

# Endotoxinas e rim

Waldemar S. Almeida, Alexandre H. Campos e Nestor Schor

Departamento de Medicina, Disciplina de Nefrologia  
Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

## INTRODUÇÃO

Sepse e em particular o choque séptico são importantes fatores de risco para o desenvolvimento de insuficiência renal aguda (IRA). Em estudo prospectivo, a incidência de IRA foi de 19% na sepse, 23% na sepse grave e 51% no choque séptico quando as hemoculturas eram positivas<sup>1,2</sup>. A síndrome séptica resulta de uma intensa e descontrolada resposta inflamatória sistêmica do hospedeiro em decorrência de uma infecção bacteriana<sup>3</sup>. Frequentemente, o tratamento efetivo da sepse só é possível quando a infecção e/ou eventos correlacionados são controlados em tempo hábil, evitando-se assim as conseqüentes desordens hemodinâmicas e metabólicas resultantes do choque

séptico prolongado e/ou insuficiência de múltiplos órgãos (IMOS).

A principal causa de morte em pacientes com sepse é a falência de múltiplos órgãos. Existe uma correlação direta entre a gravidade do caso, o número de órgãos comprometidos e o risco de morte. Se existe falência de quatro ou mais órgãos, a taxa de mortalidade é maior do que 90% a despeito do tratamento. Com o melhor conhecimento da fisiopatologia do choque séptico e das bases genéticas do hospedeiro em resposta à sepse, novos e específicos tratamentos foram adicionados ao seu arsenal terapêutico. Assim, a execução de grandes ensaios clínicos baseados em diferentes estratégias têm demonstrado que é possível reduzir a mortalidade da sepse e do choque séptico<sup>3,4</sup>.

Clinicamente, o início frequentemente é insidioso, podendo incluir febre, confusão mental, ligeira hipotensão, diminuição do débito urinário ou inexplicável trombocitopenia. Se não

---

Received for publication: 22/02/2006

Accepted: 06/03/2006

tratado rapidamente o paciente pode desenvolver insuficiência respiratória e/ou renal, anormalidades da coagulação e acentuada hipotensão arterial, freqüentemente irreversível. Geralmente está associada a um padrão circulatório hiperdinâmico devido à reduzida resistência vascular periférica e débito cardíaco aumentado, configurando o estado de choque séptico, uma das principais causas de lesão tecidual e IMOS. A IMOS é considerada a causa mais freqüente de óbitos em pacientes internados nas unidades de terapia intensiva (UTI). Em recente estudo epidemiológico na América do Norte determinou-se que a incidência de sepse é de aproximadamente 3 casos em 1000 na população geral e anualmente morrem mais de 215.000 pessoas, com um custo estimado de US\$16,7 bilhões<sup>5,6</sup>. Apesar dos vastos conhecimentos adquiridos nos últimos anos a taxa de mortalidade geral é de aproximadamente 30%, aumentando para 40% em idosos e para 50% ou mais em pacientes com choque séptico<sup>6,7</sup>. Vale enfatizar que estes dados representam a taxa de mortalidade de pacientes admitidos nas unidades de terapia intensiva que receberam antibióticos e o melhor suporte intensivo disponível. Os sítios de infecção mais comuns são os pulmões, cavidade abdominal, trato urinário e infecção primária da corrente sanguínea. O diagnóstico microbiológico é feito em metade dos casos; bactérias Gram-negativas correspondem a 60% dos casos e Gram-positivas ao restante<sup>6,8</sup>.

## MECANISMOS DA SEPSE

O lipopolissacarídeo (LPS), principal componente estrutural das bactérias Gram-negativas, é uma endotoxina responsável pelo início do processo séptico. A molécula de LPS está ancorada na parte externa da membrana

celular bacteriana através de sua porção mais ativa denominada de lípide A. Estudos biofísicos tridimensionais dão a idéia de que a mudança da conformação cilíndrica lamelar da porção lípide A para a forma de cone truncado está correlacionada com a capacidade de ativar a membrana das células do hospedeiro<sup>9</sup>. Bactérias Gram-positivas não possuem endotoxinas, mas a sua parede celular contém peptidoglicanos e ácido lipoteicóico, nos quais vários investigadores identificaram componentes estruturais que são responsabilizados por sua atividade biológica<sup>10,11</sup>. Embora esses componentes bacterianos sejam menos ativos que o LPS, também são considerados pró-inflamatórios. Além disso, bactérias Gram-positivas produzem potentes exotoxinas, algumas das quais estão implicadas no desenvolvimento do choque séptico. O melhor exemplo conhecido são as síndromes do choque tóxico causadas pelas toxinas-1 do *Staphylococcus aureus* e as exotoxinas pirogênicas do *Streptococcus pyogenes*. A síndrome do choque tóxico está entre as mais agudas e severas formas de choque séptico. Ela normalmente ocorre de forma inesperada em indivíduos saudáveis e a sua taxa de mortalidade atinge 50%<sup>12</sup>. Estas exotoxinas Gram-positivas são de grande interesse porque exibem propriedades de superantígenos. Estes antígenos são capazes de ligar-se promiscuamente ao complexo maior de histocompatibilidade de classe II e a um restrito domínio V $\beta$  do receptor (TCR) de linfócitos T. Feito isso, eles estimulam uma maciça ativação de linfócitos T e liberação de linfocinas pró-inflamatórias. Existem alguns dados que sugerem que estas toxinas superantigênicas de bactérias Gram-positivas induzem maior sensibilidade do hospedeiro para o LPS. A toxina-1 do *Staphylococcus aureus* aumentou a susceptibilidade de coelhos à infusão letal de LPS e a infusão concomitante de toxina-1 e LPS induz níveis

significativamente maiores do fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) em comparação a infusão de toxina isoladamente<sup>13</sup>. Esse mecanismo parece ser dependente do aumento da produção de interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) pelos linfócitos T ativados pela toxina-1<sup>14</sup>. Esta interação entre as toxinas superantigênicas e o LPS deveria em parte explicar a gravidade da síndrome do choque séptico. Isto poderia ter implicações terapêuticas, sugerindo que possa ser interessante dar maior atenção para o LPS mesmo quando a infecção é aparentemente causada por bactérias Gram-positivas. Vários componentes bacterianos têm demonstrado possuir atividade pró-inflamatória e são capazes de induzir choque em modelos experimentais. Dentre estes, estruturas da parede celular tais como flagelina, uma subunidade do flagelo de bactérias<sup>15</sup>, *curlin*<sup>16</sup> e a seqüência de bases nitrogenadas CpG não metilada do DNA bacteriano desnudo<sup>17</sup>. Receptores para alguns desses elementos têm sido identificados entre a família de proteínas *Toll*, fundamentais no reconhecimento da estrutura microbiana<sup>18</sup>.

Com a descoberta da família das *Toll Like Receptors* (TLRs) o entendimento da ativação da sinalização intracelular através do mCD14 (que não possui domínio intracelular) ficou facilitado<sup>19,20</sup>. Atualmente, foram identificados nesta grande família 10 tipos diferentes de TLRs. Sabe-se que o TLR4 é receptor do LPS, o TLR2 predominantemente responsável pelo reconhecimento das estruturas parede das bactérias Gram-positivas, TLR5 receptor da flagelina<sup>21</sup> e TLR9 reconhece a seqüência CpG do DNA bacteriano<sup>18</sup>. Em adição, a MD-2, uma molécula presente na superfície das células, é necessária para a ativação do TLR4<sup>22</sup>. Camundongos *Knockout* para MD-2 não respondem ao LPS e sobrevivem ao choque séptico. Parece que o principal papel da molécula MD-2 é posicionar corretamente o TLR4 na superfície celular. No

entanto, esta noção de associação monogâmica entre um TLR em particular e seu ligante microbiano, como no caso do LPS e TLR4 é na realidade uma grande simplificação. Após a interação inicial entre o hospedeiro e os produtos microbianos existe uma intensa ativação da resposta imune inata com o propósito de coordenar a resposta defensiva humoral e celular envolvida. A resposta inata do hospedeiro para infecções bacterianas é primariamente mediada pelos neutrófilos e monócitos/macrófagos<sup>23</sup>. Células mononucleares desempenham papel chave, liberando as clássicas citocinas pró-inflamatórias interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e TNF- $\alpha$ , além de uma gama de outras citocinas incluindo interleucina-12 (IL-12), interleucina-15 (IL-15) e interleucina-18 (IL-18) e outras pequenas moléculas do hospedeiro. Elas são rapidamente liberadas durante os primeiros 30-90 minutos após a exposição ao LPS, voltam a ativar um segundo grupo de agentes pró-inflamatórios, incluindo citocinas, mediadores lipídicos, espécies reativas de oxigênio (ROS) e hiper-regulam moléculas de adesão celular que resultam na iniciação da migração de células inflamatórias que infiltram os tecidos. Estas citocinas pró-inflamatórias são importantes porque são responsáveis pela amplificação da sinalização, orquestrando uma complexa rede de respostas secundárias aumentando a produção e liberação de mediadores pró-inflamatórios<sup>24</sup>. Além disso, quando as células mononucleares são expostas a agentes microbianos passam a expressar receptores-padrão, capazes de reconhecer e se ligarem às estruturas moleculares conservadas e/ou fragmentadas, provendo-se de outras vias alternativas pelas quais reconhecem os componentes bacterianos, tais como as proteínas reconhecedoras de peptidoglicanos (PGRPs) também identificados em humanos<sup>25</sup> que o reconhecem, assim como a expressão do

receptor da superfamília das imunoglobulinas em monócitos e neutrófilos humanos (TREM-1)<sup>26</sup>. O receptor TREM-1 está hiperregulado na presença de vários microorganismos. Quando as células mononucleares estão expostas à combinação de LPS e um anticorpo para TREM-1, existe um efeito sinérgico que aumenta muito a produção de citocinas pró-inflamatórias, amplificando a resposta inflamatória. Notavelmente, o bloqueio do TREM-1 protegeu os camundongos do choque séptico induzido pelo LPS, bem como a sepse microbiana causada pela administração de *E. coli* viva ou no modelo de ligadura com perfuração cecal<sup>27</sup>. Por último, foi descrita em monócitos a presença de proteínas intracelulares denominadas de NOD1 e NOD2 com capacidade para ligarem-se e responder ao LPS<sup>28</sup>, sugerindo que esta deva ser uma outra forma de resposta celular à presença de bactérias<sup>29</sup>.

Como descrevemos acima, a inabilidade para identificar os receptores do LPS foi por muitos anos uma barreira para o entendimento de como as bactérias Gram-negativas iniciavam a resposta séptica. Em elegante estudo foi demonstrado que a ativação das células do hospedeiro dependia da presença do LPS ligado a uma proteína solúvel denominada proteína ligadora de LPS (LBP)<sup>30</sup> e do receptor mCD14 com função opsonizante localizado na membrana das células<sup>31</sup>. Os eventos moleculares envolvidos no reconhecimento do LPS pelas células-alvo ainda não são totalmente conhecidos. No entanto, sabe-se que o primeiro passo da cascata é a ligação do LPS a LBP. O LPS-LBP circulante interage com o complexo de receptores de membrana formados por glicosilfosfatidilinositol (GPI) ancorado ao CD14 e receptores *Toll-like* tipo 4 (TLR4) associado à MD-2, importante para o reconhecimento do LPS-LBP presentes em polimorfonucleares, neutrófilos, macrófagos e outras células

residentes, tais como as mesangiais<sup>32</sup>. Embora o CD14 fosse originalmente identificado como co-receptor essencial que intermedeia a ativação dos monócitos pelo LPS, trabalhos subsequentes demonstraram que o CD14 também tem participação na ativação destas células pelos componentes da parede de bactérias Gram-positivas tais como peptidoglicano<sup>33</sup>. Após a ativação deste complexo de receptores ocorre a ativação de um membro da família da proteína quinase ativada por mitógenos (MAP3K), que estimula a fosforilação e degradação do inibidor IκB, através da ativação das IκB kinase a (IκKa) e b (IκKb)<sup>34</sup>, com a subsequente ativação do fator ativador nuclear (NF-κB), considerado o maior alvo intracelular do estresse oxidativo. Uma vez ativado, o NF-κB é translocado para o núcleo celular e se liga a uma sequência específica na região promotora, aumentando a expressão de vários genes que podem ter um importante papel na inflamação aguda e/ou crônica. Estes genes são responsáveis pela transcrição de várias citocinas e quimocinas, tais como TNF-α, IFN-γ, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, além de enzimas pró-inflamatórias. É importante ressaltar que a ativação do NF-κB está aumentada em células mononucleares do sangue periférico de pacientes sépticos que morrem, quando comparada com a dos sobreviventes<sup>35</sup>. As células que não expressam constitutivamente CD14, tais como as dendríticas, fibroblastos, células musculares lisas vasculares e endoteliais são ainda capazes responder ao LPS pela interação com moléculas CD14 circulantes, remanescentes das moléculas mCD14 ancoradas à superfície da membrana celular que foram liberadas e podem ser encontradas como moléculas solúveis no soro (sCD14). Os complexos LPS-LBP ligam-se ao sCD14 e estimulam as células endoteliais e epiteliais (incluindo as tubulares renais). Embora o sCD14 seja encontrado no plasma de indiví-

duos saudáveis, seu nível está mais elevado na sepse<sup>36</sup> e a presença de anticorpos anti-CD14 em primatas protege-os de choque endotóxico letal<sup>37</sup>. Todas estas células quando estimuladas pelo LPS não só produzem como liberam citocinas, quimoquinas, moléculas de adesão (VCAM, ICAM, selectinas) e a proteína quimiotática para monócitos-1 (MCP-1)<sup>38</sup>. Estas citocinas pró-inflamatórias são importantes porque são responsáveis por orquestrar uma complexa cadeia de respostas secundárias que perpetuam a resposta inflamatória<sup>24</sup> através da produção de IFN- $\gamma$ , estimulando assim a expressão de TLR4 e MD-2, contrapondo-se a hiporregulação do TLR4 induzida pelo LPS<sup>39</sup>. A produção excessiva de citocinas estimuladas pelo LPS leva à marginação e adesão das células polimorfonucleares e monócitos no endotélio vascular, produzindo aumento da permeabilidade capilar, contração do volume intravascular e hipotensão. Além disso, ocorrem desordens na cascata da coagulação que são comuns na sepse, sendo que 30-50% dos pacientes apresentam coagulação intravascular disseminada<sup>40</sup>. No início o LPS e outros componentes bacterianos, através do aumento da expressão do fator tecidual, ativam as vias da pró-coagulação, assim como de anticoagulação. O efeito pró-coagulante dá-se em consequência do aumento da pró-trombina que é convertida em trombina, que por sua vez forma fibrina a partir do fibrinogênio. Simultaneamente, os níveis do inibidor do fator ativador de plasminogênio (PAI-1) são aumentados, o que resulta no impedimento da produção da plasmina e falência dos mecanismos normais da fibrinólise. Em uma etapa posterior, as citocinas pró-inflamatórias, em particular a IL-1 e a IL-6, estimulam a coagulação, enquanto a IL-10 inibe a coagulação pela inibição da expressão do fator tecidual em monócitos<sup>41</sup>. Em decorrência da redução dos níveis da proteína C, da anti-

trombina e do inibidor do fator tecidual – proteínas anticoagulantes naturais, o resultado final desse fenômeno é a obstrução da microcirculação por trombos de fibrina que impedem a perfusão e oxigenação tecidual, causando disfunção celular/orgânica e por último, morte celular por apoptose e/ou necrose. Apesar disso, estudos de autópsia demonstraram intrigante discordância entre os achados histológicos e o grau de disfunção orgânica visto em pacientes que morreram de sepse<sup>42</sup>. As quantidades de células cardíacas, renais, hepáticas e pulmonares mortas são relativamente pequenas e não refletem a evidência clínica de mais intensa disfunção orgânica. Estes resultados são similares àqueles observados em pacientes com insuficiência renal aguda (IRA), nos quais a microscopia mostra uma dissociação entre o grau de necrose tubular renal e o nível de disfunção renal<sup>43,44</sup>.

## FATORES HEMODINÂMICOS E HORMONAIS

Por sua importância clínica, o choque séptico é a forma mais estudada entre os diferentes tipos de choque vasoplégico. Vários mecanismos têm sido propostos para explicar a hipotensão arterial prolongada decorrente dessa vasoplegia, desde a falência funcional à morte das células musculares lisas dos vasos<sup>45</sup> por inadequada extração de oxigênio pelos tecidos<sup>46</sup>, assim como pelo aumento da atividade das prostaglandinas<sup>47</sup> e a maior síntese de óxido nítrico (NO), decorrente da ação do TNF- $\alpha$  e outras citocinas que aumentam a expressão da enzima sintetase do óxido nítrico induzível (NOSi). O excesso de NO, além de responsável pela instabilidade vascular, pode deprimir a função do miocárdio na sepse perpetuando o estado de choque<sup>4</sup> e reduzir a respiração mitocondrial, achado

recentemente demonstrado em biópsia de músculo de pacientes sépticos<sup>48</sup>. Por último, outros dois mecanismos diferentes foram envolvidos na patogênese do choque - ativação de canais de potássio e deficiência da vasopressina, que são responsabilizados pela hiporresponsividade vascular, vasodilatação e intensa hipotensão arterial induzidas pela sepse<sup>4</sup>. É conhecido que em todas as formas estudadas de choque vasoplégico, as concentrações plasmáticas sistêmicas de catecolaminas estão marcadamente elevadas<sup>49,50</sup>, assim como está hiperativado o sistema renina - angiotensina (SRA)<sup>51</sup>. Na sepse grave a vasodilatação sistêmica generalizada inclui a diminuição da pressão arterial média e resistência vascular intestinal, hepática, esplênica e não esplênica sistêmica<sup>52</sup> contrastando com uma marcada vasoconstrição renal. Embora a alteração do fluxo sanguíneo renal (FSR) seja largamente variável em modelos de sepse experimental e em pacientes sépticos, estudos da hemodinâmica renal durante a sepse através de micropunção têm mostrado que a taxa de filtração glomerular (GFR) está reduzida, primariamente como resultado do aumento da resistência arteriolar aferente<sup>53</sup> e de outros vasos pré-glomerulares.

Na sepse existem várias evidências de que o SRA sistêmico esteja ativado<sup>51,54</sup>, embora tenha sido demonstrada uma diminuição da resposta pressórica à Ang II. Em publicação recente, foi sugerido que a sepse causa uma hiporregulação sistêmica dos receptores AT<sub>1</sub>, explicando esta menor resposta pressórica a Ang II exógena<sup>55</sup>. Durante a sepse, de forma independente das alterações da pressão arterial média (PAM), é comum o aumento da resistência vascular renal (RVR)<sup>56</sup>. Por ação sistêmica e renal local as substâncias vasoativas podem estar envolvidas na patogênese da IRA séptica. A denervação renal protege contra a IRA

relacionada à sepse<sup>56</sup>. Além disso, elevados níveis de catecolaminas e outros vasoconstritores tais como angiotensina II, vasopressina e tromboxane A<sub>2</sub> podem desempenhar papel importante na IRA séptica<sup>57</sup>. A vasoconstrição renal, devido ao desequilíbrio entre as substâncias vasodilatadoras e constritoras, leva ao declínio do FSR e anormalidades na distribuição do fluxo sanguíneo intra-renal, afetando principalmente a região medular renal<sup>58</sup>. A alteração da função renal na endotoxemia tem sido predominantemente atribuída à hipoperfusão renal. No entanto, tanto em modelos experimentais como em pacientes sépticos, tem sido observada uma ampla variação nos valores de FSR<sup>59</sup>. Isso indica que os mecanismos fisiopatológicos envolvidos nas fases de iniciação e manutenção da isquemia na IRA da sepse são complexos e ainda pouco entendidos. Em aproximadamente 40-50% dos casos de IRA séptica o FSR tem valores normais, não justificando a importante queda do GFR. Isso sugere que outros fatores além da redução do FSR estejam envolvidos na disfunção renal causada pela sepse. Estas discrepâncias no FSR são dependentes da severidade do choque (hipo vs. hiperdinâmico), que por sua vez também é dependente dos diferentes modelos e técnicas, bem como da quantidade e natureza da endotoxinas administradas, das respostas compensatórias suscitadas, do volume e tipo de fluidos de reposição utilizados. O aumento do FSR e a diminuição da resistência vascular renal podem ser vistos no estágio inicial da sepse, podendo ser reflexo da diminuição da resistência vascular periférica sistêmica ou primariamente intra-renais. Esta vasodilatação renal pode ser mediada pelas prostaglandinas PGE<sub>2</sub> e PGI<sub>2</sub><sup>60</sup> e/ou NO<sup>61</sup>, bem como pelo aumento da atividade vasodilatadora do sistema calcitrina-cinina intra-renal<sup>62</sup>. Contudo, mesmo quando o FSR é adequado, a redistribuição do fluxo favorece a

área justa-medular com prejuízo para o fluxo cortical, principalmente em presença de um inadequado volume circulatório efetivo<sup>63</sup>. Em muitos estudos o FSR total diminui após a indução da endotoxemia e isso parece se dever à predominante vasoconstrição da arteríola aferente, que resulta em subsequente redução da perfusão renal e GFR. É importante destacar que, independentemente da condição hemodinâmica sistêmica, mesmo quando em condição de relativa normalidade, as endotoxinas podem causar a constrição das arteríolas renais e deste modo reduzir a perfusão e função renal. Portanto, a endotoxemia pode causar a diminuição do GFR, em presença de perfusão renal normal ou rebaixada, com ou sem concomitante manutenção da pressão sangüínea. Na sepse, a diminuição do GFR é desproporcionalmente maior do que a queda do FSR e tem como principal causa a redução da fração de filtração (FF)<sup>60,64</sup>. A redução da FF é mais bem explicada pela redução no coeficiente de ultrafiltração (Kf) e pela desproporcional diminuição na pressão hidráulica transcápsular (DP) em relação ao fluxo sangüíneo. A redução da pressão capilar glomerular ( $P_{CG}$ ) é devida ao aumento na razão da resistência arteriolar aferente e eferente. Em recente revisão chegou-se a conclusão que o impacto da sepse sobre o FSR em humanos é desconhecido. Em estudos experimentais de sepse o FSR estava diminuído em 62% e aumentado em 38% das publicações. A análise univariada demonstrou que vários fatores não diretamente relacionados à sepse parecem ter influenciado o FSR. Já a análise multivariada sugeriu que o débito cardíaco (DC) fosse a única variável independente na determinação do FSR na sepse, assim, em presença de DC normal ou aumentado o FSR está mantido ou aumentado e quando o DC está diminuído o FSR invariavelmente está reduzido<sup>65</sup>.

## RIM COMO ÓRGÃO ALVO NO CHOQUE SÉPTICO

Os rins são freqüentemente acometidos na falência de múltiplos órgãos decorrente da sepse. Na sepse, a prevalência de falência renal aguda aumenta de 9% para 40%<sup>66</sup>. A IRA constitui uma das mais graves complicações médicas nas unidades de terapia intensiva<sup>67</sup>.

A IRA é uma síndrome caracterizada por diminuição abrupta do ritmo de filtração glomerular e pela retenção de compostos nitrogenados em resposta a um insulto isquêmico e/ou nefrotóxico. Em 50 a 70% dos casos a oligúria está presente e é concomitante à perda transitória da função renal. A recuperação é espontânea em 90% dos pacientes, sendo parcial em 5% dos casos e irreversível nos outros 5%. A taxa de mortalidade é alta, atingindo cerca de 70% a 80% em ambiente de terapia intensiva, quando está associada à sepse e/ou falência de múltiplos órgãos, enquanto que na IRA não resultante de sepse é de 45%<sup>68</sup>. Embora a falência de múltiplos órgãos e outras co-morbidades contribuam para a alta mortalidade, a IRA por si só eleva os índices de morbi-mortalidade<sup>69</sup>. Os estudos epidemiológicos têm demonstrado que a freqüência da IRA pré admissional, assim como daquela que é desenvolvida durante a internação hospitalar é muito variável<sup>70,71</sup>. O mesmo se observa quanto a sua incidência entre os pacientes admitidos nos diversos setores dos hospitais. Nas UTIs é de aproximadamente 15%<sup>72</sup>, mas quando se consideram as sub-populações de idosos com múltiplas co-morbidades e com reserva renal funcional diminuída ou daqueles com falência de múltiplos órgãos por choque séptico, a incidência da IRA aumenta para aproximadamente 50%<sup>2,73</sup>.

As seqüelas da lesão da célula endotelial são particularmente evidentes na circulação cardio-

pulmonar e renal. Está bem estabelecido que o LPS e outros produtos de bactérias Gram-negativas podem causar sepse e disfunção orgânica, incluindo a IRA<sup>64,74</sup>. Em estudo com perfusão isolada de rim com LPS e células polimorfonucleares (previamente ativadas por LPS) observou-se importante decréscimo do GFR, sugerindo ser esta interação necessária para induzir IRA<sup>75</sup>. A redução da função renal devida à endotoxina foi documentada em humanos<sup>76</sup> e em modelos experimentais de sepse e choque séptico. Na fase inicial da IRA por sepse, as lesões tubulares são focais e mínimas e a morfologia glomerular normalmente está preservada, indicando que as alterações hemodinâmicas sistêmicas sejam as principais responsáveis pelo comprometimento da função renal<sup>42</sup>. Todavia, existem fortes evidências que o estado séptico é resultado da combinação de efeitos diretos e indiretos das endotoxinas. Em vários estudos experimentais, a administração de endotoxinas ou a ligadura com perfuração cecal está associada a uma resposta sistêmica e renal, com produção de diferentes mediadores biologicamente ativos, muitos deles responsáveis pela diminuição do FSR, GFR e disfunção tubular vistas em pacientes com sepse.

A necrose tubular renal (NTA), forma mais comum de IRA de origem renal, é caracterizada pela morte das células tubulares. A morte das células tubulares por apoptose ou necrose pode ocorrer no estágio precoce da lesão tubular aguda de diferentes etiologias (isquêmica, tóxica e séptica)<sup>77,78</sup>. Entretanto, freqüentemente é difícil determinar a forma de morte, porque somente a ausência da célula epitelial tubular é notada. A contribuição relativa dos dois mecanismos de morte para a perda inicial das células tubulares é incerta e pode depender da severidade do insulto<sup>79,80</sup>. Mediadores endógenos, tais como os fatores de sobrevivência e citocinas letais, regulam a sobrevivência das células do epitélio

tubular renal, podendo contribuir para a morte celular na IRA. Estes mediadores podem se originar de células renais residentes ou de leucócitos circulantes que se acumulam no curso da inflamação do tecido renal. Produtos bacterianos, como LPS, e algumas drogas nefrotóxicas promovem apoptose das células epiteliais tubulares e podem contribuir para o desenvolvimento da IRA por sepse e nefrotoxicidade. Estudos evidenciaram aumento de apoptose de células renais ao longo do néfron em camundongo durante a endotoxemia e em culturas de células mesangiais e epiteliais tubulares tratadas com LPS. O efeito letal do LPS parece ser mediado através do aumento dos níveis de RNAm e proteína para Fas em vários tipos de células renais, uma vez que nenhum efeito tóxico direto do LPS pode ser observado em cultura de células tubulares<sup>81</sup>. Atualmente está bem estabelecido que apoptose participa da IRA. Estímulos que induzem apoptose na célula tubular renal em cultura também o fazem *in vivo*. A expressão e/ou atividade de moléculas moduladoras de apoptose alteram o curso da IRA e a inibição de caspases melhorou a função renal em modelos experimentais de IRA. Assim é crítico a busca de melhor compreensão da regulação molecular de apoptose nas células tubulares renais<sup>82</sup>.

Na IRA decorrente de sepse, a reabsorção do sódio nos túbulos renais está alterada de maneira bifásica. Durante a IRA funcional, a fração de excreção do sódio ( $FE_{NA}$ ) é baixa e com a instalação da IRA ocorre aumento da  $FE_{NA}$ <sup>64</sup> pela lesão tubular. Estes efeitos também podem ser mediados por citocinas, hormônios ou autácóides, a exemplo da interleucina-1 que, liberada durante a endotoxemia, possui ação natriurética<sup>83</sup>. Em experimentos com perfusão isolada de rins com LPS diluído em soro não foram observados efeitos da endotoxina sobre os túbulos, sugerindo ser o seu efeito sistêmico

mais importante do que o efeito direto sobre as células tubulares<sup>84</sup>. Portanto, os mecanismos de lesão renal na sepse, além de complexos, freqüentemente estão sobrepostos aos de outras alterações orgânicas presentes, principalmente as de natureza hemodinâmica.

A presença de produtos bacterianos na circulação sistêmica ativa as células inflamatórias que infiltram o tecido renal e liberam radicais livres de oxigênio, proteases e citocinas inflamatórias, que por sua vez lesam e ativam as células residentes renais, tais como as células endoteliais, mesangiais e tubulares. Além dos efeitos sistêmicos, o LPS também pode, por ação direta, estimular estas células residentes e provocar modificações metabólicas, aumentando a produção e liberação local de substâncias pró-inflamatórias. Desta forma, a infecção bacteriana aguda ou crônica não debelada pode, através da molécula do LPS e outros produtos bacterianos, produzir lesão direta das células residentes, contribuindo para a lesão de órgãos-alvo. Trabalhos científicos têm sugerido a ação direta do LPS sobre as células renais<sup>32,70,85-87</sup>. Essas células renais, quando estimuladas pelo LPS, também são capazes de produzir e liberar localmente os vários e mesmos mediadores de respostas hemodinâmicas e inflamatórias sistêmicas, tais como, TNF- $\alpha$ <sup>86</sup>, PAF<sup>66</sup>, ET-1<sup>88</sup>, NO<sup>89</sup>, tromboxane A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>)<sup>90</sup>, leucotrienos (LTS)<sup>91</sup> e a Ang II<sup>53</sup>. Todos estes mediadores provavelmente contribuem extensivamente para a disfunção renal aguda séptica nos seus diversos graus de gravidade.

Na sepse, as CM glomerulares estão expostas a vários estímulos pró-inflamatórios, tais como toxinas bacterianas, citocinas e outros mediadores produzidos e liberados sistemicamente pelas células mono e polimorfonucleares circulantes e localmente pelas próprias células residentes. A CM é uma das principais células residentes no glomérulo renal, uma vez que

desempenha importantes funções de síntese de mediadores pró-inflamatórios e vasoativos e participa da regulação da condutância vascular e da área de superfície de ultrafiltração glomerular em condições fisiológicas e patológicas. Entre estas substâncias vasoativas produzidas e liberadas pelas CM temos a Ang II, considerada o principal peptídeo ativo do SRA. A Ang II é responsável pela modulação da hemodinâmica através de sua ação sobre as CM e arteríolas glomerulares, assim como pela regulação de importantes funções celulares. Está bem estabelecido que a Ang II induz a contração das CM e vasoconstrição preferencial da arteríola eferente, regulando a perfusão glomerular bem como a filtração pelo aumento da pressão intraglomerular<sup>92</sup>.

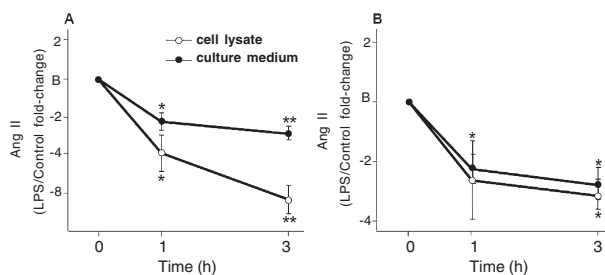
### SRA INTRA-RENAL NA SEPSE

Sabe-se que a concentração de Ang II intrarenal, principalmente no glomérulo, é algumas vezes maior do que a concentração sistêmica<sup>93</sup>. Neste contexto, o SRA local tem relevância especial para a regulação da hemodinâmica glomerular e modificações celulares<sup>94,95</sup>.

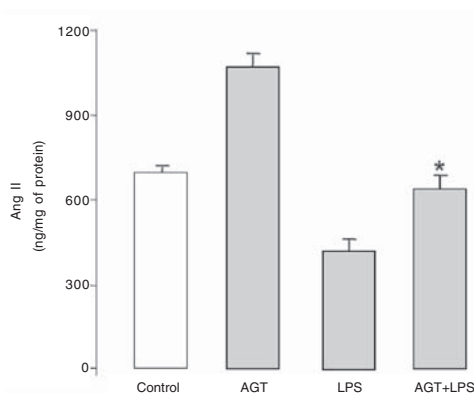
Em nosso Laboratório foi identificada nas células mesangiais humanas (CMHI) a presença de genes codificadores dos componentes do SRA (AGT, renina e ECA). Nós demonstramos que a administração de LPS de *E. coli* reduz significativamente os níveis de Ang I e Ang II nas CMHI. Esta redução foi muito precoce, já na primeira hora após a administração de endotoxina no meio de cultura, e este efeito perdurou por até 72h. Além disso, foi acompanhado da redução dos níveis dos metabólitos originados a partir dos peptídeos Ang I e Ang II (Ang 1-7, Ang III, Ang 4-8, Ang 1-5, Ang 1-6 e Ang 5-8) tanto no lisado celular quanto no meio extracelular, afastando degradação da Ang I e Ang II

em peptídeos menores. Embora nesse estudo a atividade da ECA estivesse aumentada, isso não foi suficiente para recuperar os níveis de Ang II, mas é possível que na ausência desse efeito, possivelmente por efeito de *feedback* positivo, a redução dos níveis de Ang II talvez fosse mais intensa ainda. Além disso, esse dado indiretamente afasta a possibilidade de degradação inespecífica das proteínas pela ação do LPS. Enquanto a geração de Ang I aumentou marcadamente após a incubação com angiotensinogênio nas células tratadas com veículo, naquelas culturas tratadas com LPS a resposta foi bloqueada de forma significativa. Esses achados demonstram que o LPS afetou negativamente a atividade da renina e/ou das enzimas com função semelhante à da renina, uma vez que as concentrações proteicas de angiotensinogênio e da renina não foram alteradas (Fig. 1 a e b; Fig. 2) (WS Almeida et al. *Kidney Int*, in press).

Ainda não identificamos o mecanismo pelo qual o LPS inibiu a atividade enzimática da renina. Foi demonstrado que as CM possuem todos os componentes necessários para a ação do LPS, tais como receptores CD14 e TLR4<sup>19,96,97</sup>. Está descrito que LPS ativa precocemente vias bioquímicas diferentes em vários sistemas biológicos, em período de tempo compatível com nossos resultados. Dentre estas, fosforilação da MAPkinase<sup>97</sup> mobilização de cálcio, produção e liberação de óxido nítrico e/ou ativação de fatores de transcrição nuclear têm sido demonstradas<sup>23,98</sup> minutos após administração do LPS. Em nossos experimentos, não foram identificadas alterações da concentração de cálcio intracelular, níveis de óxido nítrico e translocação nuclear do NF-κB que explicassem os resultados obtidos nesse estudo. Além disso, não se tem conhecimento de nenhum estudo sobre a interação molecular direta entre o LPS e a renina e/ou receptor de



**Fig. 1.** LPS reduces Ang I and II levels in HMC. (A and B) Time-dependent effect of LPS (100 mg/ml) on cell lysate and extracellular concentrations of Ang II and Ang I, respectively. Values are mean  $\pm$  SEM of 7 experiments. \* $P < 0.01$ ; \*\* $P < 0.001$  compared to controls.



**Fig. 2.** Angiotensinogen (AGT) in excess failed to prevent LPS-induced Ang I reduction in HMC. Cells were incubated with vehicle (control) or LPS (100 mg/ml) for 1 h and subsequently with vehicle or AGT (1 mM) for another hour. Values for Ang I concentration are means  $\pm$  SEM of 6 experiments. \* $P < 0.001$  compared to AGT.

pró(renina). No entanto, considerando nossos achados, acreditamos que este seja um possível mecanismo de inibição da atividade da renina pelo LPS.

Se reproduzível *in vivo*, a inibição do SRA local pelo LPS demonstrada em nossos experimentos teria provável importância clínica dado o papel normalmente desempenhado pela Ang II sobre as CM e destas na auto-regulação da hemodinâmica glomerular<sup>99,100</sup>.

Na sepse, mesmo na ausência de alterações hemodinâmicas sistêmicas e com FSR preservado, a função renal pode se deteriorar<sup>59</sup>. Além disso, a FF que freqüentemente está aumentada em outras situações de choque, na sepse pode estar inalterada ou reduzida<sup>60,64</sup>, indicando que alterações locais possam estar envolvidas. Apesar de ainda ser considerado objeto de alguma discussão, parece que o tônus da arteríola eferente é mais sensível para a Ang II do que a arteríola aferente. A Ang II intrarenal desempenha importante papel na manutenção do RFG durante a redução da pressão arterial renal, aumentando a constrição da arteríola eferente. Um dos objetivos da preservação da RFG é a manutenção do fluxo urinário no interior dos túbulos renais, impedindo a sua obstrução e o conseqüente aumento da pressão intratubular, que aumenta retrogradamente a pressão intraglomerular com reflexo negativo sobre a filtração glomerular. Somados ao fenômeno da retrodifusão, estes são importantes fatores mecânicos que contribuem para a piora da filtração glomerular. Embora, nosso interesse não fosse direcionado para essa questão, parece ser razoável especular que a redução da geração de Ang II intraglomerular poderia ter algum reflexo sobre o tônus da arteríola eferente. Neste caso, o efeito direto do LPS sobre as CM<sup>101-103</sup> poderia contribuir para a redução da  $P_{CG}$  e da taxa de filtração glomerular por néfron (SNGFR), como conseqüência. Poderíamos também analisar o possível efeito do LPS sobre a FF e Kf, assim como sobre a contratilidade das CM, que poderia ser afetada pela diminuição dos níveis de Ang II no glomérulo. A atenuação da contração das CM, devido à prolongada e intensa redução dos níveis de Ang II local, somada à hiporregulação dos receptores  $AT_1$ , nestas células pela ação do LPS<sup>55</sup>, poderia ser ao menos parcialmente responsabilizada pelas modificações da hemodinâmica intraglomerular

durante a sepse. Com a perda ou redução do tônus as CM ficam impossibilitadas de adequar a superfície de filtração ao volume, ao fluxo sanguíneo glomerular e pressão intraglomerular. Portanto, essas modificações levam a redução da SNGFR, particularmente em condições de reduzido fluxo plasmático glomerular (FPR), comumente observado no choque séptico. A diminuição da FF é mais bem explicada pela redução do Kf e/ou redução da  $P_{CG}$ , pelo desproporcional aumento da resistência arteriolar aferente em relação à resistência arteriolar eferente. Isto contrasta com o que é observado em modelos de choque não séptico e outras situações de nefrotoxicidade, onde a Ang II induz preferencialmente vasoconstrição arteriolar eferente<sup>58,60,104</sup>. Além disso, se a superfície de filtração não está reduzida devido ao comprometimento da contratilidade das CM, o coeficiente de permeabilidade hidráulica (k) só poderá estar marcadamente reduzido para explicar o decréscimo do Kf. Contudo, estes efeitos sobre o Kf não são os principais responsáveis pela queda do SNGFR, que parece ser preferencialmente dependente da  $P_{CG}$ <sup>58</sup>. Adicionalmente, a inibição do SRA local pode ter impacto sobre outros tipos de células incluindo as musculares lisas vasculares, endoteliais glomerulares, podócitos e epiteliais tubulares, que de forma direta ou indireta são responsáveis pela modulação do Kf e  $P_{CG}$ . Vários estudos demonstraram que a Ang II, além das suas funções sobre a hemodinâmica e CM glomerulares<sup>105</sup>, exerce múltiplos efeitos sobre as células epiteliais tubulares. Entre os de maior impacto está o efeito sobre a proliferação, apoptose e regeneração das células do epitélio tubular lesadas<sup>95,106</sup>.

É conhecido que a expressão do receptor  $AT_2$  está aumentada nas células do túbulo proximal pós-isquemia, assim como em outros tecidos após diferentes lesões<sup>107-109</sup>, indicando ter importante papel na modulação do reparo

tecidual. Em publicação recente, foi demonstrado que a hiper-expressão do receptor  $AT_2$  nos glomérulos reduz a hiper celularidade e a glomerulosclerose em camundongos<sup>110</sup>. Além disso, sabe-se que, sob condições de baixa pressão de perfusão, ocorre aumento da Ang II intratubular ativando o receptor  $AT_1$  localizado na membrana luminal da mácula densa modulando positivamente o feedback tubuloglomerular (TGF)<sup>111-113</sup>. Todavia, a geração reduzida de Ang II pelas CM observada em nossos experimentos poderia diminuir a disponibilidade intratubular deste peptídeo e conseqüentemente inibir o TGF, aumentando a natriúria freqüentemente observada na fase oligúrica da necrose tubular aguda instalada. Em adição, o nível de Ang II intratubular também poderia estar reduzido pela ação direta do LPS sobre as células tubulares renais<sup>97</sup>, intensificando as modificações das suas funções celulares a exemplo do que ocorre com as CM<sup>3,70,85,114</sup>.

Ang II é conhecida como um agente proliferativo e regulador da apoptose para células mesangiais e endoteliais micro-vasculares<sup>115,116</sup>. Portanto, seria razoável pensar que a recuperação da IRA também poderia ser afetada pela persistente inibição do SRA intrarenal durante a resolução da fase aguda da sepse *in vivo*. Além disso, existem dados indicando que a (pró)renina tecidual e a renina através de seu receptor podem disparar a sinalização intracelular pela ativação da via ERK1/ERK2 e produzir efeitos celulares independentes da geração de Ang II com envolvimento na reparação da lesão tecidual local<sup>117,118</sup>, desempenhando papel semelhante ao exercido pela Ang II sobre as células e tecidos<sup>119-121</sup>. Sabe-se também que a borda em escova do túbulo proximal expressa ECA<sup>122</sup>. Diante da significativa inibição da atividade da renina pelo LPS, as CM poderiam produzir e liberar menor concentração de Ang I para o espaço intraglomerular. Conseqüentemente,

menor concentração de Ang I alcançaria o espaço tubular, e por sua vez seria menor a geração de Ang II no túbulo proximal, o que potencialmente comprometeria o reparo tubular. Considerando o papel da Ang II no reparo de células tubulares, a redução dos níveis de Ang II poderia constituir uma forte razão para retardar a recuperação do dano tubular na IRA.

## CONCLUSÃO

A fisiopatologia da insuficiência renal aguda da sepse ainda é pouco entendida. Mesmo na presença de alterações hemodinâmicas e significativa lesão tubular, as alterações estruturais dos glomérulos raramente são vistas em análise microscópica de fragmentos renais obtidos de pacientes com IRA séptica. Resultados similares também são encontrados em estudos experimentais. Todavia, modificações funcionais glomerulares secundárias à resposta inflamatória sistêmica têm sido descritas. A ação direta do LPS sobre as células renais glomerulares e tubulares podem ter papel fundamental na lesão renal secundária a sepse. Estudos adicionais estão sendo desenvolvidos para o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na gênese, manutenção e/ou recuperação da IRA séptica.

### Correspondence to:

Prof. Dr Nestor Schor  
Professor de Medicina/Nefrologia  
Disciplina de Nefrologia  
UNIFESP  
Rua Botucatu 740  
4023-900 São Paulo, Brasil.  
E-mail: [nestor@nefro.epm.br](mailto:nestor@nefro.epm.br)

## REFERÊNCIAS

1. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. The enigma of sepsis. *J Clin Invest.* 2003;112:460-7.
2. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *Jama.* 1995;273:117-23.
3. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature.* 2002;420:885-91.
4. Landry DW, Oliver JA. The pathogenesis of vasodilatory shock. *N Engl J Med.* 2001;345:588-95.
5. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med.* 2003;348:1546-54.
6. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001;29:1303-10.
7. Wenzel RP. Treating sepsis. *N Engl J Med.* 2002;347:966-7.
8. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, Martin C, Goodman S, Artigas A, Sicignano A, Palazzo M, Moreno R, Boulme R, Lepage E, Le Gall R. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med.* 2002;28:108-21.
9. Seydel U, Oikawa M, Fukase K, Kusumoto S, Brandenburg K. Intrinsic conformation of lipid A is responsible for agonistic and antagonistic activity. *Eur J Biochem.* 2000;267:3032-9.
10. Majcherczyk PA, Langen H, Heumann D, Fountoulakis M, Glauser MP, Moreillon P. Digestion of *Streptococcus pneumoniae* cell walls with its major peptidoglycan hydrolase releases branched stem peptides carrying proinflammatory activity. *J Biol Chem.* 1999;274:12537-43.
11. Morath S, Geyer A, Hartung T. Structure-function relationship of cytokine induction by lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus*. *J Exp Med.* 2001;193:393-7.
12. Lavoie PM, Thibodeau J, Erard F, Sekaly RP. Understanding the mechanism of action of bacterial superantigens from a decade of research. *Immunol Rev.* 1999;168:257-69.
13. Dinges MM, Schlievert PM. Comparative analysis of lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor alpha activity in serum and lethality in mice and rabbits pretreated with the staphylococcal superantigen toxic shock syndrome toxin 1. *Infect Immun.* 2001;69:7169-72.
14. Dinges MM, Schlievert PM. Role of T cells and gamma interferon during induction of hypersensitivity to lipopolysaccharide by toxic shock syndrome toxin 1 in mice. *Infect Immun.* 2001;69:1256-64.
15. Eaves-Pyles T, Murthy K, Liaudet L, Virag L, Ross G, Soriano FG, Szabo C, Salzman AL. Flagellin, a novel mediator of *Salmonella*-induced epithelial activation and systemic inflammation: I kappa B alpha degradation, induction of nitric oxide synthase, induction of proinflammatory mediators, and cardiovascular dysfunction. *J Immunol.* 2001;166:1248-60.
16. Herwald H, Morgelin M, Olsen A, Rhen M, Dahlback B, Muller-Esterl W, Bjorck L. Activation of the contact-phase system on bacterial surfaces—a clue to serious complications in infectious diseases. *Nat Med.* 1998;4:298-302.
17. Sparwasser T, Miethke T, Lipford G, Borschert K, Hacker H, Heeg K, Wagner H. Bacterial DNA causes septic shock. *Nature.* 1997;386:336-7.
18. Bauer S, Kirschning CJ, Hacker H, Redecke V, Hausmann S, Akira S, Wagner H, Lipford GB. Human TLR9 confers responsiveness to bacterial DNA via species-specific CpG motif recognition. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:9237-42.
19. Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature.* 2000;406:782-7.
20. Vasselon T, Detmers PA. Toll receptors: a central element in innate immune responses. *Infect Immun.* 2002;70:1033-41.
21. Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, Hawn TR, Yi EC, Goodlett DR, Eng JK, Akira S, Underhill DM, Aderem A. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature.* 2001;410:1099-103.
22. Shimazu R, Akashi S, Ogata H, Nagai Y, Fukudome K, Miyake K, Kimoto M. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *J Exp Med.* 1999;189:1777-82.
23. Medzhitov R, Janeway C, Jr. Innate immunity. *N Engl J Med.* 2000;343:338-44.
24. Dinarello CA. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Chest.* 1997;112:321S-329S.
25. Liu C, Xu Z, Gupta D, Dziarski R. Peptidoglycan recognition proteins: a novel family of four human innate immunity pattern recognition molecules. *J Biol Chem.* 2001;276:34686-94.
26. Bouchon A, Dietrich J, Colonna M. Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes. *J Immunol.* 2000;164:4991-5.
27. Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, Colonna M. TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature.* 2001;410:1103-7.
28. Inohara N, Ogura Y, Chen FF, Muto A, Nunez G. Human Nod1 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharides. *J Biol Chem.* 2001;276:2551-4.

29. Inohara N, Ogura Y, Nunez G. Nods: a family of cytosolic proteins that regulate the host response to pathogens. *Curr Opin Microbiol.* 2002;5:76-80.
30. Schumann RR, Leong SR, Flaggs GW, Gray PW, Wright SD, Mathison JC, Tobias PS, Ulevitch RJ. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science.* 1990;249:1429-31.
31. Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science.* 1990;249:1431-3.
32. Camussi G, Ronco C, Montrucchio G, Piccoli G. Role of soluble mediators in sepsis and renal failure. *Kidney Int Suppl.* 1998;66:S38-42.
33. Pugin J, Heumann ID, Tomasz A, Kravchenko VV, Akamatsu Y, Nishijima M, Glauser MP, Tobias PS, Ulevitch RJ. CD14 is a pattern recognition receptor. *Immunity.* 1994;1:509-16.
34. Karin M, Delhase M. The I kappa B kinase (IKK) and NF-kappa B: key elements of proinflammatory signalling. *Semin Immunol.* 2000;12:85-98.
35. Amalich F, Garcia-Palomero E, Lopez J, Jimenez M, Madero R, Renart J, Vazquez JJ, Montiel C. Predictive value of nuclear factor kappaB activity and plasma cytokine levels in patients with sepsis. *Infect Immun.* 2000;68:1942-5.
36. Landmann R, Zimmerli W, Sansano S, Link S, Hahn A, Glauser MP, Calandra T. Increased circulating soluble CD14 is associated with high mortality in gram-negative septic shock. *J Infect Dis.* 1995;171:639-44.
37. Leturcq DJ, Moriarty AM, Talbott G, Winn RK, Martin TR, Ulevitch RJ. Antibodies against CD14 protect primates from endotoxin-induced shock. *J Clin Invest.* 1996;98:1533-8.
38. Wang Y, Rangan GK, Goodwin B, Tay YC, Harris DC. Lipopolysaccharide-induced MCP-1 gene expression in rat tubular epithelial cells is nuclear factor-kappaB dependent. *Kidney Int.* 2000;57:2011-22.
39. Bosisio D, Polentarutti N, Sironi M, Bernasconi S, Miyake K, Webb GR, Martin MU, Mantovani A, Muzio M. Stimulation of toll-like receptor 4 expression in human mononuclear phagocytes by interferon-gamma: a molecular basis for priming and synergism with bacterial lipopolysaccharide. *Blood.* 2002;99:3427-31.
40. Levi M, Ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med.* 1999;341:586-92.
41. van der Poll T, van Deventer SJ. Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis. *Infect Dis Clin North Am.* 1999;13:413-26, ix.
42. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, Buchman TG, Karl IE. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med.* 1999;27:1230-51.
43. Weinberg JM, Venkatachalam MA. Guanine nucleotides and acute renal failure. *J Clin Invest.* 2001;108:1279-81.
44. Solez K, Morel-Maroger L, Sraer JD. The morphology of "acute tubular necrosis" in man: analysis of 57 renal biopsies and a comparison with the glycerol model. *Medicine (Baltimore).* 1979;58:362-76.
45. Byrne JJ. Shock. *N Engl J Med.* 1966;275:543-6.
46. Parrillo JE. Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med.* 1993;328:1471-7.
47. Bernard GR, Wheeler AP, Russell JA, Schein R, Summer WR, Steinberg KP, Fulkerson WJ, Wright PE, Christman BW, Dupont WD, Higgins SB, Swindell BB. The effects of ibuprofen on the physiology and survival of patients with sepsis. The Ibuprofen in Sepsis Study Group. *N Engl J Med.* 1997;336:912-8.
48. Brealey D, Brand M, Hargreaves I, Heales S, Land J, Smolenski R, Davies NA, Cooper CE, Singer M. Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock. *Lancet.* 2002;360:219-23.
49. Sylvester JT, Scharf SM, Gilbert RD, Fitzgerald RS, Traystman RJ. Hypoxic and CO hypoxia in dogs: hemodynamics, carotid reflexes, and catecholamines. *Am J Physiol.* 1979;236:H22-8.
50. Benedict CR, Rose JA. Arterial norepinephrine changes in patients with septic shock. *Circ Shock.* 1992;38:165-72.
51. Cumming AD, Driedger AA, McDonald JW, Lindsay RM, Solez K, Linton AL. Vasoactive hormones in the renal response to systemic sepsis. *Am J Kidney Dis.* 1988;11:23-32.
52. Schwieger IM, Schiffer ER, Morel DR. Effects of fenoldopam on systemic and splanchnic haemodynamics and oxygen delivery/consumption relationship during hyperdynamic ovine endotoxaemia. *Intensive Care Med.* 1998;24:509-18.
53. Lugon JR, Boim MA, Ramos OL, Ajzen H, Schor N. Renal function and glomerular hemodynamics in male endotoxemic rats. *Kidney Int.* 1989;36:570-5.
54. Schaller MD, Waeber B, Nussberger J, Brunner HR. Angiotensin II, vasopressin, and sympathetic activity in conscious rats with endotoxemia. *Am J Physiol.* 1985;249:H1086-92.
55. Bucher M, Ittner KP, Hobbhahn J, Taeger K, Kurtz A. Downregulation of angiotensin II type 1 receptors during sepsis. *Hypertension.* 2001;38:177-82.
56. Wang W, Falk SA, Jittikanont S, Gengaro PE, Edelstein CL, Schrier RW. Protective effect of renal denervation on normotensive endotoxemia-induced acute renal failure in mice. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2002;283:F583-7.
57. Boffa JJ, Just A, Coffman TM, Arendshorst WJ. Thromboxane receptor mediates renal vasoconstriction and contributes to acute renal failure in endotoxemic mice. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:2358-65.
58. Khan RZ, Badr KF. Endotoxin and renal function: perspec-

- tives to the understanding of septic acute renal failure and toxic shock. *Nephrol Dial Transplant*. 1999;14:814-8.
59. Groeneveld AB. Pathogenesis of acute renal failure during sepsis. *Nephrol Dial Transplant*. 1994;9 Suppl 4:47-51.
60. Badr KF, Kelley VE, Rennke HG, Brenner BM. Roles for thromboxane A2 and leukotrienes in endotoxin-induced acute renal failure. *Kidney Int*. 1986;30:474-80.
61. Tolins JP, Palmer RM, Moncada S, Raji L. Role of endothelium-derived relaxing factor in regulation of renal hemodynamic responses. *Am J Physiol*. 1990;258:H655-62.
62. Cumming AD, Jeffrey S, Lambie AT, Robson JS. The kallikrein-kinin and renin-angiotensin systems in nephrotic syndrome. *Nephron*. 1989;51:185-91.
63. Cronenwett JL, Lindenauer SM. Distribution of intrarenal blood flow during bacterial sepsis. *J Surg Res*. 1978;24:132-41.
64. Kikeri D, Pennell JP, Hwang KH, Jacob AI, Richman AV, Bourgoignie JJ. Endotoxemic acute renal failure in awake rats. *Am J Physiol*. 1986;250:F1098-106.
65. Langenberg C, Bellomo R, May C, Wan L, Egi M, Morgera S. Renal blood flow in sepsis. *Crit Care*. 2005;9:R363-74.
66. Thijs A, Thijs LG. Pathogenesis of renal failure in sepsis. *Kidney Int Suppl*. 1998;66:S34-7.
67. Edelstein CL, Schrier RW. Pathophysiology of ischemic acute renal failure. In: Schrier RW, ed. *Diseases of the Kidney and urinary tract*. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001:1041-69.
68. Neveu H, Kleinknecht D, Brivet F, Loirat P, Landais P. Prognostic factors in acute renal failure due to sepsis. Results of a prospective multicentre study. *Nephrol Dial Transplant*. 1996;11:293-9.
69. Annane D, Aegerter P, Jars-Guincestre MC, Guidet B. Current epidemiology of septic shock: the CUB-Rea Network. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168:165-72.
70. Camussi G, Mariano F, Biancone L, De Martino A, Bussolati B, Montrucchio G, Tobias PS. Lipopolysaccharide binding protein and CD14 modulate the synthesis of platelet-activating factor by human monocytes and mesangial and endothelial cells stimulated with lipopolysaccharide. *J Immunol*. 1995;155:316-24.
71. Liano F, Pascual J. Epidemiology of acute renal failure: a prospective, multicenter, community-based study. Madrid Acute Renal Failure Study Group. *Kidney Int*. 1996;50:811-8.
72. Clermont G, Acker CG, Angus DC, Sirio CA, Pinsky MR, Johnson JP. Renal failure in the ICU: comparison of the impact of acute renal failure and end-stage renal disease on ICU outcomes. *Kidney Int*. 2002;62:986-96.
73. Brivet FG, Kleinknecht DJ, Loirat P, Landais PJ. Acute renal failure in intensive care units—causes, outcome, and prognostic factors of hospital mortality; a prospective, multicenter study. French Study Group on Acute Renal Failure. *Crit Care Med*. 1996;24:192-8.
74. Zager RA. Escherichia coli endotoxin injections potentiate experimental ischemic renal injury. *Am J Physiol*. 1986;251:F988-94.
75. Linas SL, Whittenburg D, Parsons PE, Repine JE. Mild renal ischemia activates primed neutrophils to cause acute renal failure. *Kidney Int*. 1992;42:610-6.
76. Danner RL, Elin RJ, Hosseini JM, Wesley RA, Reilly JM, Parillo JE. Endotoxemia in human septic shock. *Chest*. 1991;99:169-75.
77. Takeda M, Kobayashi M, Shirato I, Osaki T, Endou H. Cisplatin-induced apoptosis of immortalized mouse proximal tubule cells is mediated by interleukin-1 beta converting enzyme (ICE) family of proteases but inhibited by overexpression of Bcl-2. *Arch Toxicol*. 1997;71:612-21.
78. Shimizu Y, Ohymama A, Kasama K, Miyazaki M, Ooe K, Ookochi Y. [Case report of toxic shock-like syndrome due to group A streptococcal infection]. *Kansenshogaku Zasshi*. 1993;67:236-9.
79. Ueda N, Kaushal GP, Shah SV. Apoptotic mechanisms in acute renal failure. *Am J Med*. 2000;108:403-15.
80. Lieberthal W, Levine JS. Mechanisms of apoptosis and its potential role in renal tubular epithelial cell injury. *Am J Physiol*. 1996;271:F477-88.
81. Ortiz-Arduan A, Danoff TM, Kalluri R, Gonzalez-Cuadrado S, Karp SL, Elkon K, Egido J, Neilson EG. Regulation of Fas and Fas ligand expression in cultured murine renal cells and in the kidney during endotoxemia. *Am J Physiol*. 1996;271:F1193-201.
82. Ortiz A, Justo P, Sanz A, Lorz C, Egido J. Targeting apoptosis in acute tubular injury. *Biochem Pharmacol*. 2003;66:1589-94.
83. Caverzasio J, Rizzoli R, Dayer JM, Bonjour JP. Interleukin-1 decreases renal sodium reabsorption: possible mechanism of endotoxin-induced natriuresis. *Am J Physiol*. 1987;252:F943-6.
84. Cohen JJ, Black AJ, Wertheim SJ. Direct effects of endotoxin on the function of the isolated perfused rat kidney. *Kidney Int*. 1990;37:1219-26.
85. Baud L, Oudinet JP, Bens M, Noe L, Peraldi MN, Rondeau E, Etienne J, Ardaillou R. Production of tumor necrosis factor by rat mesangial cells in response to bacterial lipopolysaccharide. *Kidney Int*. 1989;35:1111-8.
86. Messmer UK, Briner VA, Pfeilschifter J. Tumor necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide induce apoptotic cell death in bovine glomerular endothelial cells. *Kidney Int*. 1999;55:2322-37.

87. Yan W, Zhao K, Jiang Y, Huang Q, Wang J, Kan W, Wang S. Role of p38 MAPK in ICAM-1 expression of vascular endothelial cells induced by lipopolysaccharide. *Shock*. 2002;17:433-8.
88. Shultz PJ. An emerging role for endothelin in renal disease. *J Lab Clin Med*. 1992;119:448-9.
89. Wang W, Jittikanont S, Falk SA, Li P, Feng L, Gengaro PE, Poole BD, Bowler RP, Day BJ, Crapo JD, Schrier RW. Interaction among nitric oxide, reactive oxygen species, and antioxidants during endotoxemia-related acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003;284:F532-7.
90. Klahr S. Role of arachidonic acid metabolites in acute renal failure and sepsis. *Nephrol Dial Transplant*. 1994;9 Suppl 4:52-6.
91. Badr KF, Brenner BM, Ichikawa I. Effects of leukotriene D4 on glomerular dynamics in the rat. *Am J Physiol*. 1987;253:F239-43.
92. Schor N. Acute renal failure and the sepsis syndrome. *Kidney Int*. 2002;61:764-76.
93. Seikaly MG, Arant BS, Jr., Seney FD, Jr. Endogenous angiotensin concentrations in specific intrarenal fluid compartments of the rat. *J Clin Invest*. 1990;86:1352-7.
94. Docherty NG, Perez-Barriocanal F, Balboa NE, Lopez-Novoa JM. Transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1): a potential recovery signal in the post-ischemic kidney. *Ren Fail*. 2002;24:391-406.
95. Zhang SL, Guo J, Moini B, Ingelfinger JR. Angiotensin II stimulates Pax-2 in rat kidney proximal tubular cells: impact on proliferation and apoptosis. *Kidney Int*. 2004;66:2181-92.
96. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2001;1:135-45.
97. Anders HJ, Banas B, Schlondorff D. Signaling danger: toll-like receptors and their potential roles in kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15:854-67.
98. Reilly CM, Oates JC, Sudian J, Crosby MB, Halushka PV, Gilkeson GS. Prostaglandin J(2) inhibition of mesangial cell iNOS expression. *Clin Immunol*. 2001;98:337-45.
99. Schlatter E, Ankorina I, Haxelmans S, Kleta R. Effects of diadenosine polyphosphates, ATP and angiotensin II on cytosolic Ca<sup>2+</sup> activity and contraction of rat mesangial cells. *Pflugers Arch*. 1995;430:721-8.
100. Ito S, Carretero OA, Abe K. Nitric oxide in the juxtaglomerular apparatus. *Kidney Int Suppl*. 1996;55:S6-8.
101. Camussi G, Biancone L, Iorio EL, Silvestro L, Da Col R, Capasso C, Rossano F, Servillo L, Balestrieri C, Tufano MA. Porins and lipopolysaccharide stimulate platelet activating factor synthesis by human mesangial cells. *Kidney Int*. 1992;42:1309-18.
102. Schlondorff D, Neuwirth R. Platelet-activating factor and the kidney. *Am J Physiol*. 1986;251:F1-11.
103. Schlondorff D, Goldwasser P, Neuwirth R, Satriano JA, Clay KL. Production of platelet-activating factor in glomeruli and cultured glomerular mesangial cells. *Am J Physiol*. 1986;250:F1123-7.
104. van Lambalgen AA, Bouriquet N, Casellas D. Effects of endotoxin on tone and pressure-responsiveness of preglomerular juxtamedullary vessels. *Pflugers Arch*. 1996;432:574-7.
105. Ichikawa I, Harris RC. Angiotensin actions in the kidney: renewed insight into the old hormone. *Kidney Int*. 1991;40:583-96.
106. Cao Z, Kelly DJ, Cox A, Casley D, Forbes JM, Martinello P, Dean R, Gilbert RE, Cooper ME. Angiotensin type 2 receptor is expressed in the adult rat kidney and promotes cellular proliferation and apoptosis. *Kidney Int*. 2000;58:2437-51.
107. Kontogiannis J, Burns KD. Role of AT1 angiotensin II receptors in renal ischemic injury. *Am J Physiol*. 1998;274:F79-90.
108. Yamada T, Horiuchi M, Dzau VJ. Angiotensin II type 2 receptor mediates programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93:156-60.
109. Zhu YZ, Chimon GN, Zhu YC, Lu Q, Li B, Hu HZ, Yap EH, Lee HS, Wong PT. Expression of angiotensin II AT2 receptor in the acute phase of stroke in rats. *Neuroreport*. 2000;11:1191-4.
110. Hashimoto N, Maeshima Y, Satoh M, Odawara M, Sugiyama H, Kashihara N, Matsubara H, Yamasaki Y, Makino H. Overexpression of angiotensin type 2 receptor ameliorates glomerular injury in a mouse remnant kidney model. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2004;286:F516-25.
111. Turkstra E, Braam B, Koomans HA. Normal TGF responsiveness during chronic treatment with angiotensin-converting enzyme inhibition: role of AT1 receptors. *Hypertension*. 2000;36:818-23.
112. Kovacs G, Peti-Peterdi J, Rosivall L, Bell PD. Angiotensin II directly stimulates macula densa Na-2Cl-K cotransport via apical AT(1) receptors. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2002;282:F301-6.
113. Hashimoto S, Kawata T, Schnermann J, Koike T. Chloride channel blockade attenuates the effect of angiotensin II on tubuloglomerular feedback in WKY but not spontaneously hypertensive rats. *Kidney Blood Press Res*. 2004;27:35-42.
114. Baue AE. MOF/MODS, SIRS: an update. *Shock*. 1996;6 Suppl 1:S1-5.
115. Wu D, Chen X, Guo D, Hong Q, Fu B, Ding R, Yu L, Hou K, Feng Z, Zhang X, Wang J. Knockdown of fibronectin induces mitochondria-dependent apoptosis in rat mesangial cells. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16:646-57.

116. Ohashi H, Takagi H, Oh H, Suzuma K, Suzuma I, Miyamoto N, Uemura A, Watanabe D, Murakami T, Sugaya T, Fukamizu A, Honda Y. Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt regulates angiotensin II-induced inhibition of apoptosis in microvascular endothelial cells by governing survivin expression and suppression of caspase-3 activity. *Circ Res.* 2004;94:785-93.
117. Nguyen G, Delarue F, Berrou J, Rondeau E, Sraer JD. Specific receptor binding of renin on human mesangial cells in culture increases plasminogen activator inhibitor-1 antigen. *Kidney Int.* 1996;50:1897-903.
118. Nguyen G, Burckle C, Sraer JD. The renin receptor: the facts, the promise and the hope. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2003;12:51-5.
119. Wolf G. Angiotensin II is involved in the progression of renal disease: importance of non-hemodynamic mechanisms. *Nephrologie.* 1998;19:451-6.
120. Zoja C, Abbate M, Coma D, Capitanio M, Donadelli R, Bruzzi I, Oldroyd S, Benigni A, Remuzzi G. Pharmacologic control of angiotensin II ameliorates renal disease while reducing renal TGF-beta in experimental mesangioproliferative glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis.* 1998;31:453-63.
121. Wolf G, Schneider A, Helmchen U, Stahl RA. AT1-receptor antagonists abolish glomerular MCP-1 expression in a model of mesangial proliferative glomerulonephritis. *Exp Nephrol.* 1998;6:112-20.
122. Sibony M, Gasc JM, Soubrier F, Alhenc-Gelas F, Corvol P. Gene expression and tissue localization of the two isoforms of angiotensin I converting enzyme. *Hypertension.* 1993;21:827-35.