguardando-se 20 minutos para a administração da solução salina, em volume equivalente ao calculado para a lidocaína a 2% no GIII (1,3 mg/kg), durante 5 minutos. A seguir, procedeu-se à infusão contínua de lidocaína i.v., a uma taxa de 0,05 mg/kg/min durante 6 horas, através de uma bomba de infusão para seringas.

2.3.1.3 Grupo III (experimental) - Os animais deste grupo receberam solução salina i.v., em volume equivalente ao calculado para a lidocaína aplicada no GII (1,3 mg/kg), durante 5 minutos. Em seguida, administrou-se a endotoxina i.p. conforme descrito anteriormente (IE). Decorridos 20 minutos foi administrada lidocaína i.v., na dose de 1,3 mg/kg, ao longo de 5 minutos, seguida da infusão contínua de lidocaína i.v., através de uma bomba de infusão para seringas, a uma taxa de 0,05 mg/kg/min durante 6 horas.

2.3.2 Colheita de líquido peritoneal - Após tricotomia ventral do abdômen, caudalmente ao apêndice xifóide, uma área de 10x10 cm foi preparada assepticamente. Em seguida, 5 mL de bupivacaína⁵ foram injetados na pele e no tecido subcutâneo.

⁴ Lidocaína - Ariston, São Paulo.

⁵ Neocaína - Abbott, São Paulo.

Posteriormente, uma cânula mamária foi inserida na cavidade abdominal através de uma pequena incisão de pele e linha alba praticada com lâmina de bisturi. Procedida a paracentese, o líquido peritoneal foi colhido em tubos estéreis antes da injeção intraperitoneal de LPS (momento 0) e aos 20, 60, 120, 180, 240, 300 e 360 minutos a partir de cada procedimento experimental. Nas amostras do líquido peritoneal, colhidas sem anticoagulante, foram dosados os seguintes elementos bioquímicos: glicose e fosfatase alcalina através de química seca⁶, creatina quinase utilizando-se “kit” colorimétrico⁷, proteína total por refratometria e fibrinogênio⁸. Das amostras colhidas com anticoagulante (EDTA) foram quantificados e qualificados os elementos celulares (polimorfonucleares, mononucleares e hemácias).

2.3.3 Colheita do sangue – As amostras de sangue foram colhidas, por venopunção jugular, utilizando-se tubos a vácuo⁹ contendo solução anticoagulante (EDTA) para realização de hemograma completo. Uma amostra de plasma foi utilizada para a determinação da glicose através de química seca⁷. Todas as colheitas foram coincidentes àquelas do líquido peritoneal.

2.3.4 Mensuração do TNF-alfa sérico e peritoneal - As amostras de sangue venoso foram obtidas através de tubos a vácuo⁹ sem EDTA. A atividade do TNF alfa foi determinada utilizando-se uma modificação de um bioensaio de citotoxicidade *in vitro*, usando-se WEHI 164 clone 13 de células de fibrossarcoma murino. As células WEHI foram suspendidas em meio RPMI 1640 (Sigma, USA) contendo 10% de soro fetal bovino e penicilina, e então colocados em placas de 96 poços, numa concentração de 6×10^4 células/poço em volume de 100 μ L/poço. As amostras de soro a serem testadas (100 μ L) foram adicionadas aos poços e incubadas durante 20 horas a 37°C, em estufa de CO₂ a 5%. Adicionaram-se 20 μ L de sal tetrazolium MTT, numa concentração de 5 mg/mL em PBS a cada poço e as placas foram incubadas em estufa por mais 4 horas nas mesmas condições anteriormente citadas. O sobrenadante foi desprezado,

⁶ Reflotron IV – Boehringer, Alemanha

⁷ Labtest S.A., MG

⁸ Coagulator – Organon Teknika, Estados Unidos

⁹ Vacutainer – BD, São Paulo.

adicionando-se em seguida 200 μ L de isopropanol a 0,04 N HCl a cada poço. Logo após a dissolução adequada dos cristais de formazan, as densidades ópticas dos poços foram lidas em leitor de ELISA no comprimento de onda de 570 nm. Uma curva padrão foi construída a partir da regressão de uma concentração de TNF alfa recombinante humano vs. densidade óptica (DO). A regressão linear foi feita para cada diluição vs. DO, e a concentração da amostra (ng/ml) da atividade do TNF alfa foi estimada a partir da diluição que produz a DO média na curva padrão.

2.3.5 Avaliação clínica - Todos os animais foram examinados para a verificação de sinais clínicos de endotoxemia, registrando-se a frequência cardíaca por eletrocardiografia e pressão arterial pelo método invasivo, temperatura retal por termometria clínica antes da injeção intraperitoneal de LPS (momento 0) e aos 20, 60, 120, 180, 240, 300 e 360 minutos após o início do experimento.

2.3.6 Análise estatística - Os dados obtidos para cada parâmetro estudado, nos diferentes grupos experimentais, foram submetidos à análise de variância pelo Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) com parcelas subdivididas através do programa SAS (Statistical Analysis Systems), seguida da comparação das médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para os diferentes tempos.

3. RESULTADOS

3.1. AVALIAÇÃO CLÍNICA

Em resposta à administração de LPS, os cavalos apresentavam-se deprimidos e alguns tiveram sinais de dor abdominal de leve à moderada, principalmente no grupo controle. Tais alterações foram mais intensas entre 60 e 360 minutos após a injeção (MAI) de LPS nos grupos I e III. No grupo pré-tratado com lidocaína, os sinais de depressão somente foram observados 2 horas após a aplicação de LPS.

A congestão de mucosas, no grupo controle, foi evidente a partir de 1 hora da aplicação do LPS. Nos demais grupos, os animais apresentaram palidez ou congestão de mucosas a partir de 20 MAI, sendo que cianose pôde ser detectada a partir de 120 MAI nos três grupos. No grupo II, três animais apresentaram fezes amolecidas dos 120 aos 180 MAI.

A temperatura retal elevou-se dos 240 aos 360 MAI no GI em relação aos valores basais ($p < 0,05$) (Tabela e Figura 1).

Elevação da frequência cardíaca ocorreu dos 240 aos 300 MAI em relação aos valores anotados no início do experimento ($p < 0,05$) em todos os grupos (Tabela e Figura 2).

A frequência respiratória elevou-se aos 240 MAI no GI em relação aos valores basais ($p < 0,05$). A frequência respiratória no GIII foi significativamente maior, de 0 a 60 MAI em relação aos GI e GII (Tabela e Figura 3).

Não foram detectadas diferenças significantes na pressão arterial média entre os três grupos estudados (Tabela e Figura 4).

3.2. AVALIAÇÃO LABORATORIAL

Após a análise laboratorial do sangue periférico registrou-se variações no número de leucócitos totais, ocorrendo uma diminuição no número de leucócitos nos animais do GIII dos 180 aos 300 MAI em relação ao momento inicial, sendo que aos 300 MAI esta diminuição foi estatisticamente significativa em relação ao GI (Tabela e

Figura 5). Também foram registradas variações no número de neutrófilos bastonetes, ocorrendo um aumento significativo no número destas células em todos os grupos dos 240 aos 360 MAI (Tabela e Figura 7). No tocante ao número de linfócitos, ocorreu uma diminuição significativa no número destes em todos os grupos dos 60 aos 360 MAI (Tabela e Figura 10). Não foram observadas alterações no número de neutrófilos segmentados, basófilos, eosinófilos, monócitos e hemácias nos diferentes tempos de observação (Tabelas e Figuras 6, 8, 9, 11 e 12, respectivamente).

Os teores de hemoglobina e a taxa do hematócrito nos diferentes grupos permaneceram estáveis ao longo deste experimento (Tabelas e Figuras 13 e 14, respectivamente). Houve uma diminuição significativa na concentração de proteínas totais plasmáticas em todos os grupos estudados dos 120 aos 360 MAI (Tabela e Figura 15). A taxa de glicose plasmática aumentou nos diferentes grupos, aos 360 MAI, em relação ao momento inicial (Tabela e Figura 16).

Após o exame laboratorial dos elementos celulares e bioquímicos no líquido peritoneal, foi observado aumento significativo no número células nucleadas peritoneais, em todos os grupos dos 180 aos 360 MAI em relação ao tempo inicial (Tabela e Figura 17) com destaque para o aumento dos polimorfonucleares e de monócitos-macrófagos peritoneais, em todos os grupos dos 180 aos 360 MAI em relação ao tempo inicial (Tabelas e Figuras 18 e 19, respectivamente).

A taxa de glicose peritoneal diminuiu significativamente dos 180 aos 360 MAI em todos os grupos e a concentração das proteínas totais peritoneais aumentou significativamente em todos os grupos dos 120 aos 360 MAI em relação ao tempo inicial (Tabelas e Figuras 20 e 21, respectivamente).

Na análise do líquido peritoneal foram também observadas variações na taxa de fibrinogênio peritoneal, ocorrendo um aumento significativo dos 60 aos 360 MAI para todos os grupos (Tabela e Figura 22). Foram observadas variações nas atividades da creatina quinase e da fosfatase alcalina, ocorrendo um aumento significativo aos 360 MAI (Tabela e Figura 23) e dos 180 aos 360 MAI para todos os grupos em relação ao tempo inicial, respectivamente (Tabela e Figura 24).

3.3. MENSURAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DO TNF- α

A concentração sérica do TNF- α aumentou ($p < 0,05$), no GIII, aos 240 MAI em relação aos demais (Tabela e Figura 25). A mensuração da atividade do TNF- α em todos os grupos aos 120 e aos 240 MAI evidenciou uma diminuição ($p < 0,05$) na concentração do TNF- α (ng/mL) no líquido peritoneal aos 120 MAI no GIII em relação aos outros grupos (Tabela e Figura 26).

TABELA 1 - Valores médios de temperatura retal (°C) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	37,6 ^{abA}	37,9 ^{abA}	38,0 ^{abA}	38,1 ^{abB}	38,4 ^{abA}	38,7 ^{aA}	38,7 ^{aA}	38,7 ^{aA}	38,3
GII	38,1 ^{aA}	38,1 ^{aA}	38,4 ^{aA}	38,8 ^{aAB}	38,9 ^{aA}	39,1 ^{aA}	39,1 ^{aA}	39,1 ^{aA}	38,7
GIII	38,6 ^{abA}	38,6 ^{abA}	38,5 ^{abA}	39,1 ^{abA}	39,3 ^{abA}	39,1 ^{aA}	39,1 ^{aA}	39,2 ^{aA}	39,1
MGT	38,3	38,4	38,4	38,6	38,8	38,9	39,0	39,0	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

(Letras minúsculas para as comparações na horizontal e maiúsculas na vertical)

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

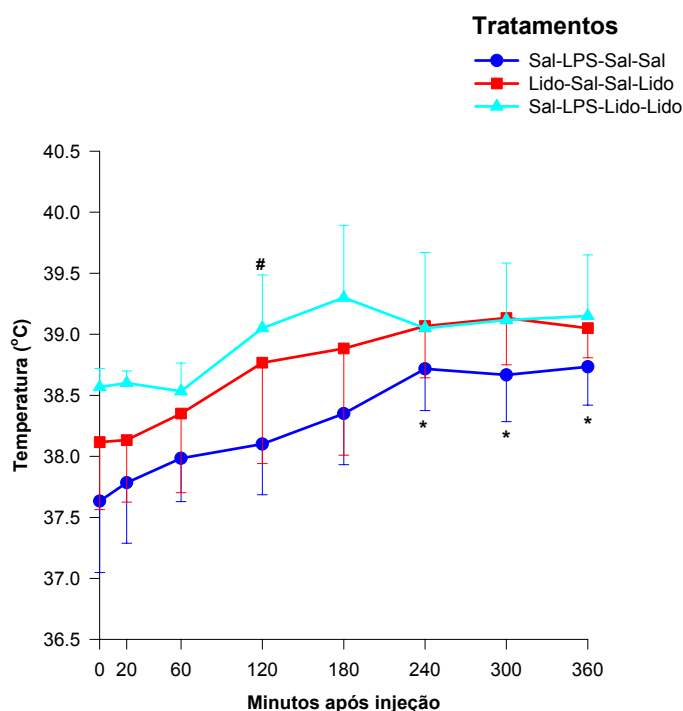


Figura 1 - Variações da temperatura retal média (°C), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. *Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$). #Diferença significativa entre os grupos no momento indicado.

TABELA 2 - Valores médios de freqüência cardíaca (batimentos/minuto) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	44	44	47	59	48	53	53	50	50
GII	42	52	50	49	51	56	56	57	51
GIII	50	59	59	61	63	67	67	64	61
MGT	45 ^b	51 ^{ab}	52 ^{ab}	56 ^{ab}	54 ^{ab}	59 ^a	59 ^a	57 ^{ab}	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

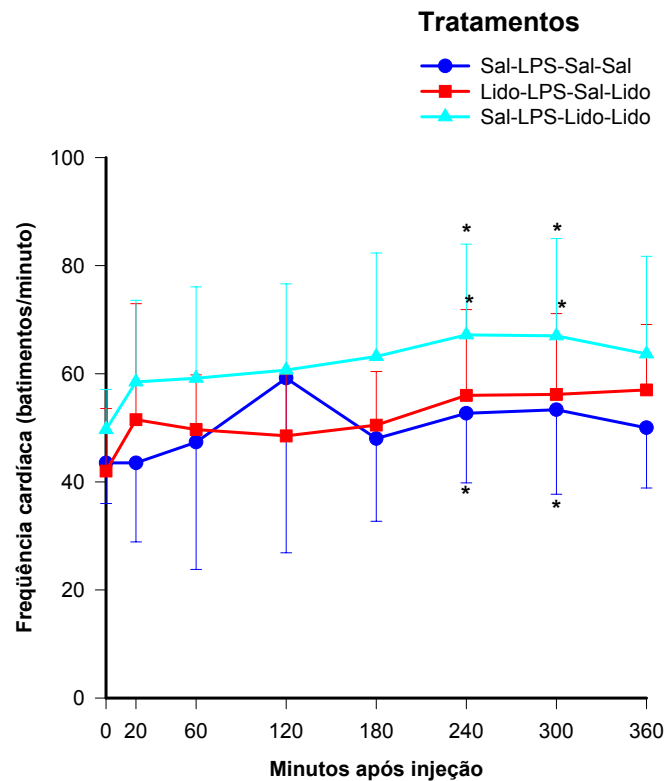


Figura 2 - Variações da freqüência cardíaca (batimentos/minuto) média, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. *Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA 3 - Valores médios de freqüência respiratória (movimentos/minuto) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	20 ^{bB}	20 ^{bB}	21 ^{bB}	29 ^{abA}	38 ^{abA}	45 ^{aA}	36 ^{abA}	40 ^{abA}	31
GII	26 ^{aAB}	24 ^{aB}	25 ^{aB}	33 ^{aA}	32 ^{aA}	33 ^{aA}	32 ^{aA}	33 ^{aA}	30
GIII	39 ^{aA}	43 ^{aA}	37 ^{aA}	30 ^{aA}	38 ^{aA}	38 ^{aA}	39 ^{aA}	38 ^{aA}	38
MGT	29	29	27	31	36	39	36	37	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

(Letras minúsculas para as comparações na horizontal e maiúsculas na vertical)

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

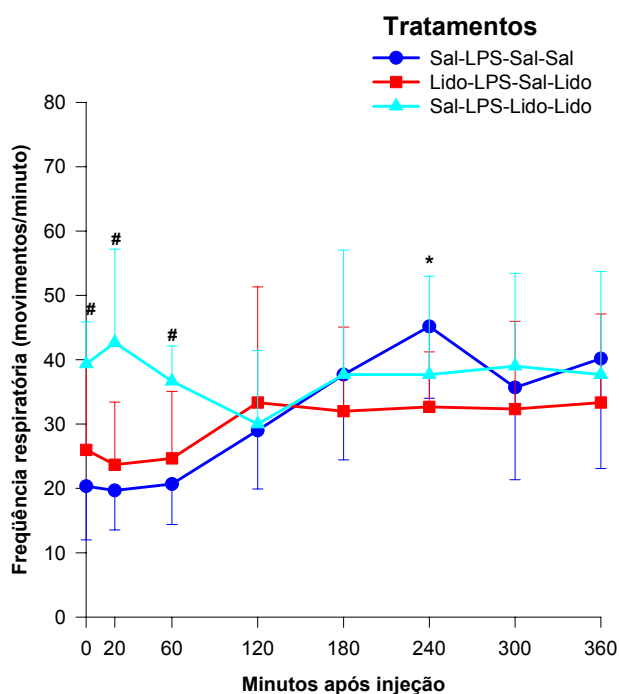


Figura 3 - Variações da freqüência respiratória (movimentos/minuto) média, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. *Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$). #Diferença significativa entre os grupos no momento indicado.

TABELA 4 - Valores médios da pressão arterial média (mmHg) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	116	105	112	95	98	87	91	92	100
GII	99	96	79	86	90	91	86	92	90
GIII	119	119	117	107	105	100	107	100	109
MGT	112	107	104	97	98	94	95	95	

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

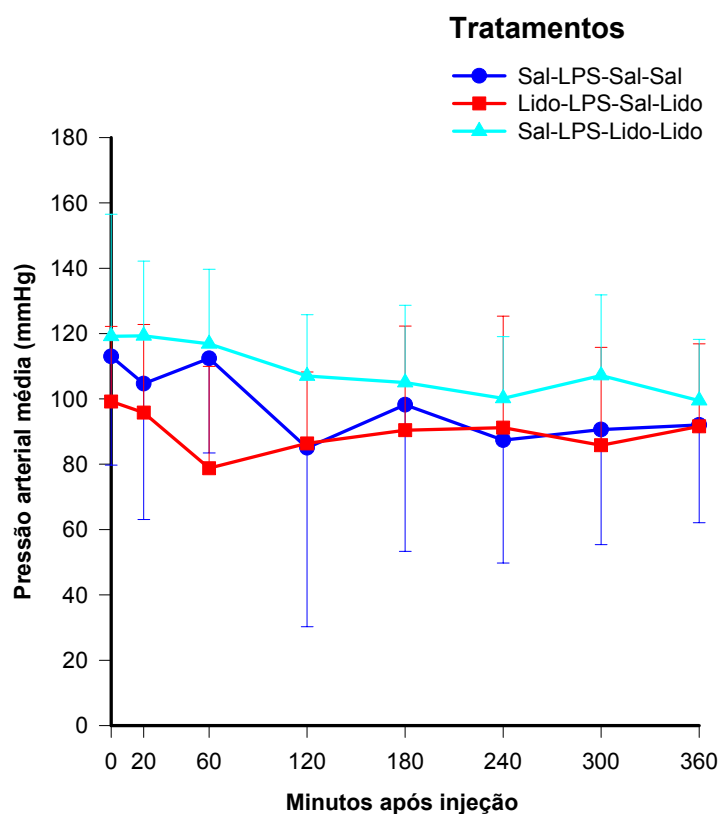


Figura 4 - Variações da pressão arterial (mmHg) média, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. *Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA 5 - Valores médios de leucócitos totais ($n \times 10^3$)/ μ L obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	13,48 ^{aA}	13,93 ^{aA}	13,67 ^{aA}	11,75 ^{aA}	10,78 ^{aA}	12,50 ^{aA}	13,90 ^{aA}	13,70 ^{aA}	12,96
GII	13,70 ^{aA}	13,65 ^{aA}	12,78 ^{aA}	10,18 ^{aA}	10,13 ^{aA}	11,15 ^{aA}	11,85 ^{aAB}	12,95 ^{aA}	12,05
GIII	14,18 ^{aA}	13,45 ^{abA}	12,75 ^{abA}	11,02 ^{abA}	9,40 ^{bA}	9,18 ^{bA}	9,62 ^{bB}	10,55 ^{abA}	11,27
MGT	13,79	13,68	13,07	10,98	10,10	10,94	11,79	12,40	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

(Letras minúsculas para as comparações na horizontal e maiúsculas na vertical)

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

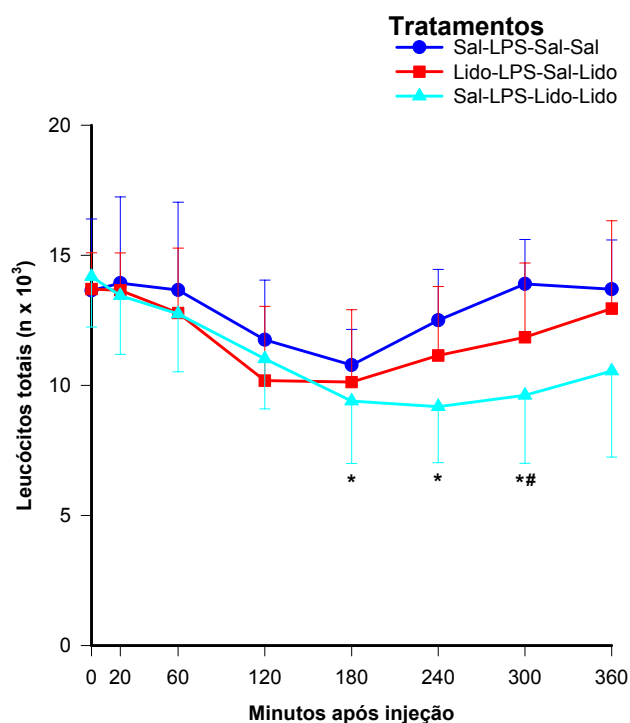


Figura 5 - Variações do número médio de leucócitos totais ($n \times 10^3$)/ μ L, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. *Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$). #Diferença significativa entre os grupos no momento indicado.

TABELA 6 - Valores médios de neutrófilos segmentados ($n \times 10^3$)/ μ L obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	5,68	6,54	6,96	6,01	5,51	7,29	7,88	8,07	6,74
GII	7,05	7,79	7,02	5,18	5,34	6,03	6,61	7,3	6,54
GIII	8,26	7,79	7,60	6,21	4,77	4,99	5,32	6,14	6,39
MGT	7,00	7,38	7,19	5,80	5,21	6,10	6,60	7,14	

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

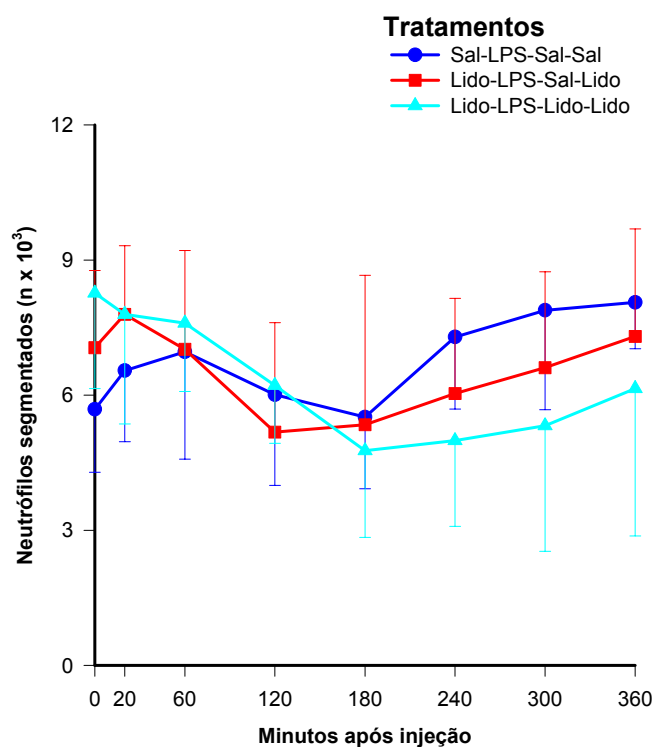


Figura 6 - Variações do número médio de neutrófilos segmentados ($n \times 10^3$)/ μ L, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos.

TABELA 7 - Valores médios de neutrófilos bastonetes ($n \times 10^3$)/ μ L obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	0,08	0,10	0,26	0,22	0,07	0,23	0,26	0,47	0,21
GII	0,07	0,12	0,14	0,28	0,31	0,41	0,31	0,43	0,26
GIII	0,06	0,12	0,17	0,16	0,38	0,43	0,65	0,65	0,33
MGT	0,07 ^c	0,11 ^c	0,19 ^{bc}	0,22 ^{bc}	0,25 ^{bc}	0,36 ^{ab}	0,41 ^{ab}	0,52 ^a	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

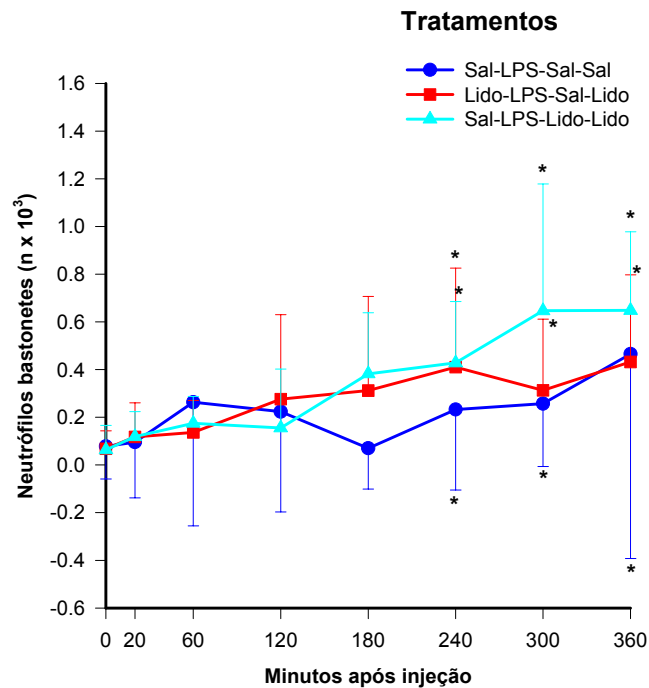


Figura 7 - Variações do número médio de neutrófilos bastonetes ($n \times 10^3$)/ μ L, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. *Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA 8 - Valores médios de basófilos ($n \times 10^3$)/ μ L obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	0,02	0,00	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,00	0,01
GII	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
GIII	0,00	0,04	0,02	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01
MGT	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

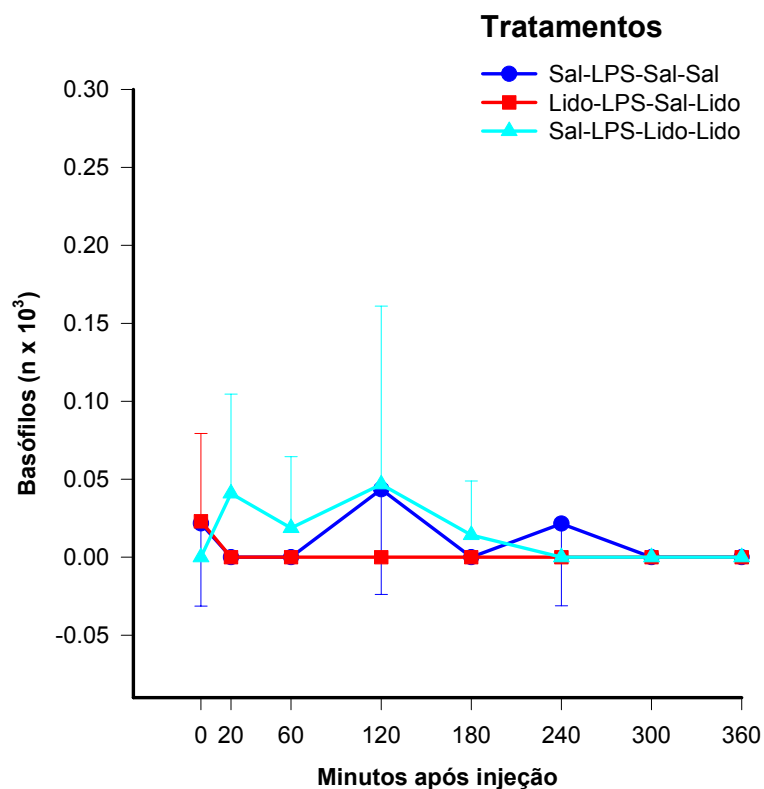


Figura 8 - Variações do número médio de basófilos ($n \times 10^3$)/ μ L, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos.

TABELA 9 - Valores médios de eosinófilos ($n \times 10^3$)/ μ L obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	0,10	0,19	0,08	0,02	0,08	0,08	0,06	0,00	0,08
GII	0,05	0,03	0,05	0,08	0,02	0,04	0,02	0,02	0,04
GIII	0,09	0,07	0,07	0,09	0,05	0,02	0,02	0,00	0,05
MGT	0,08	0,09	0,06	0,06	0,05	0,04	0,03	0,01	

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

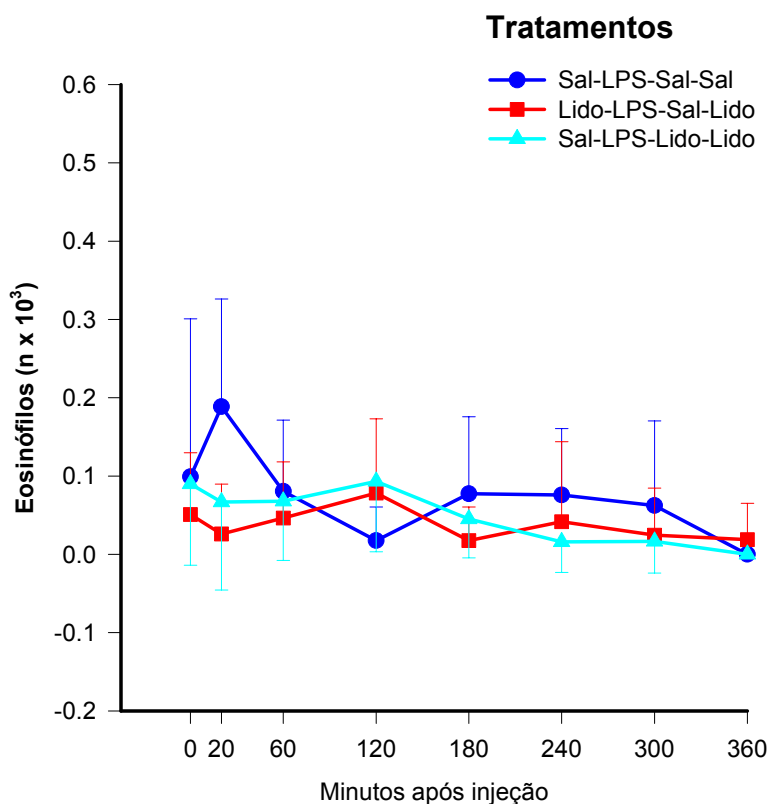


Figura 9 - Variações do número médio de eosinófilos ($n \times 10^3$)/ μ L, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos.

TABELA 10 - Valores médios de linfócitos ($n \times 10^3$)/ μ L obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	7,60	7,01	6,28	5,35	5,02	4,80	5,66	5,07	5,85
GII	6,44	5,70	5,49	4,59	4,37	4,62	4,84	5,08	5,14
GIII	5,77	5,43	4,86	4,52	4,18	3,72	3,59	3,71	4,47
MGT	6,60 ^a	6,04 ^{ab}	5,54 ^{bc}	4,82 ^{cd}	4,52 ^d	4,38 ^d	4,70 ^d	4,62 ^d	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

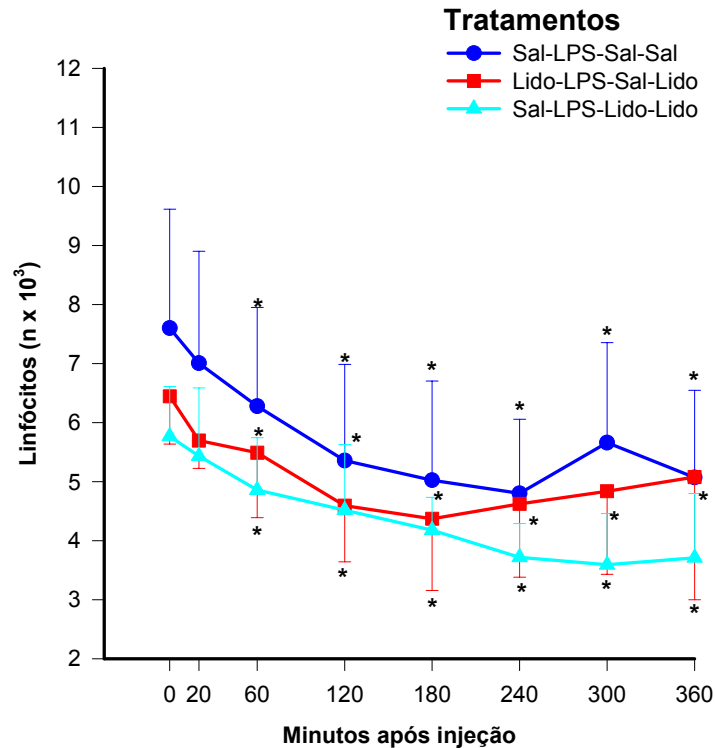


Figura 10 - Variações do número médio de linfócitos ($n \times 10^3$)/ μ L, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos.

*Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA 11 - Valores médios de monócitos ($n \times 10^3$)/ μL obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	0,16	0,09	0,09	0,13	0,10	0,08	0,04	0,11	0,01
GII	0,06	0,02	0,10	0,06	0,08	0,04	0,07	0,12	0,07
GIII	0,00	0,00	0,04	0,04	0,02	0,03	0,04	0,05	0,03
MGT	0,08	0,04	0,07	0,07	0,07	0,05	0,05	0,09	

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

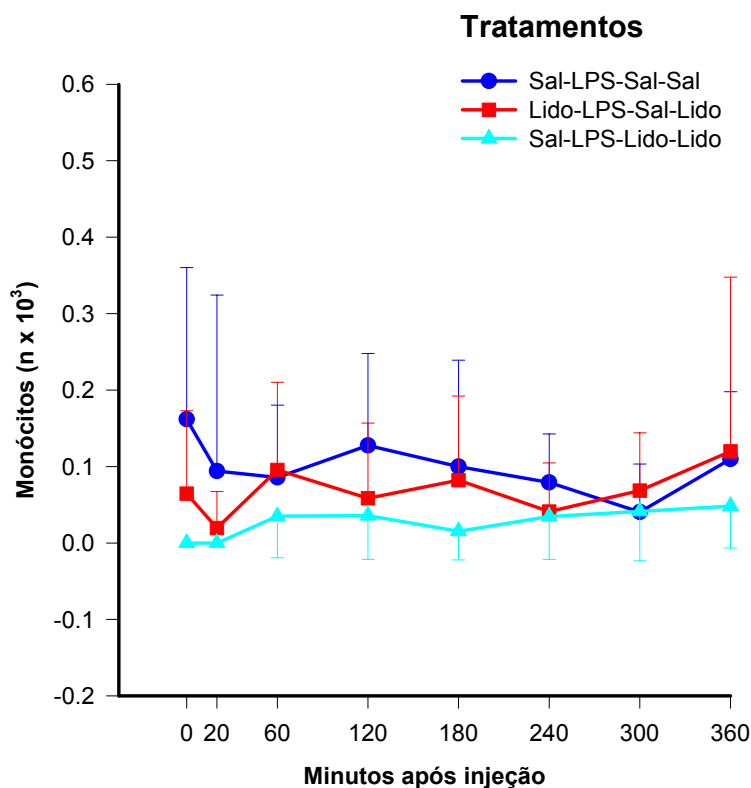


Figura 11 - Variações do número médio de monócitos ($n \times 10^3$)/ μL , ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos.

TABELA 12 - Valores médios de hemácias ($n \times 10^6$)/ μ L obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	7,87	7,86	7,62	7,64	7,63	7,77	7,70	7,97	7,76
GII	8,38	8,29	7,96	7,68	7,77	8,05	7,94	8,16	8,03
GIII	7,62	7,91	7,96	7,78	7,81	8,03	8,31	8,17	7,95
MGT	7,95	8,02	7,84	7,70	7,74	7,95	7,98	8,10	

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

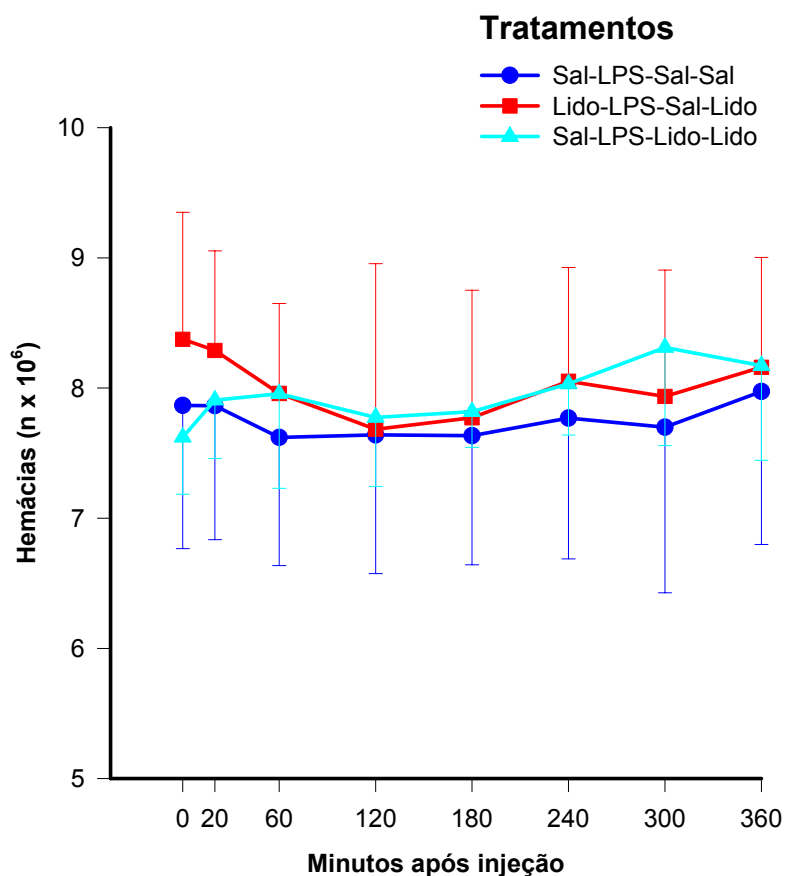


Figura 12 - Variações do número médio de hemácias ($n \times 10^6$)/ μ L, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos.

TABELA 13 - Valores médios dos teores de hemoglobina (g/dL) obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	12,83	12,85	12,78	13,40	12,78	12,86	13,18	13,01	12,96
GII	13,65	13,63	13,83	12,63	13,63	14,13	13,67	13,47	13,58
GIII	12,70	12,97	13,16	13,08	13,42	13,22	13,87	13,35	13,22
MGT	13,06	13,15	13,26	13,04	13,28	13,40	13,57	13,28	

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

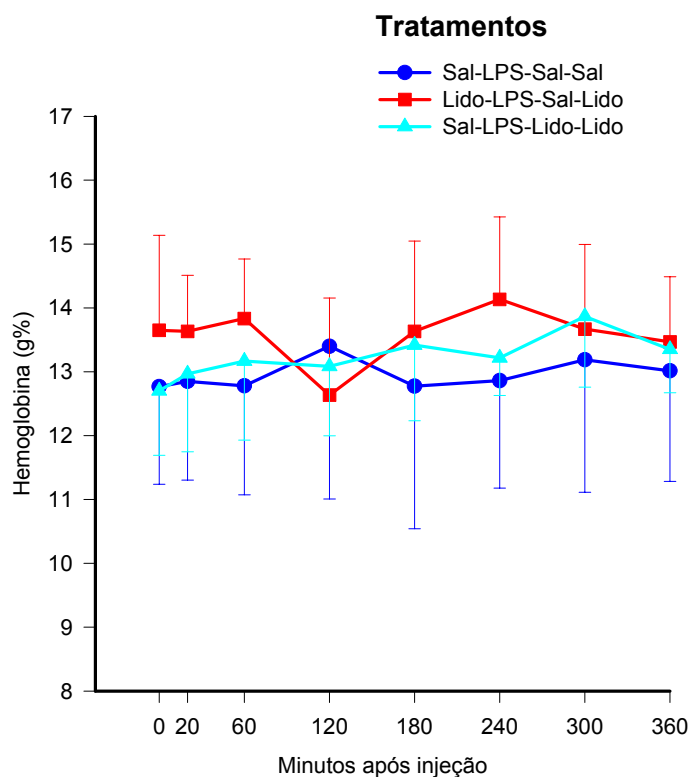


Figura 13 - Variações dos teores médios de hemoglobina (g/dL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos.

TABELA 14 - Valores médios de hematócrito (%) obtidos no sangue de eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	34,50	34,83	34,00	34,00	33,83	34,33	34,33	34,50	34,29
GII	34,50	34,00	34,33	32,17	32,17	33,33	33,00	33,50	33,38
GIII	32,83	33,67	33,67	33,83	34,50	34,50	35,50	35,00	34,19
MGT	33,94	34,16	34,00	33,33	33,50	34,06	34,28	34,33	

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

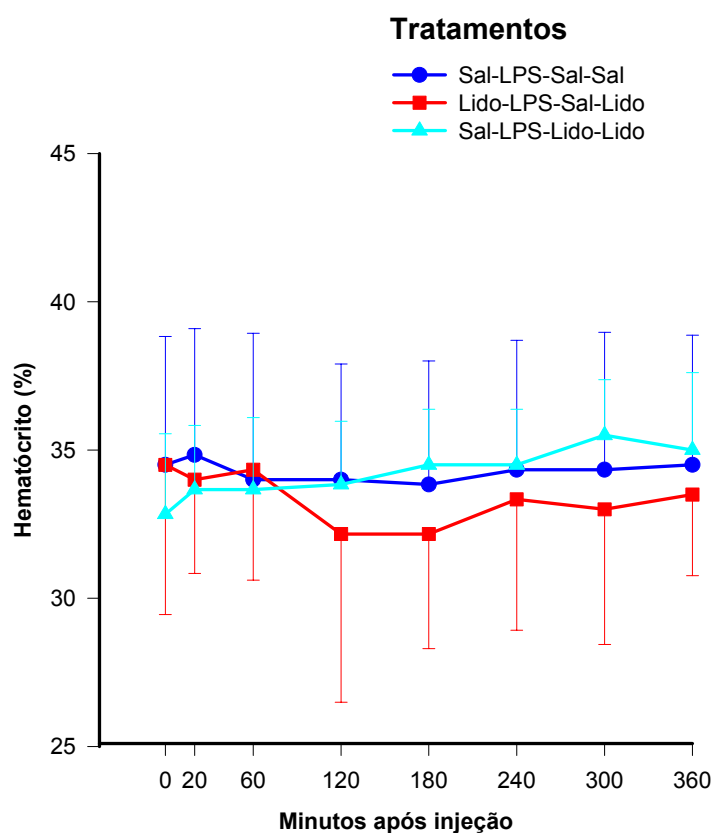


Figura 14 - Variações dos valores médios do hematócrito (%), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos.

TABELA 15 - Valores médios das concentrações de proteínas totais plasmáticas (g/dL) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	7,17	7,10	7,13	6,97	6,87	6,95	6,85	6,98	7,00
GII	7,00	6,92	6,83	6,38	6,38	6,38	6,47	6,70	6,63
GIII	6,62	6,62	6,47	6,33	6,23	6,22	6,25	6,22	6,37
MGT	6,93 ^a	6,88 ^a	6,82 ^{ab}	6,56 ^c	6,49 ^c	6,52 ^c	6,52 ^c	6,63 ^{bc}	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

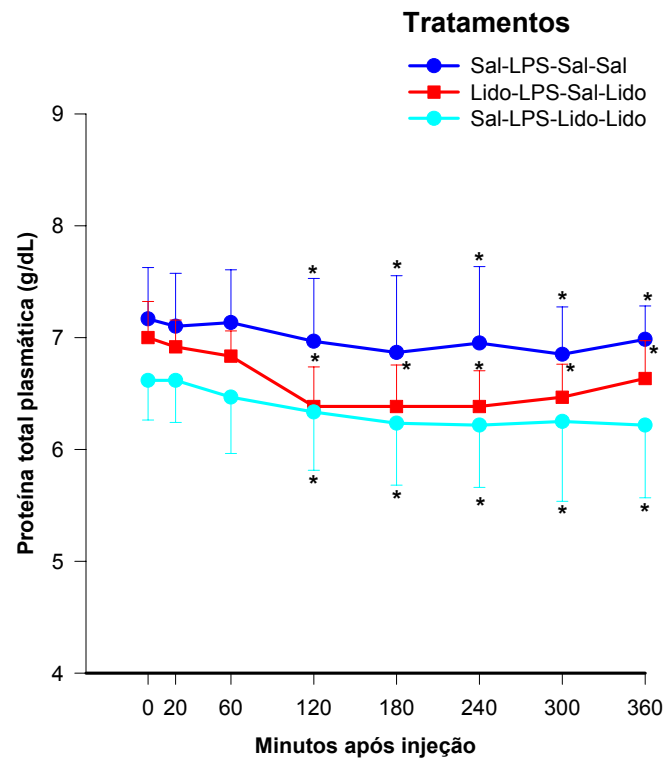


Figura 15 - Variações dos valores médios das concentrações de proteínas totais plasmáticas (g/dL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. *Diferença significante em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA 16 - Valores médios da taxa de glicose plasmática (mg/dL) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	130,02	138,33	139,33	135,17	144,83	137,50	138,17	142,50	138,23
GII	131,33	134,50	132,17	123,50	127,87	131,83	132,67	136,83	131,34
GIII	136,33	146,67	141,67	146,50	141,83	144,83	150,67	155,33	145,48
MGT	132,56 ^b	139,83 ^{ab}	137,72 ^{ab}	135,06 ^{ab}	138,18 ^{ab}	138,06 ^{ab}	140,50 ^{ab}	144,89 ^a	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

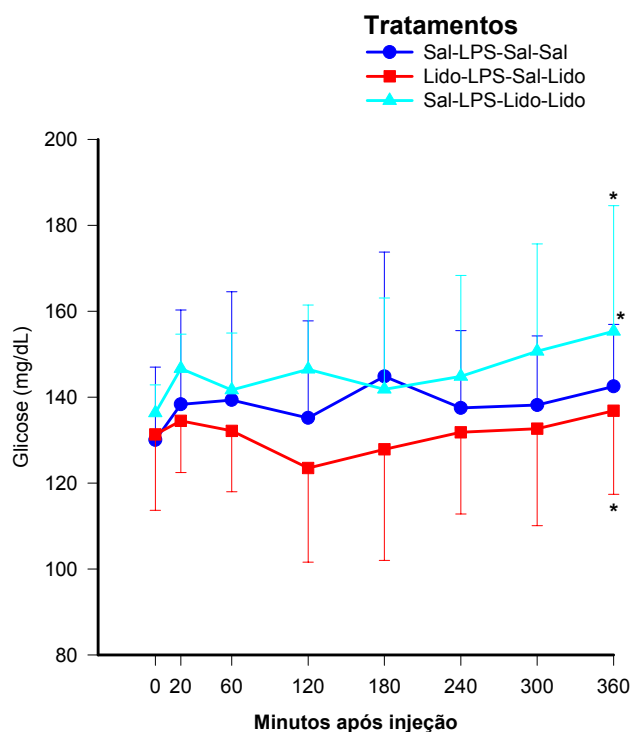


Figura 16 - Variações da taxa média da glicose plasmática (mg/dL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos.

*Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA 17 - Valores médios do número de células nucleadas peritoneais ($n \times 10^3$)/ μ L obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	1,33	1,38	1,52	6,28	17,73	28,38	35,47	42,00	16,76
GII	1,17	1,32	1,62	11,08	24,20	33,92	44,78	59,87	22,24
GIII	1,43	1,67	2,57	10,47	33,15	50,57	61,82	67,60	28,66
MGT	1,31 ^d	1,46 ^d	1,90 ^d	9,28 ^d	25,03 ^c	37,62 ^b	47,36 ^{ab}	56,49 ^a	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

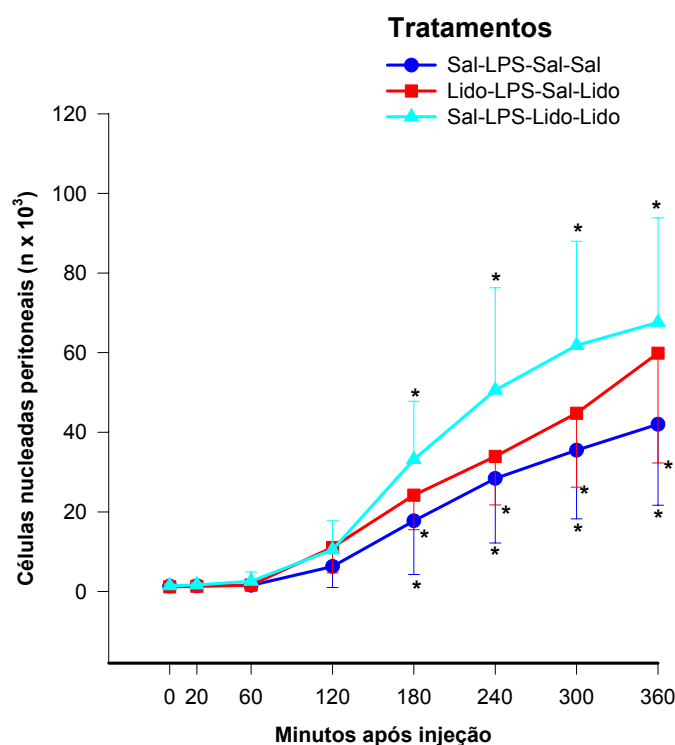


Figura 17 - Variações do número médio de células nucleadas peritoneais ($n \times 10^3$)/ μ L, ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. *Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA 18 - Valores médios do número de polimorfonucleares peritoneais ($n \times 10^3$)/ μL obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	0,94	0,88	0,98	5,44	15,91	25,36	31,36	36,80	14,71
GII	0,66	0,71	0,91	9,63	20,98	30,80	39,99	50,43	19,26
GIII	0,75	0,85	1,33	8,76	30,47	48,03	56,00	61,85	26,00
MGT	0,78 ^d	0,81 ^d	1,08 ^d	7,94 ^d	22,45 ^c	34,73 ^b	42,45 ^{ab}	49,69 ^a	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

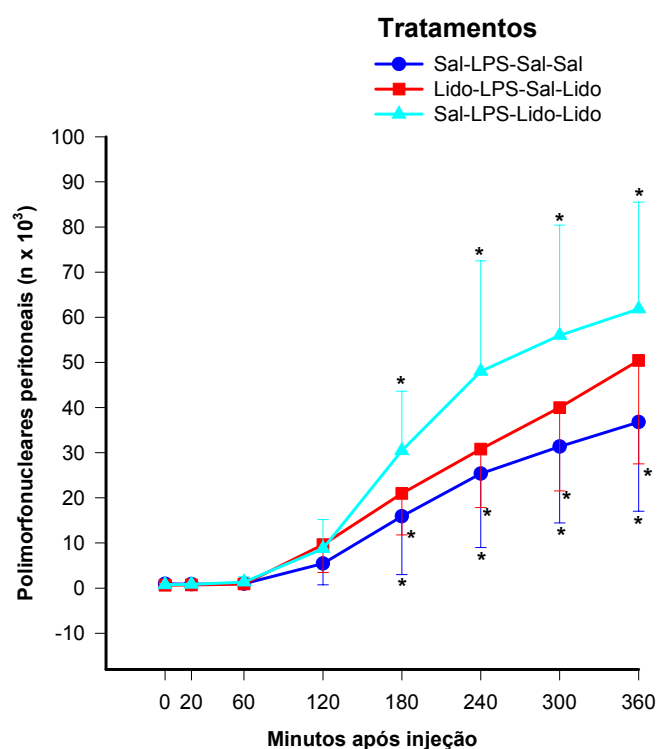


Figura 18 - Variações do número médio de polimorfonucleares peritoneais ($n \times 10^3$)/ μL , ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. *Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA 19 - Valores médios do número de monócitos-macrófagos peritoneais ($n \times 10^3$)/ μL obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	0,40	0,53	0,54	0,84	1,82	3,02	4,10	5,20	2,06
GII	0,51	0,61	0,70	1,46	3,22	3,12	4,80	9,44	2,98
GIII	0,69	0,81	1,23	1,71	2,73	2,54	5,82	5,75	2,66
MGT	0,53 ^e	0,65 ^e	0,82 ^{de}	1,34 ^{cde}	2,59 ^{cd}	2,89 ^c	4,91 ^b	6,80 ^a	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

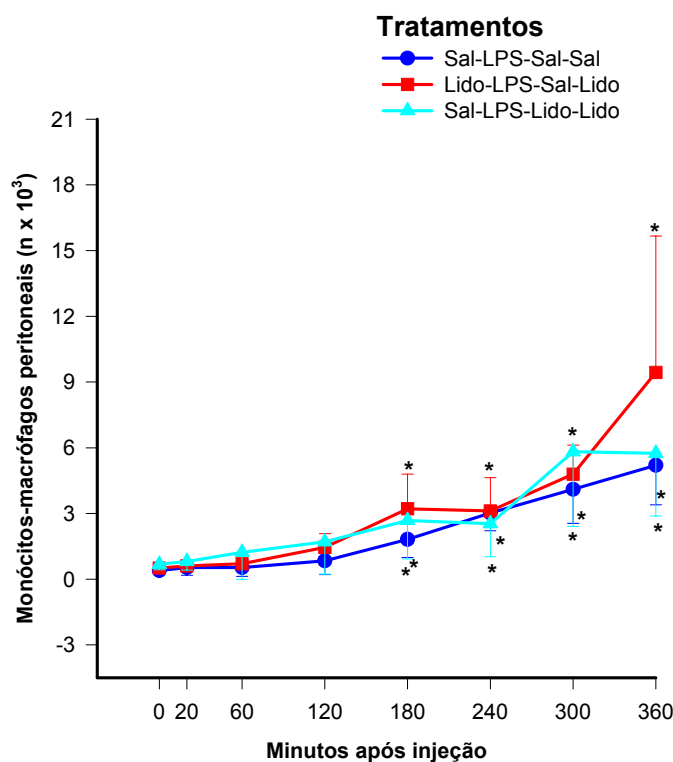


Figura 19 - Variações do número médio de monócitos-macrófagos peritoneais ($n \times 10^3$)/ μL , ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. *Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA 20 - Valores médios da taxa de glicose peritoneal (mg/dL) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	168,67	170,50	174,17	175,83	155,00	142,33	145,17	144,67	159,54
GII	168,67	178,83	184,17	161,00	148,50	137,83	132,50	138,33	156,23
GIII	176,67	186,33	179,57	175,00	154,83	141,17	136,17	143,00	161,65
MGT	171,33 ^a	178,72 ^a	179,30 ^a	170,61 ^a	152,78 ^b	140,44 ^b	137,94 ^b	142,00 ^b	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

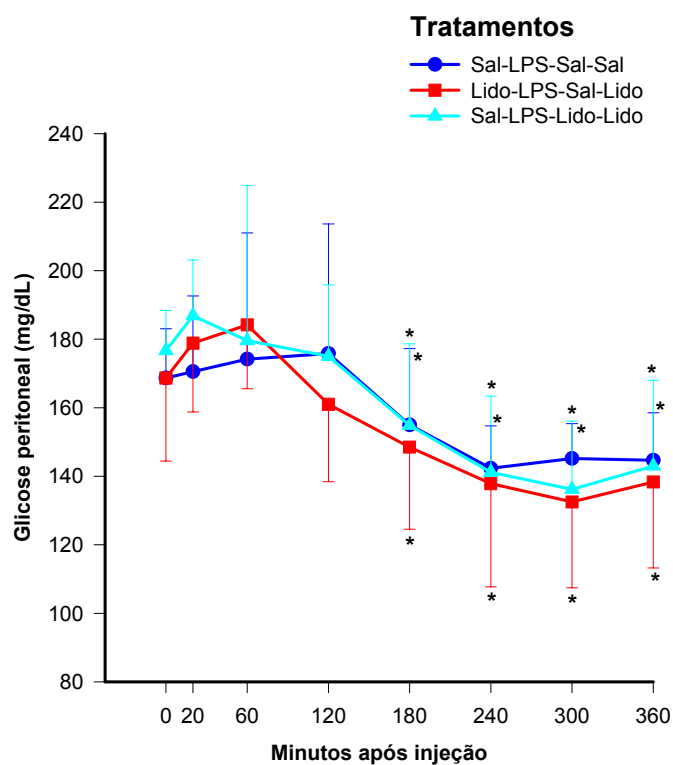


Figura 20 - Variações da taxa média de glicose peritoneal (mg/dL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos.

*Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA 21 - Valores médios das concentrações das proteínas totais peritoneais (g/dL) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	0,60	0,58	0,53	1,18	1,55	1,80	2,00	2,03	1,28
GII	0,60	0,57	0,77	1,38	1,70	1,97	2,00	2,10	1,39
GIII	0,53	0,48	0,57	1,47	1,82	2,12	2,47	2,90	1,54
MGT	0,58 ^d	0,54 ^d	0,62 ^d	1,34 ^c	1,69 ^{bc}	1,96 ^{ab}	2,16 ^{ab}	2,34 ^a	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

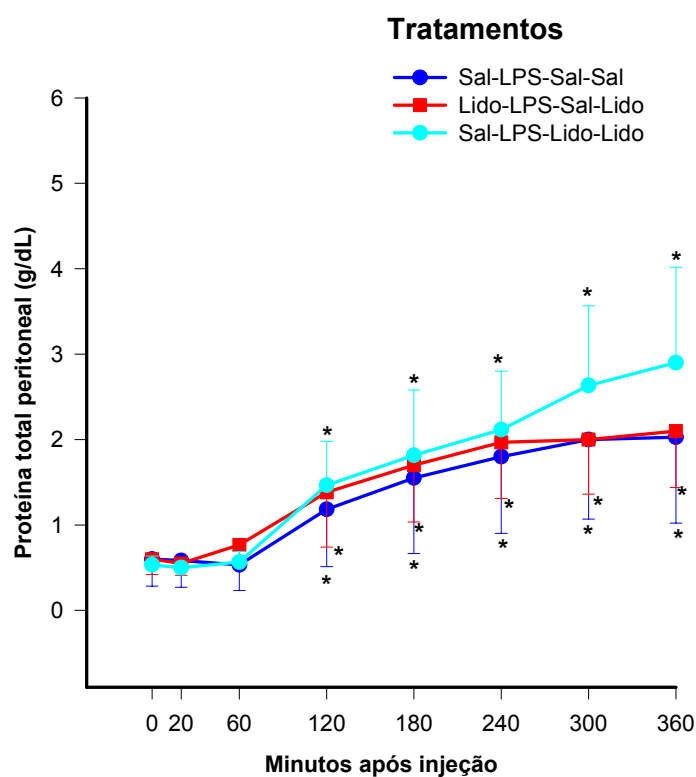


Figura 21 - Variações dos valores médios das concentrações de proteínas totais peritoneais (g/dL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. *Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA 22 - Valores médios da taxa de fibrinogênio peritoneal (mg/dL) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	27,00	114,50	159,92	166,58	140,08	224,33	211,83	185,83	153,76 ^a
GII	37,75	101,95	134,35	144,83	101,60	108,60	94,68	156,02	109,97 ^{ab}
GIII	0,00	0,00	0,00	35,54	56,81	60,21	55,20	36,79	30,57 ^b
MGT	21,58 ^b	72,15 ^{ab}	98,09 ^a	115,65 ^a	99,50 ^a	131,05 ^a	120,57 ^a	126,21 ^a	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

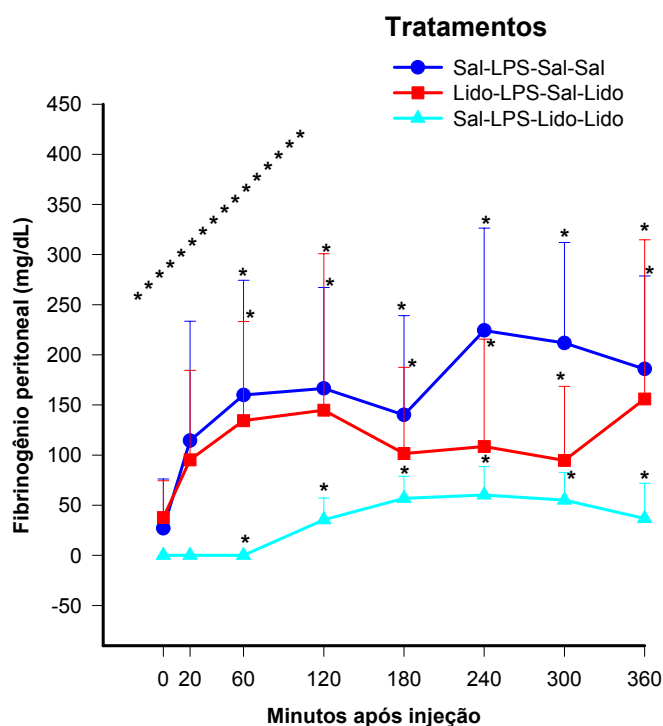


Figura 22 - Variações da taxa média de fibrinogênio peritoneal (mg/dL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. *Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA 23 - Valores médios da atividade da creatina quinase peritoneal (UI) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	38,21	26,02	17,98	48,09	57,88	53,06	74,45	105,21	52,61
GII	16,07	29,43	40,64	31,85	67,52	108,85	82,26	78,85	56,93
GIII	43,44	26,18	51,27	91,87	110,08	149,21	291,75	378,77	142,82
MGT	32,57 ^b	27,20 ^b	36,63 ^b	57,27 ^{ab}	78,50 ^{ab}	103,71 ^{ab}	149,49 ^{ab}	187,61 ^a	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

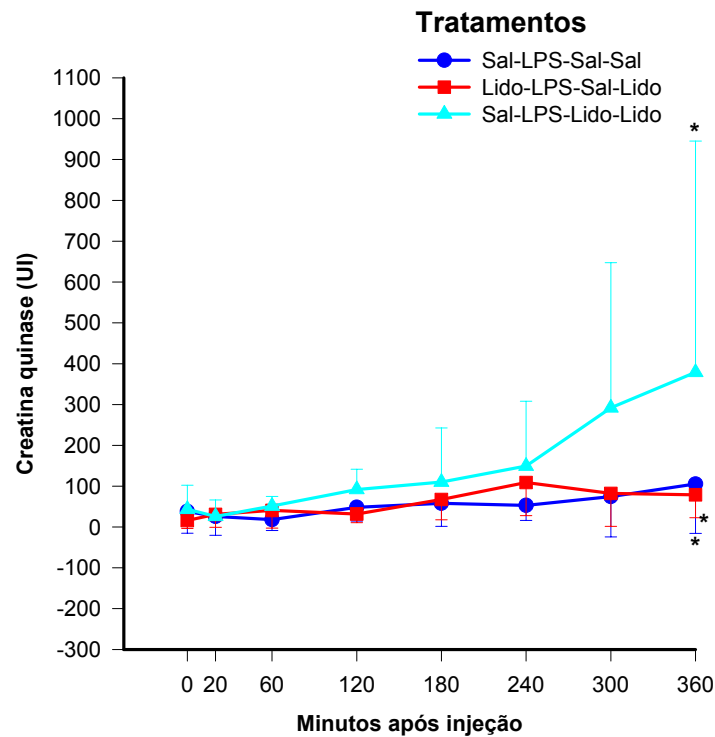


Figura 23 - Variações da atividade da creatina quinase peritoneal (UI), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. *Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA 24 - Valores médios da atividade da fosfatase alcalina peritoneal (UI) obtidos nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) até 360 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI							MGG
	0	20	60	120	180	240	300	360	
GI	7,37	5,77	5,90	46,53	161,97	255,83	372,00	523,75	172,39
GII	12,43	11,05	9,28	77,52	185,52	308,37	375,18	629,42	201,10
GIII	11,25	7,50	11,67	62,50	186,83	400,00	576,67	731,50	248,50
MGT	10,35 ^d	8,11 ^d	8,95 ^d	62,18 ^{cd}	178,11 ^c	321,40 ^b	441,28 ^b	628,22 ^a	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

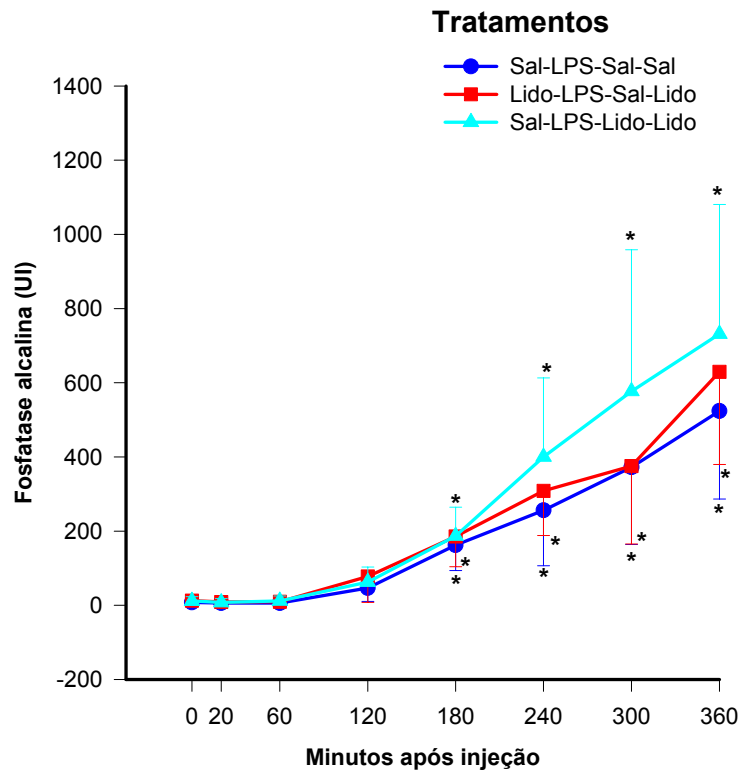


Figura 24 - Variações da atividade da fosfatase alcalina peritoneal (UI), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. *Diferença significativa em relação ao valor basal (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA 25 – Valores médios de TNF- α sérico (ng/mL) anotados nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) aos 120 e aos 240 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI		MGG
	0	120	240	
GI	0	0,04	0,13 ^{BC}	0,09
GII	0	0,07	0,12 ^C	0,10
GIII	0	0,94	2,63 ^A	1,79
MGT	0	0,35	2,88	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).
(Letras minúsculas para as comparações na horizontal e maiúsculas na vertical)

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

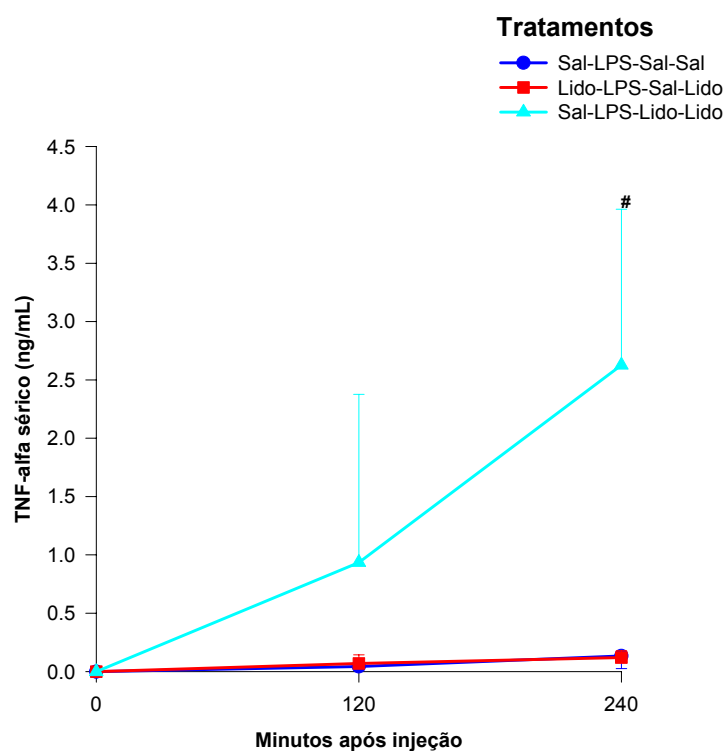


Figura 25 - Variações dos valores médios de TNF- α sérico (ng/mL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos.
#Diferença significativa entre os grupos no momento indicado.

TABELA 26 - Valores médios de TNF- α encontrados no líquido peritoneal (ng/mL) anotados nos eqüinos dos grupos I (Sal-LPS-Sal-Sal), II (Lido-LPS-Sal-Lido), III (Sal-LPS-Lido-Lido) aos 120 e aos 240 minutos após a injeção (MAI) intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli*. Jaboticabal, 2002.

GRUPOS	Momento	MAI		MGG
	0	120	240	
GI	0	0,67 ^A	0,30	0,49
GII	0	0,55 ^{AB}	0,23	0,39
GIII	0	0,22 ^C	0,04	0,13
MGT	0	0,48	0,37	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$).
(Letras minúsculas para as comparações na horizontal e maiúsculas na vertical)

MGT - Média geral dos grupos em cada momento

MGG - Média geral de cada grupo, nos diferentes momentos

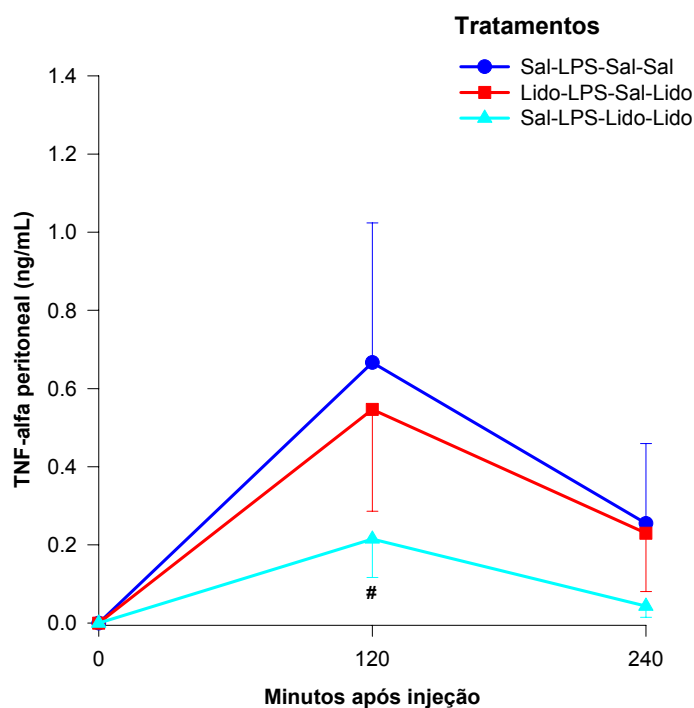


Figura 26 - Variações dos valores médios de TNF- α encontrados no líquido peritoneal (ng/mL), ao longo do tempo, após a injeção intraperitoneal de 500 ng/kg de LPS de *E. coli* em eqüinos. #Diferença significativa entre os grupos no momento indicado.

4 DISCUSSÃO

A dose de lidocaína utilizada neste estudo foi baseada em relatos de Malone et al. (1994) e Malone et al. (1998). Efeitos colaterais deletérios não foram observados neste estudo com a dose administrada, uma vez que os níveis de lidocaína neste delineamento é de 0,98 µg/mL (MALONE et al., 1998; MEYER e HANSON, 2000), um valor 2 a 3 vezes inferior a dose tóxica para eqüinos segundo Meyer et al. (2001).

A semelhança dos efeitos fisiopatológicos causados por microrganismos Gram-negativos ou por endotoxinas bacterianas torna a endotoxemia experimental um modelo seguro para o estudo do choque séptico induzido por este grupo de bactérias (WARD et al., 1986). Diante desta perspectiva, a administração de doses subletais de LPS, em eqüinos, permite estudar alternativas terapêuticas para a cólica eqüina, baseados nas semelhanças entre o modelo experimental e esta síndrome (LOCHNER, 1986).

Desta forma, a injeção de doses subletais de LPS mimetiza clinicamente a endotoxemia associada com a ocorrência natural de cólica (MOORE et al., 1980; CLARK e MOORE, 1989; WAGNER et al., 1995), sendo a febre uma das alterações mais consistentes induzidas pela administração de LPS (FESSLER et al., 1989). A endotoxina circulante, associada à liberação de mediadores inflamatórios pelo organismo durante o processo endotoxêmico, parece influenciar o centro termorregulador hipotalâmico, elevando a temperatura corpórea. Estudos realizados por CARGILE et al. (1995a) indicam que a endotoxina, ou outros fatores endógenos, que não o TNF, medeiam esta resposta em eqüinos, provavelmente pela liberação de pirógenos endógenos pelos neutrófilos e macrófagos (BURROWS, 1981; HENRY e MOORE, 1990).

A resposta febril observada em todos os animais a partir dos 240 minutos no grupo I foi tardia em relação àquela observada por Clark e Moore (1989), Morris et al. (1990), Valadão et al. (1995) e Krumrych et al. (1997) subsequente à administração intravenosa de LPS, a despeito de neste estudo ter sido utilizada a injeção intraperitoneal, porém foi coincidente com a detecção da atividade do TNF- α sérico nos animais do grupo III. Assim, as elevações da temperatura retal e das freqüências cardíaca e respiratória observadas neste estudo ocorreram durante a

atividade sérica máxima do TNF- α , às 4 horas, nos animais do GIII (2,63 ng/mL) à semelhança dos achados de Kozak et al. (1998). Esta observação é amparada pelo fato do TNF- α ser o mediador primário da resposta endotoxêmica, conforme descrito por Mackay et al. (1991) e Baskett et al. (1997).

Sabe-se que o LPS pode participar na regulação do apetite durante infecções por microrganismos Gram-negativos. Esta ação poderia estar relacionada com a síntese e a liberação de IL-1 β , IL-6 e TNF- α , mediadores que também participam na resposta febril. Isto poderia justificar o fato de todos os animais estarem inapetentes durante o período em que apresentaram elevações na temperatura corpórea (PLATA-SALAMÁN e BORKOSKI, 1993).

Paralelamente à hipertermia observaram-se efeitos cárdio-respiratórios que incluem taquicardia e hiperpnéia, normalmente 90 minutos após a injeção i.v. de LPS, alterações estas que persistem por até 180-240 minutos (MOORE, 1988; CLARK e MOORE, 1989; DURANDO et al., 1994; VALADÃO et al., 1995; CARGILE et al., 1995b). No entanto, ao contrário das citações anteriores, foram observados aumentos significantes nas freqüências cardíaca e respiratória, fato que embora tenha coincidido com o início da elevação da temperatura retal relatada neste estudo, teve início mais tardio, provavelmente devido à injeção de endotoxina pela via intraperitoneal (PEIRÓ et al., 1999).

A resposta à endotoxemia experimental varia consideravelmente entre os indivíduos (LOCHNER, 1986), bastando observar que os animais de cada grupo apresentaram sinais de endotoxemia em diferentes momentos a despeito dos diferentes tratamentos. Baseado nestes fatos, a lidocaína parece não ter apresentado nenhum efeito benéfico sobre a resposta cardiovascular à endotoxina como demonstrado por Taniguchi et al. (2000), que empregaram dose 40 vezes maior do que a utilizada neste estudo, apesar dos relatos de Fletcher e Ramwell (1978) de que a lidocaína parece aumentar a sensibilidade da musculatura lisa às catecolaminas circulantes, melhorando a função circulatória em cães com choque endotóxico.

A congestão das membranas mucosas observada a partir de 60 minutos da injeção de LPS, no grupo controle e posteriormente nos demais (120 MAI), provavelmente resultou da vasodilatação mediada pelas prostaciclinas, quando os

animais apresentavam as extremidades frias e as membranas mucosas congestas. Tais alterações ocorrem subsequente à fase hiperdinâmica da endotoxemia, caracterizada pela vasoconstrição mediada pela produção de tromboxano (COLLATOS, 1995; NISHINA et al., 1995), observada aos 20 MAI para GII e GIII. Citocinas, como IL-1 e IL-6, podem ter sido induzidas e liberadas na fase inicial logo após a administração da endotoxina, isto é, antes de se iniciar o tratamento com a lidocaína. Estas citocinas podem ativar diversos tipos celulares, incluindo os neutrófilos e os macrófagos. A lidocaína parece ser efetiva no controle da próxima fase relacionada às citocinas, porque mesmo o pré-tratamento com este fármaco possui efeito parcial sobre a atenuação da secreção de citocinas (NISHINA et al., 1995).

Nem a endotoxina nem a lidocaína tiveram qualquer efeito significativo sobre a pressão arterial média (PAM), resposta semelhante àquela encontrada por Fletcher e Ramwell (1978), Lesnefsky et al. (1989) e Kiyonari et al. (2000), ao contrário de Fettman et al. (1984a, 1984b) e Taniguchi et al. (1996) que relataram elevação na PAM em animais tratados com lidocaína em relação ao controle endotoxêmico, e sugeriram que a administração de lidocaína diminui a severidade da hipotensão. A ausência de alterações na PAM neste estudo parece indicar que o sistema cardiovascular dos eqüinos não é tão sensível aos efeitos da lidocaína administrada sistemicamente como em outras espécies, concordando com os achados de Meyer et al. (2001).

Os efeitos da endotoxemia na celularidade sangüínea geralmente são acompanhados por leucopenia, devido à rápida marginação de neutrófilos (HENRY e MOORE, 1990; DURANDO et al., 1994), coincidente com o aumento no número de hemácias circulantes devido contração esplênica com aumento nos valores do hematócrito (WARD et al., 1987; MOORE, 1988; HENRY e MOORE, 1990). Contrariamente aos dados apresentados por MOORE (1988), não se observou aumento no número de hemácias, nem nos valores médios do hematócrito e da hemoglobina, embora se saiba que a hemoconcentração, na endotoxemia, ocorra secundariamente ao aumento da atividade do sistema nervoso simpático (COFFMAN, 1975; HENRY e MOORE, 1990). Isto talvez possa ser explicado por uma resposta catecolaminérgica mais atenuada diferentemente do observado quando o LPS é injetado por via intravenosa.

A diminuição do número de leucócitos seguida pelo aumento de neutrófilos, dentro dos limites normais, observada tardiamente poderia estar associada ao aumento do número de neutrófilos bastonetes à semelhança dos relatos de Moore (1988) e Henry e Moore (1990), devido ao fator estimulador de colônias derivado de macrófagos que aumentam a granulopoiese medular (MORRIS et al., 1990).

Por sua vez, a linfopenia anotada neste estudo durante 5 horas, à semelhança dos achados de Krumrych et al. (1997), talvez possa ser justificada pela liberação de corticosteróides endógenos (LASSEN e SWARDSON, 1995; VALADÃO et al., 1995; PEIRÓ et al., 1999) ou ainda, pela presença de prostaglandina E₂, que atuaria suprimindo a resposta imune e conseqüentemente a proliferação de linfócitos conforme descrito por Bottoms e Adams (1992) e Zinkl e Kabbur (1997). O número de linfócitos diminuiu durante 2 a 4 horas em relação ao valor inicial e permaneceu aproximadamente 70% do valor inicial em todos os grupos, todavia esses valores foram maiores do que aqueles relatados por Burrows (1979) utilizando as vias intravenosa e intraperitoneal em pôneis.

Neste estudo, o hematócrito não se alterou em nenhum dos três grupos conforme já descrito por Cargile et al. (1995a). A redução nas taxas de proteínas totais plasmáticas observada neste estudo pode refletir uma perda destes elementos para o peritônio devido à peritonite, sendo considerado um sinal desfavorável (PARRY, 1987; WHITE, 1990; MORRIS, 1991; VALADÃO, ÁVILA Jr., CAMPOS FILHO, 1996; MENDES et al., 1999), apesar desta diminuição estar dentro dos valores considerados normais para a espécie (WILSON e GORDON, 1987). Reforça esta hipótese a coincidência entre a redução plasmática e o aumento da taxa de proteínas totais no líquido peritoneal, caracterizando uma resposta inflamatória aguda corroborando os achados de Nelson (1979), Milne et al. (1990) e Garma-Aviña (1998). Schmidt et al. (1997) demonstraram que a endotoxemia aumenta o extravasamento de albumina das vênulas mesentéricas para o interstício perivenular. Considerando-se os anestésicos locais como inibidores potentes do extravasamento de plasma durante a peritonite (RIMBÄCK et al., 1988), após queimaduras (CASSUTO et al., 1990) ou na hipertensão pulmonar em coelhos endotoxêmicos (MIKAWA et al., 1994) pode-se considerar que o pré-tratamento com lidocaína parece ter atenuado o aumento da permeabilidade

microvascular induzido pela endotoxina. O maior extravasamento de proteínas plasmáticas para a cavidade abdominal observada neste estudo, pode ter ocorrido devido à ativação do sistema complemento (BONE, 1992) e à liberação de histamina (GREGA e ADAMSKI, 1991). A ativação do complemento é parcialmente induzida pelos leucócitos aderidos (SCHMIDT et al., 1997) e a histamina induz o extravasamento de proteínas independente da adesão de leucócitos (EDWARDS et al., 1992). A lidocaína parece não ter atenuado a ativação do sistema complemento, nem a liberação de histamina pelos mastócitos através de seus efeitos estabilizadores de membrana como relatado por Schmidt et al. (1997) e por Nellgård et al. (1996).

Segundo Ricketts (1987) e Mendes et al. (1999) o aumento do número de células nucleadas peritoneais pode ser utilizado como indicativo de peritonite. Desta maneira, o aumento do número das células nucleadas peritoneais em todos os grupos a partir de 180 minutos poderia ser considerado como indício de inflamação aguda peritoneal. Assim, os polimorfonucleares encontrados compreenderam mais de 70% das células presentes, o que caracterizou uma resposta inflamatória aguda conforme os relatos de Adams et al. (1980), Brownlow (1982) e Brownlow (1983). Ao contrário dos dados da literatura (FLETCHER e RAMWELL, 1978; SMITH et al., 1978; MacGREGOR et al., 1980; SINCLAIR et al., 1993; MATSUMORI et al., 1997; SCHMIDT et al., 1997), a lidocaína não foi capaz de atenuar o extravasamento de leucócitos para a cavidade peritoneal, talvez pelo fato do LPS, quando administrado intraperitonealmente, ativar a migração de macrófagos para a cavidade abdominal, induzindo a participação de outros fatores, além do quimiotático para neutrófilos derivado de macrófagos, no controle deste processo. Desta maneira, a maior população de neutrófilos peritoneais poderia ser justificada pela quimiotaxia induzida pelo LPS “per se”, modulada pelos macrófagos residentes, que inicialmente deflagariam a migração de neutrófilos (SOUZA e FERREIRA, 1985; CUNHA et al., 1986; FACCIOLI et al., 1990; PEIRÓ et al., 1999). Este aumento do número de leucócitos poderia ter um efeito benéfico no tratamento da endotoxemia, uma vez que a doença se caracteriza por leucopenia (BASKETT et al., 1997).

Dados recentes sugerem que os anestésicos locais amídicos possuem propriedades antiinflamatórias com poucos efeitos colaterais nas concentrações

utilizadas na prática clínica (SINCLAIR et al., 1993). Um mecanismo possível para a inibição da migração e acúmulo de leucócitos pelos anestésicos locais poderia ser pela redução da aderência dos leucócitos em superfícies diferentes *in vitro* e *in vivo*. Portanto, parte dos efeitos antiinflamatórios pelos anestésicos locais pode ser devido à inibição da liberação de mediadores, como citocinas (como a IL-1) e leucoatraentes (LTB₄) de monócitos e macrófagos.

A livre difusão dos constituintes plasmáticos para o líquido peritoneal o caracteriza como um dialisado do plasma, fato que estabelece uma alta correlação entre as concentrações plasmática e peritoneal de diferentes substâncias (PARRY e BROWNLOW, 1992).

Foram registradas alterações nas taxas plasmática e peritoneal de glicose, comprovado-se uma maior concentração peritoneal deste elemento bioquímico conforme já havia sido descrito por Brownlow et al. (1981) e van Hoogmoed et al. (1999). A discrepância entre as concentrações de glicose plasmática e peritoneal pode resultar do tempo insuficiente para que ocorra o equilíbrio entre o sangue e o líquido peritoneal e/ou da utilização da glicose pelas células inflamatórias (DeHEER et al., 2002). A diminuição significativa da glicose no líquido peritoneal talvez venha a ser justificada pelo maior número de células inflamatórias em todos os grupos, que provavelmente aumentariam o consumo da glicose disponível que é necessária para o bom funcionamento das células fagocitárias (PARRY e BROWNLOW, 1992; van HOOGMOED et al., 1999) ou também pela não ocorrência de um quadro severo de endotoxemia que talvez acarretasse maior consumo de glicose (WITTWER, 1988; HENRY e MOORE, 1990; MacKAY, 1992; PEIRÓ et al., 1999). O aumento da glicose plasmática aos 360 MAI pode indicar o momento de equilíbrio entre o plasma e o líquido peritoneal ou de uma discreta hiperglicemia (PARRY e BROWNLOW, 1992) devido à ação de hormônios endógenos como o glucágon, corticosteróides, catecolaminas e uma variedade de mediadores secretados por macrófagos durante a endotoxemia (LAVOIE et al., 1990), ou via ação de estabilização de membrana, pode ter melhorado a perfusão tecidual periférica e/ou metabolismo celular o suficiente para reduzir o consumo de glicose aos 360 MAI, à semelhança do que ocorre em suínos tratados com lidocaína (FETTMAN et al., 1984a). Por outro lado, Webel et al. (1997) não encontraram

alterações significantes nas taxas plasmáticas de glicose após a injeção intraperitoneal de LPS em suínos, na mesma dose utilizada neste estudo.

O aumento da atividade da fosfatase alcalina no líquido peritoneal é dependente da desvitalização das camadas da parede do intestino delgado. Embora a maioria dos cavalos com cólica apresentem lesão intestinal de moderada à severa, existe a possibilidade de aumento na atividade desta enzima sem lesões evidentes nesta porção intestinal. Considerando que os leucócitos granulócitos peritoneais possuem grandes quantidades de fosfatase alcalina, os mesmos poderiam ser responsáveis pelo aumento da atividade desta enzima no líquido peritoneal (FROSCHER e NAGODE, 1979; FROSCHER e NAGODE, 1981; BEHRENS et al., 1990; STOCKHAM, 1995). Portanto, o aumento da atividade da fosfatase alcalina aqui observado talvez possa ser explicado pela maior destruição da população de leucócitos granulócitos peritoneais mais relacionada ao insulto endotoxêmico do que por uma lesão da parede intestinal, corroborando os achados de Carlson (1996) e Peiró et al. (1999).

De acordo com a classificação de Wittwer (1988), as variações da atividade da fosfatase alcalina peritoneal pode caracterizar o grau de inflamação severo em todos os grupos, pois os valores da atividade média da fosfatase alcalina foram superiores aos encontrados no líquido peritoneal de animais normais por Brownlow et al. (1981). Este fato poderia estar relacionado à injeção intraperitoneal do LPS supondo-se uma resposta maior à agressão celular ou ainda, uma maior destruição de granulócitos no líquido peritoneal (FROSCHER e NAGODE, 1979; FROSCHER e NAGODE, 1981; WITTWER, 1988; PEIRÓ et al., 1999).

As variações nas taxas da creatina quinase peritoneal, à semelhança da fosfatase alcalina, podem caracterizar o grau de inflamação na cavidade peritoneal segundo Wittwer (1988). Pode-se classificar o grau de inflamação em severo nos três grupos, uma vez que os valores da atividade média da creatina quinase foram superiores aos encontrados no líquido peritoneal de animais normais por Brownlow et al. (1981).

O líquido peritoneal normal contém uma quantidade muito pequena de fibrinogênio (BROWNLOW et al. 1981; WILSON e GORDON, 1987; PARRY e BROWNLOW, 1992), sendo a taxa deste elemento maior na presença de lesões

inflamatórias (COLLATOS et al., 1995). Desta maneira, a elevação da taxa do fibrinogênio observada no grupo III talvez possa ter refletido a ocorrência de extravasamento vascular, inflamação ativa ou mesmo ambos, pois segundo Wilson e Gordon (1987) e Mendes et al. (1999) estas alterações estariam relacionadas a taxas de fibrinogênio superiores a 100 mg/dL. Apesar das taxas de fibrinogênio terem aumentado em todos os grupos a partir dos 60 MAI, sendo valores muito superiores aos relatados por Collatos et al. (1995), sugerindo uma inflamação ativa, observou-se no grupo III durante o mesmo período taxas até 60% menores, sugerindo talvez que a lidocaína infundida 20 minutos após o LPS tenha controlado esta inflamação, fato também encontrado em estudos de Fletcher e Ramwell (1978) talvez diminuindo a atividade pró-coagulante dos macrófagos peritoneais (COLLATOS et al., 1995).

Após observarem o aumento da atividade do TNF- α no soro de cavalos até 4 horas após a injeção intravenosa de endotoxina, Morris et al. (1992) sugeriram uma correlação positiva entre a atividade sérica do TNF e a ocorrência de cólica nos eqüinos, especialmente na presença de lesões isquêmicas ou inflamação da parede intestinal. A resposta endotoxêmica, avaliada através da atividade do TNF- α , observada nos três grupos apresentou comportamento semelhante ao descrito por Peiró et al. (1999), atingindo um pico por volta dos 120 minutos no líquido peritoneal. Diferentemente, no soro destes animais, o aumento de atividade desta citocina ocorreu aos 240 minutos. Webel et al. (1997) não observaram o aumento da concentração plasmática do TNF utilizando a mesma dose de LPS e via de aplicação deste estudo. Este efeito somente foi observado com uma dose 100 vezes superior à utilizada neste estudo. A atividade sérica do TNF- α aumenta logo após a exposição à endotoxina em várias espécies, incluindo eqüinos, seres humanos, ratos e primatas não-humanos (CANNON et al., 1990; MARTICH et al., 1991; MORRIS et al., 1991; van LEENEN et al., 1993). A magnitude da atividade do TNF em eqüinos após a administração de endotoxina é extremamente variável, mesmo dentro dos grupos de tratamento (MORRIS et al., 1990). Esta variação foi semelhantemente observada nos animais deste estudo. A lidocaína parece ter sido mais efetiva quando aplicada após a injeção de endotoxina, pois foi capaz de diminuir a atividade do TNF- α no líquido peritoneal, no grupo III.

Os aumentos nos números de células nucleadas totais, de polimorfonucleares e de monócitos-macrófagos no líquido peritoneal após a injeção i.p. de LPS podem ser explicados pela produção de citocinas (IL-1, TNF- α , IL-8) e eicosanóides (leucotrienos), visto que o LPS induz a liberação destes mediadores, os quais causam uma migração de neutrófilos dose e tempo-dependente em humanos (MING et al., 1987), ratos e camundongos (FACCIOLI et al., 1990). Interessantemente, a migração de neutrófilos induzida pela administração de LPS, ou mesmo por IL-1, obedece uma curva dose-resposta em forma de sino, ou seja, em altas doses estas substâncias não promovem o recrutamento de neutrófilos. A explicação para este fenômeno é que devido à lipossolubilidade do LPS ou mesmo das citocinas, quando administrados em doses altas alcançam o sistema circulatório causando o bloqueio da migração de neutrófilos para o local inflamatório. Isto é verdadeiro, pois o LPS ou o TNF- α quando administrados i.v. causam inibição da migração de leucócitos para os sítios inflamatórios induzida por vários estímulos, incluindo-se o próprio LPS (TAMASHIRO et al., 1992; TAVARES-MURTA et al., 1996; CECÍLIO et al., 1997). O mecanismo sugerido para a inibição da migração é que o LPS ou as citocinas, quando presentes na corrente circulatória, estimulam o aumento da aderência dos neutrófilos ao endotélio vascular, impedindo sua transmigração para o tecido extravascular. Este aumento da adesão também explica a leucopenia observada durante a endotoxemia (ROCHA e FERREIRA, 1986; CECÍLIO et al., 1997). Neste estudo foi observada uma diminuição do número de leucócitos no grupo III devido, possivelmente, à atividade do TNF- α ter sido detectada na circulação aos 240 MAI. Embora a resposta leucopênica em eqüinos expostos ao LPS não parecer ser totalmente mediada pelo TNF, esta citocina desempenha um papel importante na manutenção da resposta leucopênica em eqüinos e em outras espécies (MORRIS et al., 1990; CARGILE et al., 1995a; BASKETT et al., 1997; PEIRÓ, 1997), pois a quimiotaxia de fagócitos da corrente circulatória induzida pelo TNF contribui na resistência contra agentes nocivos (MING et al., 1987).

Na resposta inflamatória aguda, os macrófagos residentes agem como células de alarme disparando vários mecanismos de defesa na tentativa de proteger o hospedeiro contra os estímulos lesivos (FERREIRA, 1980). O LPS é um dos vários estímulos que promovem a liberação de um fator quimiotático para neutrófilos e de IL-1 pelos

macrófagos. A intensidade da liberação depende da concentração de LPS e, quando injetado na cavidade abdominal de ratos, promove uma migração de neutrófilos dose-dependente sem efeito sobre a contagem total de mononucleares (CUNHA e FERREIRA, 1986; WANG et al., 1998). Contrariamente, a migração maior ocorreu em todos os grupos, independentemente dos tratamentos realizados neste estudo.

Joubert et al. (2001) demonstraram que os neutrófilos de eqüinos expressam RNAm para $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ e IL-6 , que são citocinas pró-inflamatórias potentes, e para as quimiocinas IL-8 e proteína inflamatória de macrófago (MIP)-2, as quais têm sido implicadas na imunomodulação da resposta de fase aguda (CASSATELA, 1999). Esta expressão é tempo dependente e mesmo embora a produção de citocinas com base na célula individual tenha sido demonstrada em outras espécies ser menor em neutrófilos do que em células mononucleares, este fato pode ser compensado pela maior predominância de neutrófilos em muitas doenças inflamatórias de eqüinos. Esta produção de citocinas pró-inflamatórias pelos neutrófilos pode ter auxiliado no recrutamento de mais neutrófilos para o líquido peritoneal neste estudo.

Apesar do aumento no número de células inflamatórias, os animais tratados com lidocaína após o “bolus” de LPS apresentaram uma menor atividade do $\text{TNF-}\alpha$, podendo-se supor que este tratamento seja efetivo no combate à endotoxemia, uma vez que a lidocaína parece ter um efeito protetor no choque endotóxico em humanos (FLETCHER e RAMWELL, 1978). Além disso, uma combinação de tratamentos que não abole completamente a produção de prostanoídes poderia ser útil no tratamento da endotoxemia (BASKETT et al., 1997). Devido ao tratamento de cavalos endotoxêmicos com lidocaína não ter causado efeitos inibitórios sobre a migração de PMNs como previamente relatado em estudos *in vivo* em outras espécies (FLETCHER e RAMWELL, 1978; SMITH et al., 1978; MacGREGOR et al., 1980; SINCLAIR et al., 1993; MATSUMORI et al., 1997; SCHMIDT et al., 1997), é possível que uma dose mais alta de lidocaína seja necessária para se obter este efeito em eqüinos.

5 CONCLUSÕES

Com base nos achados clínicos e laboratoriais deste estudo, pode-se concluir que:

5.1 A utilização da lidocaína após a administração do LPS foi mais efetiva para a inibição da produção do $\text{TNF-}\alpha$, muito embora não tenha impedido o aumento do número de células inflamatórias;

5.2 A lidocaína foi um fármaco seguro na dose empregada, não induzindo efeitos colaterais semelhantes aos descritos na literatura;

5.3 A infusão contínua de lidocaína poderia auxiliar no tratamento de doenças inflamatórias da cavidade peritoneal, uma vez que as taxas de fibrinogênio estiveram diminuídas nos animais que receberam um bolus do fármaco seguido de infusão contínua 20 minutos após a aplicação da endotoxina.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, S.B.; FESSLER, J.F.; REBAR, A.H. Cytologic interpretations of peritoneal fluid in the evaluation of equine abdominal crises. *Cornell Vet.*, v.70, p.232-46, 1980.
- AKIRA, S. Toll-like receptors: lessons from knockout mice. *Biochem. Soc. Trans.*, v.28, p.551-56, 2000.
- ASTIZ, M.E. et al. Comparison of the induction of endotoxin tolerance in endotoxemia and peritonitis by monophosphoryl lipid A and lipopolysaccharide. *Circ. Shock*, v.39, p.194-98, 1993.
- ASTIZ, M.E. et al. Induction of endotoxin tolerance with monophosphoryl lipid A in peritonitis: Importance of localized therapy. *J. Lab. Clin. Med.*, v.123, n.1, p.89-93, 1994.
- ASTIZ, M.E. et al. Pretreatment of normal humans with monophosphoryl lipid A induces tolerance to endotoxin: A prospective, double-blind, randomized, controlled trial. *Crit. Care Med.*, v.23, n.1, p.9-17, 1995.
- AZUMA, Y. et al. Comparison of inhibitory effects of local anesthetics on immune functions of neutrophils. *Int. J. Immunopharmacol.*, v.22, p.789-96, 2000.
- AZUMA, Y. et al. Differentiation by *in vitro* treatment of lidocaine-epinephrine and prilocaine-felypressine in neutrophils. *Immunol. Letters*, v.77, p.151-58, 2001.
- BANKERS-FULBRIGHT, J.L. et al. Sulfonylureas inhibit cytokine-induced eosinophil survival and activation. *J. Immunol.*, v.160, p.5546-53, 1998.
- BARTON, M.H. Endotoxemia. In: WHITE, N.A.; MOORE, J.N. **Current techniques in equine surgery and lameness**. 2. ed., Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. p.298-303.
- BARTON, M.H. Use of polymyxin B for treatment of endotoxemia in horses. *Comp. Cont. Edu. Pract. Vet.*, v.22, n.11, p.1056-59, 2000.
- BARTON, M.H.; COLLATOS, C. Tumor necrosis factor and interleukin-6 activity and endotoxin concentration in peritoneal fluid and blood of horses with acute abdominal disease. *J. Vet. Intern. Med.*, v.13, n.5, p. 457-464, 1999.
- BARTON, M.H.; COLLATOS, C; MOORE, J.N. Endotoxin induced expression of tumor necrosis factor, tissue factor and plasminogen activator inhibitor activity by peritoneal macrophages. *Equine Vet. J.*, v.28, n.3, p.382-89, 1996.

- BARTON, M.H; COLLATOS, C.; MOORE, J.N. Cytokine production in the serum and peritoneal fluid of horses with acute gastrointestinal disease. *J. Vet. Internal Med.*, v.7, p.146, 1993.
- BASKETT, A. et al. Effect of pentoxifylline, flunixin meglumine, and their combination on a model of endotoxemia in horses. *Am. J. Vet. Res.*, v.58, 1291-1299, 1997.
- BAXTER, G.M. Alterations of endothelium-dependent digital vascular responses in horses given low-dose endotoxin. *Vet. Surg.*, v.24, p.87-96, 1995.
- BEHRENS, E. Reference values for equine peritoneal fluid from healthy foals. *J. Equine Vet. Sci.*, v.10, n.5, p.348-52, 1990.
- BEUTLER, B. et al. Control of cachectin (tumor necrosis factor) synthesis: mechanisms of endotoxin resistance. *Science*, v.232, p.977-80, 1986.
- BOCHSLER, P.N.; SLAUSON, D.O.; NEILSEN, N.R. Secretory activity of equine polymorphonuclear leukocytes: stimulus specificity and priming effects of bacterial lipopolysaccharide. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.31, p.242-53, 1992.
- BONE, R.C. Inhibitors of complement and neutrophils: a critical evaluation of their role in the treatment of sepsis. *Crit. Care Med.*, v.20, p.891-98, 1992.
- BOTTOMS, G.D., ADAMS, H.R. Involvement of prostaglandins and leukotrienes in the pathogenesis of endotoxemia and sepsis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.200, n.12, p.1842-48, 1992.
- BOURY, N.M. et al. Comparison of the PK(15)- and WEHI 164 (clone13)- based bioassays for detection of porcine tumor necrosis factor. *Am. J. Vet. Res.*, v.58, n.10, p.1115-19, 1997.
- BOWMAN, K.F. Peritonitis and peritoneal drainage. In: WHITE II, N.A. **Current practice of equine surgery**. Philadelphia: Lippincott, 1990. p.377-82.
- BROWNLOW, M.A. Mononuclear phagocytes of peritoneal fluid. *Equine Vet. J.*, v.14, n.2, p.325-28, 1982.
- BROWNLOW, M.A. Polymorphonuclear neutrophil leukocytes of peritoneal fluid. *Equine Vet. J.*, v.15, n.1, p.22-24, 1983.
- BROWNLOW, M.A., HUTCHINS, D.R., JOHNSTON, K.G. Reference values for equine peritoneal fluid. *Equine Vet. J.*, v.13, n.2, p.127-130, 1981.

- BROWNLOW, M.A.; HUTCHINS, D.R.; JOHNSTON, K.G. Mesothelial cells of peritoneal fluid. *Equine Vet. J.*, v.14, n.1, p.86-88, 1982.
- BULGER, E.M.; MAIER, R.V. Lipid mediators in the pathophysiology of critical illness. *Crit. Care Med.*, v.28, p.N27-N36, 2000.
- BURROWS, G.E. Endotoxemia in the horse. *Equine Vet. J.*, v.13, n.2, p.89-94, 1981.
- BURROWS, G.E. Equine *Escherichia coli* endotoxemia: comparison of intravenous and intraperitoneal endotoxin administration. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, n.7, p.991-98, 1979.
- BURROWS, G.E. *Escherichia coli* endotoxemia in the conscious pony. *Am. J. Vet. Res.*, v.32, p.243-48, 1971.
- BURROWS, G.E. Hemodynamic alterations in the anesthetized pony produced by slow intravenous administration of *Escherichia coli* endotoxin. *Am. J. Vet. Res.*, v.31, p.1975-82, 1970.
- BURROWS, G.E.; CANNON, J. Endotoxemia induced by rapid intravenous injection of *Escherichia coli* in anesthetized ponies. *Am. J. Vet. Res.*, v.31, p.1967-73, 1970.
- CANNON, J.G. et al. Circulatory interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic shock and experimental endotoxin fever. *J. Infect. Dis.*, v.161, p.79-84, 1990.
- CARGILE, J.L. et al. Effect of treatment with a monoclonal antibody against equine tumor necrosis factor (TNF) on clinical, hematologic, and circulating TNF responses of Miniature Horses given endotoxin. *Am. J. Vet. Res.*, v.56, n.11, p.1451-59, 1995a.
- CARGILE, J.L. et al. Effects of tumor necrosis factor blockade on interleukin 6, lactate, thromboxane, and prostacyclin responses in Miniature Horses given endotoxin. *Am. J. Vet. Res.*, v.56, n.11, p.1445-50, 1995b.
- CARLSON, G.P. Clinical chemistry tests. In: SMITH, B.P. **Large animal internal medicine**, 2^a ed. St. Louis: Mosby, 1996. p.441-69.
- CASSATELA, M.A. Neutrophil-derived proteins: selling cytokines by the pound. *Adv. Immunol.*, v.73, p.369-509, 1999.
- CASSUTO, J. et al. Amide local anesthetics reduce albumin extravasation in burn injuries. *Anesthesiology*, v.72, p.302-07, 1990.
- CECÍLIO, C.A. et al. The neutrophil migration induced by tumour necrosis factor alpha in mice is unaffected by glucocorticoids. *Mediat. Inflamm.*, v.6, 46-52, 1997.

- CEDERHOLM, I. et al. Effects of five amino-amide local anaesthetic agents on human polymorphonuclear leukocytes measured by chemiluminescence. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, v.38, p.704-10, 1994.
- CLARK, E.S.; GANTLEY, B.; MOORE, J.N. Effects of slow infusion of a low dosage of endotoxin on systemic haemodynamics in conscious ponies. *Equine Vet. J.*, v.23, p.18-21, 1991.
- CLARK, E.S.; MOORE, J.N. The effects of slow infusion of a low dosage of endotoxin in healthy horses. *Equine Vet. J.*, suppl.7, p.33-37, 1989.
- COFFMAN, J.R. Monitoring and evaluating the physiological changes in the horse with acute abdominal disease. *J. South Africa Vet. Assoc.*, v.46, n.1, p.111-14, 1975.
- COLLATOS, C. Clinical conditions associated with endotoxemia. In: ANNUAL AAEP CONVENTION, Lexington, 1995. **Proceedings**. Lexington: American Association of Equine Practitioners, 1995, p.103-06.
- COLLATOS, C. et al. Intravascular and peritoneal coagulation and fibrinolysis in horses with acute gastrointestinal tract diseases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.207, n.4, p.465-70, 1995.
- COLLATOS, C. et al. Intravascular and peritoneal coagulation and fibrinolysis in horses with acute gastrointestinal tract diseases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.207, n.4, p.465-70, 1995.
- COLLATOS, C. et al. Regulation of equine fibrinolysis in blood and peritoneal fluid based on a study of colic cases and induced endotoxaemia. *Equine Vet. J.*, v.26, n.6, p.474-81, 1994.
- COLLATOS, C., BARTON, M.H., MOORE, J.N. Fibrinolytic activity in plasma from horses with gastrointestinal diseases: changes associated with diagnosis, surgery, and outcome. *J. Vet. Internal Med.*, v.9, p.18-23, 1995.
- CUEVAS, P.; FINE, J. Role of intraintestinal endotoxin in death from peritonitis. *Surg. Gynecol. Obstetrics*, v.124, p.953-57, 1972.
- CULLOR, J.S. Shock attributable to bacteremia and endotoxemia in cattle: clinical and experimental findings. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.200, n.12, p.1894-1902, 1992.

- CUNHA, F.Q., FERREIRA, S.H. The release of a neutrophil chemotactic factor from peritoneal macrophages by endotoxin: inhibition by glucocorticoids. *Eur. J. Pharmacol.*, v.129, p.65-76, 1986.
- CUNHA, F.Q., SOUZA, G.E.P., FERREIRA, S.H. Macrophages stimulated with lipopolysaccharide release a selective neutrophil chemotactic factor: an in vivo demonstration. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v.19, 775-777, 1986.
- CUNNINGHAM, F.M., LEES, P. Advances in anti-inflammatory therapy. *Br. Vet. J.*, v.150, 115-134, 1994.
- DECCO, M.L. et al. Nebulized lidocaine in the treatment of severe asthma in children: a pilot study. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, v.82, p.29-32, 1999.
- DeHEER, H.L. et al. Peritoneal fluid. In: COWELL, R.L.; TYLER, R.D. **Diagnostic cytology and hematology of the horse**, 2^a ed. St. Louis: Mosby, 2002. p.127-62.
- DICKSTEIN, R. et al. Effects of lidocaine on the function of immunocompetent cells. I. *In vitro* exposure of mouse spleen lymphocytes and peritoneal macrophages. *Immunopharmacol.*, v.9, p.117-25, 1985.
- DURANDO, M.M. Effects of polymyxin B and Salmonella typhimurium antiserum on horses given endotoxin intravenously. *Am. J. Vet. Res.*, v.55, 921-927, 1994.
- EDWARDS, G.B. et al. Identification of tumor necrosis factor in the peritoneal fluid of horses with colic. In: EQUINE COLIC SYMPOSIUM, Georgia, 1991. **Proceedings**. Athens: Georgia Center for Continuing Education, 1991. p.38.
- EDWARDS, M.J. Mast cell degranulation inhibits IL-2-induced microvascular protein linkage. *J. Surg. Res.*, v.52, p.429-35, 1992.
- ENGELKING, L.R. et al. Pharmacokinetics of antipyrine, acetaminophen, and lidocaine in fed and fasted horses. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, v.10, p.73-82, 1987.
- FACCIOLI, L.H. et al. (1990) Recombinant interleukin-1 and tumor necrosis factor induce neutrophil migration "in vivo" by indirect mechanisms. *Agents Actions*, v.30, 344-349.
- FENTON, M.J.; GOLENBOCK, D.T. LPS-binding proteins and receptors. *J. Leukoc. Biol.*, v.64, p.25-32, 1998.
- FERREIRA, S.H. Are macrophages the body's alarm cells? *Agents Actions*, v.10, p.229-230, 1980.

- FESSLER, J.F. et al. Plasma endotoxin concentrations in experimental and clinical equine subjects. *Equine Vet. J.*, suppl.7, p.24-28, 1989.
- FETTMAN, M.J. Endotoxemia in Yucatan miniature pigs: metabolic derangements and experimental therapies. *Lab. Anim. Sci.*, v.36, n.4, p.370-74, 1986.
- FETTMAN, M.J. et al. Lidocaine therapy in awake endotoxemic Yucatan minipigs. I. Metabolic parameters and glucose biokinetics. *Circ. Shock*, v.13, n.2, p.193, 209, 1984.
- FETTMAN, M.J. et al. Lidocaine therapy in awake endotoxemic Yucatan minipigs. II. Hepatosplanchnic metabolism. *Circ. Shock*, v.13, n.2, p.211-26, 1984b.
- FINK, M.P.; HEARD, S.O. Current research review: laboratory models of sepsis and septic shock. *J. Surg. Res.*, v.49, p.186-96, 1990.
- FISCHER, L.G. et al. Local anesthetics attenuate lysophosphatidic acid-induced priming in human neutrophil. *Anesth. Analg.*, v.92, p.1041-47, 2001.
- FLETCHER, J.R. Eicosanoids: critical agents in the physiological process and cellular injury. *Arch. Surg.*, v.128, p.1192-96, 1993.
- FLETCHER, J.R.; RAMWELL, P.W. *E. coli* endotoxin shock in the dog; treatment with lidocaine or indomethacin. *Br. J. Pharmac.*, v.64, 185-191, 1978.
- FLICK, D.A.; GIFFORD, G.E. Comparison of in vivo cell cytotoxic assays for tumor necrosis factor. *J. Immunol. Methods*, v.68, p.167-75, 1984.
- FROSCHER, B.G., NAGODE, L.A. Isoenzymes of equine alkaline phosphatase. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, 1514-1517, 1979.
- FROSCHER, B.G., NAGODE, L.A. Origin and importance of increased alkaline phosphatase activity in peritoneal fluids of horses with colic. *Am. J. Vet. Res.*, v.42, 888-91, 1981.
- GARMA-AVIÑA, A. Cytology of 100 samples of abdominal fluid from 100 horses with abdominal disease. *Equine Vet. J.*, v.30, n.5, p.435-44, 1998.
- GIROIR, B.P. Mediators of septic shock: new approaches for interrupting the endogenous inflammatory cascade. *Crit. Care Med.*, v.21, n.5, p.780-89, 1993.
- GOEL, R.K. et al. Effect of lignocaine on eicosanoid synthesis by pieces of human gastric mucosa. *J. Pharm. Pharmacol.*, v.46, p.319-20, 1994.

- GREGA, G.J.; ADAMSKI, S.W. Differential effects of inhibitors of cellular function on inflammatory mediator-stimulated increases in vascular permeability. *Microcirc. Endothelium Lymphatics*, v.7, p.217-44, 1991.
- HACK, C.E. et al. Role of cytokines in sepsis. *Adv. Immunol.*, v.66, p.101-195, 1997.
- HAMILTON, D.P.; HARDENBROOK, H.J. Abdominal paracentesis in the horse. **Veterinary Medicine and Small Animal Clinician**, v.5, p.519-22, 1973.
- HARDIE, E.M.; KRUSE-ELLIOT, K. Endotoxic shock. Part I: a review of causes. *J. Vet. Internal Med.*, v.4, n.5, p.258-66, 1990.
- HATTORI, M. et al. The inhibitory effects of local anesthetics on superoxide generation of neutrophils correlate with their partition coefficients. *Anesth. Analg.*, v.84, p.405-12, 1997.
- HENRY, M.M., MOORE, J.N. Equine endotoxemia. In: SMITH, B.P. **Large animal internal medicine**. Saint Louis: Mosby, 1990. p.668-74.
- HYVÖNEN, P.M.; KOWOLIK, M.J. Dose-dependent suppression of the neutrophil respiratory burst by lidocaine. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, v.42, n.5, p.565-69, 1998.
- JOSEPHSON, I.R. (1988) citado por SCHMID, R.A. et al. Lidocaine reduces reperfusion injury and neutrophil migration in canine lung allografts. *Ann. Thorac. Surg.*, v.61, p.949-55, 1996.
- JOUBERT, P. et al. Equine neutrophils express mRNA for tumour necrosis factor- α , interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-8, macrophage-inflammatory-protein-2 but not for IL-4, IL-5 and interferon- γ . *Equine Vet. J.*, v.33, n.7, p.730-33, 2001.
- JUZWIAK, J.S. et al. The effect of repeated abdominocentesis on peritoneal fluid constituents in the horse. *Vet. Res. Commun.*, v.15, n.3, p. 177-180, 1991.
- KENISON, D.C. et al. Tumor necrosis factor as a potential mediator of acute metabolic and hormonal responses to endotoxemia in calves. *Am. J. Vet. Res.*, v.52, n.8, p.1320-26, 1991.
- KING, J.N.; GERRING, E.L. Detection of endotoxin in cases of equine colic. *Vet. Rec.*, v.123, p.269-71, 1988.
- KIYONARI, Y. et al. Lidocaine attenuates acute lung injury induced by a combination of phospholipase A₂ and trypsin. *Crit. Care Med.*, v.28, n.2, p.484-89, 2000.

- KOZAK, W. et al. IL-6 and IL-1 β in fever. Studies using cytokine-deficient (knockout) mice. *Ann. New York Acad. Sci.*, v.856, p.33-47, 1998 .
- KRUM RYCH, W. et al. Activation of blood neutrophils in horses with the use of different doses of endotoxin. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, v.41, p.41-47, 1997.
- KRUTZIK, S.R. et al. The role of toll-like receptors in host defense against microbial infection. *Curr. Opin. Immunol.*, v.13, p.104-08, 2001.
- LASSEN, E.D.; SWARDSON, C.J. Hematology and hemostasis in the horse: normal functions and common abnormalities. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, v.11, n.3, p.351-89, 1995.
- LAVOIE, J.P. et al. Haemodynamic, pathological, haematological and behavioural changes during endotoxin infusion in equine neonates. *Equine Vet. J.*, v.22, n.1, p.23-29, 1990.
- LESNEFSKY, E.J. et al. Lidocaine reduces canine infarct size and decreases release of a lipid peroxidation product. *J. Cardiovascular Pharmacol.*, v.13, p.895-901, 1989.
- LING, P.R. et al. Effects of systemic infusions of endotoxin, tumor necrosis factor, and interleukin-1 on glucose metabolism in the rat: relationship to endogenous glucose production and peripheral tissue glucose uptake. *Metabolism*, v.43, n.3, p.279-84, 1994.
- LOCHNER, F.K. The use of allopurinol in an endotoxin shock model in the horse. In: EQUINE COLIC RESEARCH SYMPOSIUM, Athens, 1986. **Proceedings**. Athens: 1986, p.39.
- MABIKA, M.; LABURN, H. The role of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in fever and the acute phase reaction in rabbits. *Eur. J. Physiol.*, v.438, p.218-23, 1999.
- MacKAY, R.J. Endotoxemia In: ROBINSON, N.E. **Current therapy in equine medicine**. 3. ed., Philadelphia: W.B. Saunders, 1992. p. 225-232.
- MacKAY, R.J. et al. Tumor necrosis factor activity in the circulation of horses given endotoxin. *Am. J. Vet. Res.*, v.52, n.4, p.533-38, 1991.
- MacGREGOR, R.R. et al. Lidocaine inhibits granulocyte adherence and prevents granulocyte delivery to inflammatory sites. *Blood*, v.56, n.2, p.203-09, 1980.

- MALONE, E.D., Turner, T.A. and Wilson, J.H. Intravenous lidocaine for the treatment of ileus in the horse. In: EQUINE COLIC RESEARCH SYMPOSIUM, Athens, 1994. **Proceedings**. Athens: 1994, p.39.
- MALONE, E.D., Turner, T.A. and Wilson, J.H. Intravenous lidocaine for the treatment of equine ileus. In: EQUINE COLIC RESEARCH SYMPOSIUM, Athens, 1998. **Proceedings**. Athens: 1998, p.42.
- MARTICH, G.D. et al. Detection of interleukin-8 and tumor necrosis factor in normal humans after intravenous endotoxin: the effect of antiinflammatory agents. *J. Exp. Med.*, v.173, p.1021-24, 1991.
- MATSUMORI, A. et al. (1997) Amiodarone inhibits production of tumor necrosis factor-alpha by human mononuclear cells: a possible mechanism for its effect in heart failure. *Circulation*, v.96, 1386-1389.
- MEANS, T.K. et al. The biology of toll-like receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.*, v.11, p.219-32, 2000.
- MENDES, L.C.N. et al. Experimental peritonitis in horses: peritoneal fluid composition. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.51, n.3, p.217-21, 1999.
- MENDES, L.C.N. et al. Avaliação laboratorial do fluido peritoneal em modelos experimentais utilizados para indução de reação inflamatória intra-abdominal em eqüinos. *Rev. Edu. Cont. CRMV-SP*, v.3, n.3, p.21-27, 2000.
- MEUER, S.C. (1994) citado por ZINKL, J.G.; KABBUR, M.B. Neutrophil function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (ed.), San Diego: Academic Press, 1997. p.285-302.
- MEYER, G.A. et al. Effects of intravenous lidocaine overdose on cardiac electrical activity and blood pressure in the horse. *Equine Vet. J.*, v.33, n.5, p.434-37, 2001.
- MEYER, G.A.; HANSON, R.R. Nonstrangulating obstruction of the small intestine in the horse. *Equine Vet. Edu.*, v.12, n.3, p.150-59, 2000.
- MIKAWA, K. et al. 1994. Effect of lidocaine pretreatment on endotoxin-induced lung injury in rabbits. *Anesthesiology*, v.81, n.3, p.689-99.
- MILNE, E.M. et al. Analysis of peritoneal fluid as a diagnostic aid in grass sickness (equine dysautonomia). *Vet. Rec.*, v.127, p.162-65, 1990.

- MING, W.J. et al. Tumor necrosis factor is chemotactic for monocytes and polymorphonuclear leukocytes. *J. Immunol.*, v.138, n.5, p.1469-74, 1987.
- MOORE, J.N. Recognition and treatment of endotoxemia. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, v.4, 105-113, 1988.
- MOORE, J.N. II: a perspective on endotoxemia. In: ANNUAL AAEP CONVENTION, San Diego, 2001. **Proceedings**. Lexington: American Association of Equine Practitioners, 2001, p.61-74.
- MOORE, J.N. Introduction to endotoxemia. In: ANNUAL AAEP CONVENTION, Lexington, 1995. **Proceedings**. Lexington: American Association of Equine Practitioners, 1995, p.100-02.
- MOORE, J.N.; BARTON, M.H. Endotoxemia. In: WATSON, T. **Metabolic and endocrine problems of the horse**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p.151-65.
- MOORE, J.N. et al. Equine endotoxemia: na insight into cause and treatment. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.179, n.5, p.473-77, 1981.
- MOORE, J.N.; MORRIS, D.D. Endotoxemia and septicemia in horses: experimental and clinical correlates. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.200, n.12, p.1903-14, 1992.
- MOORE, R.M. et al. Systemic and colonic venous plasma eicosanoid and endotoxin concentrations, and colonic venous serum tumor necrosis factor and interleukin-6 activities in horses during low-flow ischemia and reperfusion of large colon. *Am. J. Vet. Res.*, v.56, n.5, 1995.
- MOORE, R.M.; MORRIS, D.D. Endotoxemia and septicemia in horses: experimental and clinical correlates. *J. Am. Med. Assoc.*, v.200, p.361-74, 1992.
- MORRESEY, P.R. Synthesis of proinflammatory mediators in endotoxemia. *Comp. Cont. Edu. Pract. Vet.*, v.23, n.9, p.829-36, 2001.
- MORRIS, D.D.; CROWE, N.; MOORE, J.N. Correlation of clinical and laboratory data with serum tumor necrosis factor activity in horses with experimentally induced endotoxemia. *Am. J. Vet. Res.*, v.51, n.12, p.1935-40, 1990.
- MORRIS, D.D.; MOORE, J.N. The effect of immunity to core lipopolysaccharides (LPS) on the production of thromboxane and prostacyclin by equine peritoneal macrophages. *Cornell Vet.*, v.79, p.231-47, 1989.

- MORRIS, D.D.; MOORE, J.N.; CROWE, N. Serum tumor necrosis factor activity in horses with colic due to gastrointestinal disease. In: EQUINE COLIC SYMPOSIUM, Georgia, 1991. **Proceedings**. Athens: Georgia Center for Continuing Education, 1991. p.38.
- MORRISON, D.C. et al. Current status of bacterial endotoxins. *A.S.M. News*, v.60, p.479-84, 1994.
- MORRISON, D.C.; ULEVITCH, R.J. The effects of bacterial endotoxins on host mediation system. A review. *Am. J. Pathol.*, v.93, n.2, p.527-617, 1978.
- NELLGÅRD, P. et al. Small-bowel obstruction and the effects of lidocaine, atropine and hexamethonium on inflammation and fluid losses. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, v.40, n.3, p.287-92, 1996.
- NELSON, A.W. Analysis of equine peritoneal fluid. *Vet. Clin. North Am. Large Anim. Pract.*, v.1, p.267-74, 1979.
- NISHINA, K. et al. Does early posttreatment with lidocaine attenuate endotoxin-induced acute lung injury in rabbits? *Anesthesiol.*, v.83, n.1, p.169-77, 1995.
- OCHALSKI, S.J. et al. Inhibition of endotoxin-induced hypothermia and serum TNF- α levels in CD-1 mice by various pharmacological agents. *Agents Actions*, v.39, p.C52-54, 1993.
- OHNISHI, T. et al. Lidocaine in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) is an inhibitor of eosinophil-active cytokines. *Clin. Exp. Immunol.*, v.104, p.325-31, 1996.
- OHSAKA, A. et al. Local anesthetic lidocaine inhibits the effect of granulocyte-colony stimulating factor on human neutrophil functions. *Exp. Hematol.*, v.22, p.460-66, 1994.
- OKADA, S. et al. Lidocaine and its analogues inhibit IL-5 survival and activation of human eosinophils. *J. Immunol.*, v.160, p.4010-17, 1998.
- OLOFSSON, P. et al. Endotoxin: routes of transport in experimental peritonitis. *Am. J. Surg.*, v.151, p.443-46, 1986.
- OLSON, N.C.; HELLYER, P.W.; DODAM, J.R. Mediators and vascular effects in response to endotoxin. *Brit. Vet. J.*, v.151, p.489-522, 1995.
- ONISHI, T. et al. Lidocaine in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) is an inhibitor of eosinophil-active cytokines. *Clin. Exp. Immunol.*, v.104, p.325-31, 1996.

- OPAL, S.M.; YU Jr, R.L. Antiendotoxin strategies for the prevention and treatment of septic shock. New approaches and future directions. *Drugs*, v.55, n.4, p.497-508, 1998.
- PARRY, B.W. Use of clinical pathology in evaluation of horses with colic. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, v.3, n.3, p.529-42, 1987.
- PARRY, B.W., BROWNLOW, M.A. Peritoneal fluid. In: COWELL R.L., TYLER, R.D. **Cytology and hematology of the horse**. St. Louis: Mosby, 1992. p.121-151.
- PECK, S.L. et al. Reduced neutrophil superoxide anion release after prolonged infusions of lidocaine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v.235, p.418-22, 1985.
- PEIRÓ, J.R. **Endotoxemia experimental em eqüinos: avaliação clinico-laboratorial**. Jaboticabal: UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 1997. 89p. Dissertação (Mestrado).
- PEIRÓ, J.R. et al. Clinical and laboratory evaluation after intraperitoneal injection of lipopolysaccharide (LPS). *J. Equine Vet. Sci.*, v.19, n. 3, p. 187-191, 1999. Errata publicada no *J. Equine Vet. Sci.*, v.20, p.44, 2000.
- PLATA-SALAMÁN, C.R., BORKOSKI, J.P. Centrally administered bacterial lipopolysaccharide depresses feeding in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v.46, n.4, p.787-91, 1993.
- RENZI, P.M., GINNS, L.C. Natural killer cell activity in rat lavage inhibited by lidocaine. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, v.12, p.389-415, 1990.
- RICKETTS, S.W. Technique of paracentesis abdominis (peritoneal tap) in the horse. *Equine Vet. J.*, v.15, n.3, p.288-89, 1983.
- RICKETTS, S.W. Peritonitis. In: *Current therapy in equine medicine*, 2nd edn., Ed: N.E. Robinson, W.B. Saunders, Philadelphia. pp 79-81, 1987.
- RIMBACK, G. et al. Inhibition of peritonitis by amide local anesthetics. *Anesthesiol.*, v.69, n.2, p.881-86, 1988.
- RIMBACK, G., CASSUTO, J., TOLLESON, P.O. Treatment of postoperative paralytic ileus by intravenous lidocaine infusion. *Anesth. Analg.*, v.70, n.4, p.414-19, 1990.
- ROBERTS, M.C. Endotoxemia and inflammatory mediators in equine colitis. In: ANNUAL AAEP CONVENTION, Lexington, 1995. **Proceedings**. Lexington: American Association of Equine Practitioners, 1995, p.107-11.

- ROCHA, N.P., FERREIRA, S.H. Restoration by levamisole of endotoxin-inhibited neutrophil migration, oedema and increased vascular permeability induced by carrageenin. *Eur. J. Pharmacol.*, v.122, 87-92, 1986.
- SASAGAWA, S. Inhibitor effects of local anesthetics on migration, extracellular release of lysosomal enzyme, and superoxide anion production in human polymorphonuclear leukocytes. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, v.13, n.4, p.607-22, 1991.
- SCHMID, R.A. et al. Lidocaine reduces reperfusion injury and neutrophil migration in canine lung allografts. *Ann. Thorac. Surg.*, v.61, p.949-55, 1996.
- SCHMIDT, W., Schmidt, H., Bauer, H., Gebhard, M.M. and Martin, E. Influence of lidocaine on endotoxin-induced leukocyte-endothelial cell adhesion and macromolecular leakage in vivo. *Anesthesiol.*, v.87, 617-624, 1997.
- SCHREINER, A.; HOPEN, G. Adhesion and locomotion of human leukocytes *in vitro*: importance of protein coating; effect of lidocaine, ethanol and endotoxin. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, v.87, p.333-40, 1979.
- SEARLE, A. Endotoxemia – a therapeutic challenge. *Austr. Vet. Pract.*, v.19, n.4, p.228-29, 1989.
- SEETHANATHAN, P.; BOTTOMS, G.D.; SCHAFER, K. Characterization of release of tumor necrosis factor, interleukin-1, and superoxide anion from equine white blood cells in response to endotoxin. *Am. J. Vet. Res.*, v.51, n.8, p.1221-25, 1990.
- SEMRAD, S.D. et al. Low dose flunixin meglumine: effects on eicosanoid production and clinical signs induced by experimental endotoxaemia in horses. *Equine Vet. J.*, v.19, 201-206, 1987.
- SHUSTER, R. et al. Survey of diplomates of the American College of Veterinary Internal Medicine and the American College of Veterinary Surgeons regarding clinical aspects and treatment of endotoxemia in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.210, n.1, p.87-92, 1997.
- SINCLAIR, R. et al. Inhibitory effects of amide local anaesthetics on stimulus-induced human leukocyte metabolic activation, LTB₄ release and IL-1 secretion *in vitro*. *Anaesthesiol. Scan.*, v.37, 159-165, 1993.

- SKARDA, R.T. Local anesthetics and local anesthetic techniques in horses. In: MUIR, W.M.; HUBBELL, J.A.E. **Equine anesthesia – monitoring and emergency therapies**. St. Louis: Mosby, 1991. p.199-246.
- SMITH, D.F. Presurgical care of the equine colic patient. *Cornell Vet.*, v.68, supl.7, p.113-21, 1978.
- SOUZA, G.E.P.; FERREIRA, S.H. Blockage by antimacrophage serum of the migration of PMN neutrophils into the inflamed peritoneal cavity. *Agents Actions*, v.17, 97-103, 1985.
- SPIER, S.J.; SNYDER, J.R. Physical and laboratory evaluations of the horse with colic In: ROBINSON, N.E. **Current therapy in equine medicine**. 3. ed., Philadelphia, W.B. Saunders, 1992, p.193.
- SPROUSE, R.F.; GARNER, H.E.; GREEN, E.M. Plasma endotoxin levels in horses subjected to carbohydrate induced laminitis. *Equine Vet. J.*, v.19, n.1, p.25-28, 1987.
- SPURLOCK, G.H. et al. Effect of endotoxin administration on body fluid compartments in the horse. *Am. J. Vet. Res.*, v.46, n. , p.1117-20, 1985.
- STEVERINK, J.G.; STURK, A.; SALDEN, H.J. Platelet-poor plasma not suitable for clinical endotoxin testing, demonstrated in horses (letter). *Clin. Chem.*, v.40, n.7, p.1346-47, 1994.
- STOCKHAM, S.L. Interpretation of equine serum biochemical profile results. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, v.11, n.3, p.391-414, 1995.
- SWANWICK, R.A., WILKINSON, J.S. A clinical evaluation of abdominal paracentesis in the horse. *Austr. Vet. J.*, v.52, p.109-117, 1976.
- TAKMAN, B.H. et al. (1974) citados por SASAGAWA, S. Inhibitor effects of local anesthetics on migration, extracellular release of lysosomal enzyme, and superoxide anion production in human polymorphonuclear leukocytes. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, v.13, n.4, p.607-22, 1991.
- TAMASHIRO, W.M.S.C. et al. Neutrophil recruitment inhibitory factor: a possible candidate for a novel cytokine. *Mediat. Inflamm.*, v.1, 49-54, 1992.
- TANIGUCHI, T. et al. Effects of lidocaine administration on hemodynamics and cytokine responses to endotoxemia in rabbits. *Crit. Care Med.*, v.28, n.3, p.755-59, 2000.

- TANIGUCHI, T. et al. Lidocaine attenuates the hypotensive and inflammatory responses to endotoxemia in rabbits. *Crit. Care Med.*, v.24, n.4, p.642-46, 1996.
- TAVARES-MURTA, B.M. et al. Macrophage-derived neutrophil chemotactic factor is involved in the neutrophil recruitment inhibitory activity present in the supernatants of LPS-stimulated macrophages. *Mediat. Inflamm.*, v.5, 116-120, 1996.
- TEMPLETON, C.B. et al. Endotoxin-induced hemodynamic and prostaglandin changes in ponies: effects of flunixin meglumine, dexamethasone, and prednisolone. *Circ. Shock*, v.23, p.231-40, 1987.
- TULLENERS, E.P. Complications of abdominocentesis in the horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.182, n.3, p.232-34, 1983.
- VALADÃO, C.A.A. et al. Evaluation of peritoneal fluid in horses with experimental endotoxemia. *J. Equine Vet. Sci.*, v.15, n.3, p.124-128, 1995.
- VALADÃO, C.A.A.; ÁVILA JÚNIOR, O.S.; CAMPOS FILHO, E. Aspectos bioquímicos do plasma e fluido peritoneal de eqüinos com cólica. *Brazilian J. Vet. Res. An. Sci.*, v.33, n.1, p.32-35, 1996.
- Van HOOGLMOED, L. et al. Evaluation of peritoneal fluid pH, glucose concentration, and lactate dehydrogenase activity for detection of septic peritonitis in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.214, n.7, p.1032-36, 1999.
- van LEENEN, D. et al. Pentoxifylline attenuates neutrophil activation in experimental endotoxemia in chimpanzee. *J. Immunol.*, v.151, p.2318-25, 1993.
- WACHTFOGEL, Y.T. et al. Human neutrophil degranulation during extracorporeal circulation. *Blood*, v.69, p.324-30, 1987.
- WANG, L.F. et al. Distinct tumor necrosis factor- α responses in alveolar and peritoneal macrophages are associated with local levels of endotoxin. *Inflammation*, v.22, n.5, p.447-57, 1998.
- WARD, D.S. et al. Equine endotoxemia: cardiovascular, eicosanoid, hematologic, blood chemical, and plasma enzyme alterations. *Am. J. Vet. Res.*, v.48, n.7, p.1150-56, 1987.
- WEBEL, D.M. et al. Time course of increased plasma cytokines, cortisol, and urea nitrogen in pigs following intraperitoneal injection of lipopolysaccharide. *J. Anim. Sci.*, v.75, p.1514-20, 1997.

- WEDI, B. et al. Chronic urticaria serum induces histamine release, leukotriene production, and basophil CD63 surface expression – inhibitory effects of anti-inflammatory drugs. *J. Allergy Clin. Immunol.*, v.105, p.552-60, 2000.
- WHITE II, N.A. **The equine acute abdomen**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1990. 443p.
- WILSON, J.; GORDON, B. Equine colic: interpreting the diagnostic tests. *Vet. Med.*, v.82, n.6, p.629-645, 1987.
- WITTWER, F. La paracentesis como ayuda al. diagnostico de alteraciones digestivas en eqüinos In: ARAYA, O. **Enfermedades de los eqüinos: Algunas patologias internas y su tratamiento**. Santiago, s.n., 1988. p.496-505.
- ZENI, F. et al. (1997) citado por MORRESEY, P.R. Synthesis of proinflammatory mediators in endotoxemia. *Comp. Cont. Edu. Pract. Vet.*, v.23, n.9, p.829-36, 2001.
- ZINKL, J.G.; KABBUR, M.B. **Clinical biochemistry of domestic animals**, 5^a ed., Eds: KANEKO, J. J. ; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Academic Press, San Diego, 1997. pp 285-302.