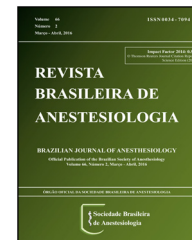




# REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

Publicação Oficial da Sociedade Brasileira de Anestesiologia  
www.sba.com.br



## ARTIGO CIENTÍFICO

# Efeito de dexmedetomidina sobre lesão pulmonar aguda em modelo experimental de isquemia-reperfusão



Ömer Burak Küçükebe<sup>a</sup>, Deniz Özzebek<sup>b</sup>, Ruslan Abdullayev<sup>a,\*</sup>, Adil Ustaoglu<sup>c</sup>, Işıl Tekmen<sup>d</sup> e Tuncay Küme<sup>e</sup>

<sup>a</sup> Adıyaman University Research and Educational Hospital, Department of Anesthesiology and Reanimation, Adıyaman, Turquia

<sup>b</sup> Dokuz Eylül University Medical Faculty, Department of Anesthesiology and Reanimation, İzmir, Turquia

<sup>c</sup> Zonguldak Atatürk Hospital, Department of Anesthesiology and Reanimation, Zonguldak, Turquia

<sup>d</sup> Dokuz Eylül University Medical Faculty, Department of Histology and Embryology, İzmir, Turquia

<sup>e</sup> Dokuz Eylül University Medical Faculty, Department of Medical Biochemistry, İzmir, Turquia

Recebido em 1 de março de 2015; aceito em 17 de agosto de 2015

Disponível na Internet em 28 de setembro de 2016

### PALAVRAS-CHAVE

Experimental;  
Dexmedetomidina;  
Lesão de reperfusão;  
Lesão pulmonar  
aguda

### Resumo

**Objetivo:** A lesão de isquemia-reperfusão é uma das consequências da aplicação do torniquete em cirurgias de extremidades. O objetivo do estudo foi determinar o efeito de dexmedetomidina em lesão pulmonar aguda após modelo experimental de isquemia-reperfusão em extremidade inferior de ratos.

**Métodos:** Vinte e oito ratos albinos Wistar foram recrutados após aprovação do Comitê de Ética e alocados em quatro grupos, cada um com sete indivíduos. O Grupo 1 (Sham) recebeu apenas anestesia. O Grupo 2 (IR) foi submetido a 3 horas de isquemia e 3 horas de reperfusão com o uso de torniquete em extremidade inferior após a aplicação da anestesia. Os grupos 3 (D-50) e 4 (D-100) foram submetidos aos mesmos procedimentos do Grupo 2, exceto por receberem 50 e 100 mg.kg<sup>-1</sup> de dexmedetomidina, respectivamente, por via intraperitoneal uma hora antes da liberação do torniquete. Amostras de sangue foram coletadas para análise de TNF- $\alpha$  e Interleucina-6 (IL-6). Amostras de tecido pulmonar foram coletadas para análise histológica.

**Resultados:** Não houve diferença significativa quanto aos valores sanguíneos de TNF- $\alpha$  e IL-6 entre os grupos, enquanto os escores de lesão em tecidos pulmonares revelaram diferença significativa. Os escores histológicos obtidos no Grupo 2 foram significativamente maiores do que os dos grupos 1, 3 e 4, com valores-*p* de 0,001 para cada comparação. Além disso, os escores do Grupo 1 foram significativamente menores do que os dos grupos 3 e 4, com valores-*p* de 0,001 e 0,011, respectivamente. Não houve diferença significativa entre os grupos 3 e 4.

\* Autor para correspondência.

E-mail: [ruslan\\_jnr@hotmail.com](mailto:ruslan_jnr@hotmail.com) (R. Abdullayev).

**KEYWORDS**

Experimental;  
Dexmedetomidine;  
Reperfusion injury;  
Acute lung injury

*Conclusão:* Dexmedetomidina mostrou eficácia na redução de lesão em tecido pulmonar induzida por isquemia-reperfusão experimental em ratos, ocasionada por aplicação de torniquete em extremidade.

© 2016 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

### Effect of dexmedetomidine on acute lung injury in experimental ischemia–reperfusion model

**Abstract**

*Purpose:* Ischemia-reperfusion injury is one of the consequences of tourniquet application for extremity surgery. The aim of the study was to establish the effect of dexmedetomidine on the acute lung injury following lower extremity experimental ischemia–reperfusion model in rats.

*Methods:* Twenty-eight Wistar-Albino breed rats were recruited after Ethics Committee approval and allocated into 4 groups, each with 7 subjects. Group 1 (SHAM) received only anesthesia. Group 2 (IR) had experienced 3 h of ischemia and 3 h of reperfusion using left lower extremity tourniquet after anesthesia application. Groups 3 (D-50) and 4 (D-100) had undergone the same procedures as in the Group 2, except for receiving 50 and 100 mg.kg<sup>-1</sup>, respectively, dexmedetomidine intraperitoneally 1 h before the tourniquet release. Blood samples were obtained for the analysis of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6. Pulmonary tissue samples were obtained for histological analysis.

*Results:* No significant difference regarding blood tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 values was found among the groups, whereas pulmonary tissue injury scores revealed significant difference. Histological scores obtained from the Group 2 were significantly higher from those in the Groups 1, 3 and 4 with *p*-values 0.001 for each comparison. Moreover, Group 1 scores were found to be significantly lower than those in the Groups 3 and 4 with *p*-values 0.001 and 0.011, respectively. No significant difference was observed between the Groups 3 and 4.

*Conclusion:* Dexmedetomidine is effective in reduction of the experimental ischemia–reperfusion induced pulmonary tissue injury in rats, formed by extremity tourniquet application.

© 2016 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

**Introdução**

A suspensão do fluxo sanguíneo, isto é, isquemia tecidual, e a reperfusão após um período de tempo são os principais mecanismos fisiopatológicos responsáveis por lesionar órgãos após alguns procedimentos médicos, como transplante de órgãos, isquemia cerebral, acidente vascular cerebral, infarto do miocárdio, tromboembolismo, circulação extracorpórea e cirurgias vasculares, grande traumatismo e choque hemorrágico, bem como procedimentos cirúrgicos com o uso de torniquete.<sup>1,2</sup> A lesão isquêmica resulta principalmente da necrose celular devido à suspensão de oxigênio. O fornecimento de oxigênio durante a isquemia não é suficiente para satisfazer as necessidades metabólicas das células e essa condição resulta na ativação do metabolismo anaeróbico.<sup>3</sup> Quando o fluxo sanguíneo retorna novamente ao tecido, isto é, quando a reperfusão tem início, o retorno do fluxo paradoxalmente aumenta o dano aos tecidos locais, juntamente com a resposta inflamatória, o que resulta em danos a órgãos distantes.<sup>2,3</sup> Muitos agentes inflamatórios demonstraram ser responsáveis por esses danos, entre eles a lesão de isquemia-reperfusão (LIR).<sup>2</sup>

As citocinas foram responsabilizadas por danos a órgãos distantes devido à LIR.<sup>4</sup> Relatou-se que os níveis plasmáticos do fator- $\alpha$  de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), interleucina-1 (IL-1) e IL-6 estavam elevados em tecido renal e pulmonar após isquemia em membro posterior.<sup>5</sup> Os mediadores liberados após isquemia-reperfusão (IR) resultam em lesões orgânicas locais e distantes por meio de radicais livres de oxigênio e leucócitos.<sup>6,7</sup> Efeitos imunorreguladores negativos de noradrenalina foram demonstrados na formação de mediadores de origem monocítica/macrofágica (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6) e esses efeitos estavam ligados a adrenoceptores  $\beta$  e  $\alpha_2$ .<sup>8</sup>

Dexmedetomidina é um agonista  $\alpha_2$ -adrenérgico potente e seletivo, o d-isômero farmacologicamente ativo da medetomidina, que é metabolizado no fígado. Seu uso foi aprovado para sedação em unidade de terapia intensiva e tem propriedades sedativas e analgésicas.<sup>9,10</sup> Há poucos estudos na literatura sobre os efeitos anti-inflamatórios de dexmedetomidina.<sup>11–16</sup> Yagmurdur et al.<sup>14</sup> demonstraram que dexmedetomidina diminui os níveis de malondialdeído e hipoxantina (que são formados após a IR), após a aplicação de torniquete para cirurgia de extremidade superior. Embora

tenha sido demonstrado que dexmedetomidina tem alguns efeitos protetores em LIR localizada, não encontramos um estudo de seus efeitos sobre a resposta inflamatória sistêmica e danos em órgãos distantes.

Nosso objetivo foi avaliar os efeitos de duas doses diferentes de dexmedetomidina sobre a lesão pulmonar aguda após modelo experimental de isquemia-reperfusão em membros inferiores de ratos. A hipótese teve como base os possíveis efeitos protetores de dexmedetomidina e levou em consideração seus efeitos anti-inflamatórios.

## Métodos

Este estudo foi conduzido no Laboratório de Experimentação Animal da Faculdade de Medicina da Universidade Dokuz Eylul entre 01/01/2009 e 31/05/2009, após obter a aprovação do Comitê de Ética para Estudos Experimentais em Animais da Universidade Dokuz Eylul, Esmirna, Turquia (24/11/2008, n° 134, Presidente Prof. M. Olguner). Vinte e oito ratos, fêmeas adultas, da raça Wistar-Albino, entre 250-340g, foram usados para o estudo. Os animais foram alimentados com ração padrão e água e mantidos em ciclos de 12 horas de claro/escuro para adaptação antes do início do estudo. Temperatura e umidade também foram padronizadas.

Os ratos foram mantidos em jejum por 12 h antes do procedimento cirúrgico, receberam somente água. Cada rato foi pesado antes da experiência e as doses de dexmedetomidina foram calculadas. A distribuição dos animais em quatro grupos foi feita de modo aleatório com o método de envelope lacrado: Grupo 1 (Sham, n=7) recebeu apenas anestesia, com obtenção de amostra de sangue na primeira hora de reperfusão e amostras de sangue e tecido no fim da reperfusão; Grupo 2s (IR, n=7) foi submetido a 3 h de isquemia e 3 h de reperfusão e usou torniquete em membro posterior esquerdo após a aplicação da anestesia. Amostras de sangue foram colhidas na primeira hora de reperfusão e amostras de sangue e tecido no fim da reperfusão; Grupo 3 (D-50, n=7) foi submetido aos mesmos procedimentos do Grupo 2, exceto por receber 50  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  de dexmedetomidina (Precedex, Abbott Laboratories Ltd., North Chicago ABD, 100  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) por via intraperitoneal 1 h antes da liberação do torniquete; Grupo 4 (D-100, n=7) foi submetido aos mesmos procedimentos do Grupo 2, exceto por receber 100  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  de dexmedetomidina por via intraperitoneal 1 h antes da liberação do torniquete. Novamente, amostras de sangue foram obtidas na primeira hora de reperfusão e amostras de sangue e tecido no fim da reperfusão para os grupos 3 e 4.

A anestesia foi administrada por via intraperitoneal com mistura de 50  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  de cetamina (Pfizer Pharma GmbH, Alemanha) e 10  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  de cloridrato de xilazina (Alfazine, 2%, Egevet). A isquemia foi feita com garrote elástico (1 cm de largura e 30 cm de comprimento) aplicado à região inguinal do membro posterior esquerdo. O torniquete foi liberado para estabelecer a reperfusão após o período de tempo determinado. A temperatura ambiente foi mantida estável, a mesa de operação foi aquecida para proteger os ratos de hipotermia e a temperatura corporal dos animais foi mantida entre 36,8 °C e 37,5 °C. Os ratos foram hidratados com 3  $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  de cloreto de sódio isotônico, por via

subcutânea, durante todo o procedimento de IR para evitar a desidratação. Os animais foram sacrificados após a obtenção das amostras de sangue e tecido. A duração do procedimento foi igual em todos os grupos.

No fim da primeira hora das três horas de reperfusão, 1,5 mL de sangue foi coletado da veia da cauda dos animais para análise de TNF- $\alpha$  e IL-6, colocado em tubo estéril com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e centrifugado por 10 min a uma velocidade de 1.200 rpm. O plasma das amostras de sangue foi separado e colocado em tubos *Eppendorf*, congelado e mantido a 70 °C até o dia da análise. Os ratos receberam cloreto de sódio isotônico por via intraperitoneal, em quantidade igual à extraída para amostragem. No fim da reperfusão, o tórax foi aberto por abordagem subdiafragmática. A amostra de sangue para TNF- $\alpha$  e IL-6 foi obtida em volume de 2 mL diretamente do coração e acondicionada da mesma forma mencionada acima. No fim do procedimento, 5 mL de formol a 10% foram lentamente aplicados através do ápex cardíaco com uma agulha de calibre 20G e o coração e o leito pulmonar foram excisados após o sacrifício. Uma secção da zona média do pulmão direito e todo o pulmão esquerdo foram colocados em formol a 10% e mantidos para fixação por no mínimo 24 h.

## Análise de mediadores inflamatórios

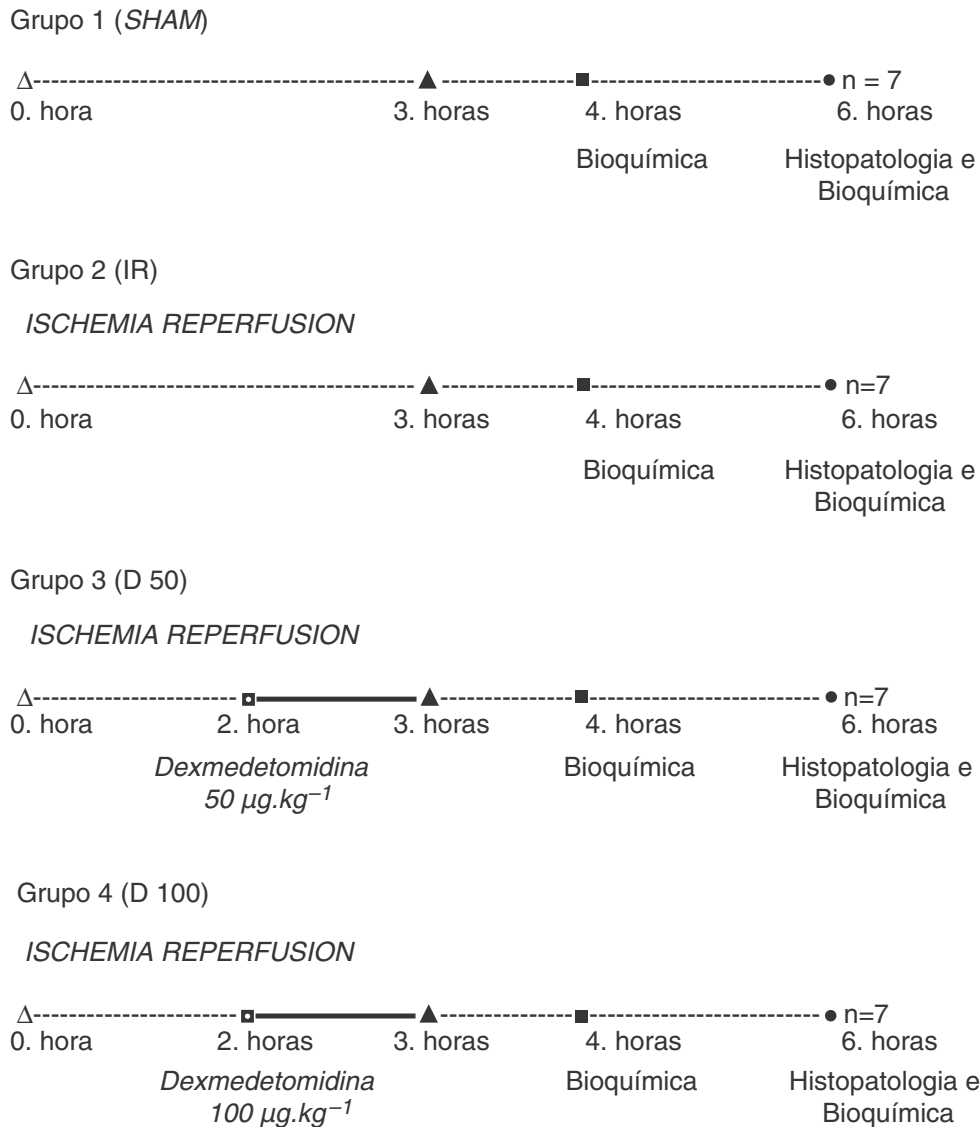
A análise dos mediadores inflamatórios (TNF- $\alpha$  vs. IL-6) foi realizada com o teste Elisa (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Os valores de absorbância foram lidos a 450 nm no dispositivo para Elisa (*Organon Technica Micropoços System Reader 230S*). Os resultados foram expressos em  $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ .

## Análise histopatológica

Os tecidos pulmonares obtidos dos animais foram corados com o método hematoxilina-eosina e examinados com microscópio de luz (Olympus BH-2) em ampliação de 200 $\times$ . Seis regiões aleatórias foram selecionadas de cada amostra e uma classificação de 0-4 pontos foi feita. Levaram-se em consideração os achados histopatológicos, como hemorragia intersticial e alveolar, infiltrado de neutrófilos intersticial e alveolar, edema e atelectasia. A classificação foi feita de acordo com a proporção da área lesionada: 0 = nenhuma lesão; 1 = < 25% de lesão; 2 = 25-50% de lesão; 3 = 50-75% de lesão; 4 = lesão difusa.

## Análise estatística

Os dados obtidos foram avaliados com o programa SPSS 11.0 (*Statistical Package for Social Sciences*, Chicago, Illinois). Os testes de Kruskal-Wallis e do qui-quadrado foram usados para comparar os grupos. O teste *U* de Mann-Whitney foi usado para comparar os grupos separadamente e a correção de Bonferroni foi usada quando necessário. Valores de *p* inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.



**Figura 1** Representação esquemática do protocolo do estudo.

### Resultados

Este estudo foi concluído com 28 ratos, cada grupo com sete. O intervalo de tempo para o estudo foi o mesmo descrito na seção *Métodos* (fig. 1).

A [tabela 1](#) mostra os valores de TNF-α e IL-6 e as classificações histológicas do tecido pulmonar. A análise intergrupos não revelou diferença estatisticamente significativa em relação aos valores de TNF-α e IL-6, tanto na primeira quanto na terceira hora de reperfusão.

A análise estatística das alterações histológicas pulmonares foi feita com os valores médios das classificações obtidas a partir de seis áreas microscópicas examinadas. Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos na classificação das lesões pulmonares ( $p=0,001$ ). Lesão difusa (classificação 4) em todos os espécimes do Grupo 2. As classificações histológicas obtidas para o Grupo 2 foram significativamente diferentes daquelas para os grupos 1, 3 e 4 ( $p=0,001$  para cada comparação). Além disso, as

classificações do Grupo 1 foram significativamente diferente daquelas dos grupos 3 e 4 ( $p=0,001$  e  $0,011$ , respectivamente). Não houve diferença significativa entre os grupos três e quatro.

No exame microscópico, as amostras do Grupo 1 apresentaram seqüência alveolar, estruturas perialveolar e células normais e áreas intersticiais também normais (fig. 2). As amostras do Grupo 2 apresentaram infiltração de neutrófilos intersticial e interalveolar, hemorragia, espessamento dos septos interalveolares, edema intersticial, áreas enfisematosas difusas e congestão. Grande ampliação revelou áreas mais atelectásicas e áreas com estase capilar com ventilação diminuída, alvéolos colapsados, áreas parenquimatosas não funcionais, neutrófilos parenquimatosos densos e infiltração macrofágica nessas regiões, hemorragia interalveolar difusa nas áreas de estase capilar e áreas irregulares de fibrose, juntamente com campos esparsos normalmente ventilados (figs. 3 e 4). As amostras do Grupo 3, a infiltração difusa

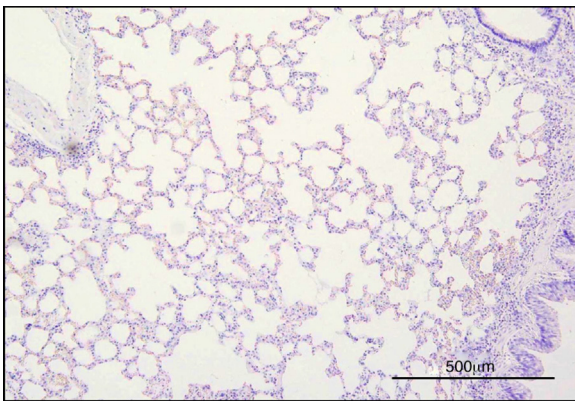
**Tabela 1** Valores de TNF- $\alpha$  e IL-6 e pontuações histológicas

	Grupo 1 (Sham) <i>n</i> = 7	Grupo 2 (IR) <i>n</i> = 7	Grupo 3 (D 50) <i>n</i> = 7	Grupo 4 (D 100) <i>n</i> = 7	<i>p</i>
<i>TNF-<math>\alpha</math></i> (pg.mL <sup>-1</sup> )					
Reperusão 1 h	9,40 (7,40-11,50)	10,10 (9,10-25,30)	9,70 (8,30-10,90)	9,70 (7,70-10,60)	0,55
Reperusão 3 h	9,30 (8,20-10,90)	9,80 (9,30-22,90)	10,20 (8,70-11,80)	9,00 (8,90-12,10)	0,26
<i>IL-6</i> (pg.mL <sup>-1</sup> )					
Reperusão 1 h	27,10 (21,60-41,30)	17,30 (13,20-52,60)	19,00 (15,80-58,00)	25,20 (20,00-48,90)	0,11
Reperusão 3 h	32,70 (21,60-64,70)	61,20 (17,40-120,30)	24,40 (14,00-91,80)	31,80 (21,40-47,70)	0,83
<i>Pontuação histológica</i>	0,5 <sup>b</sup> (0,0-1,0)	4,0 <sup>a</sup> (4,0-4,0)	2,5 (2,0-3,0)	2,0 (0,5-3,5)	0,001

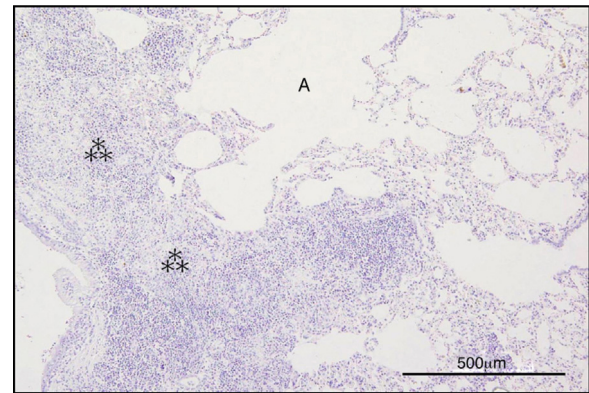
<sup>a</sup> Diferença significativa no Grupo 2, em comparação com os grupos 1, 3 e 4, *p* < 0,05.

<sup>b</sup> Diferença significativa no Grupo 1, em comparação com os grupos 3 e 4, *p* < 0,05.

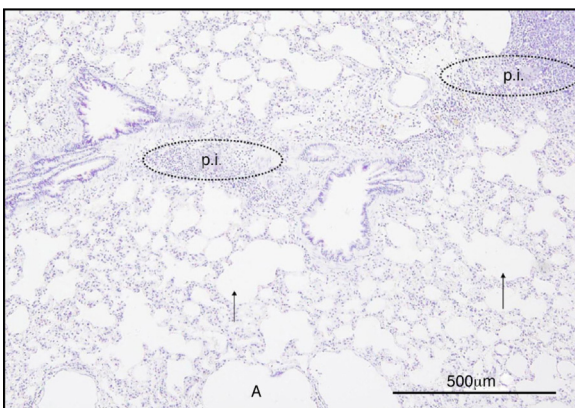
Valores expressos em mediana (mínimo-máximo).



**Figura 2** Grupo 1: estrutura normal de tecido pulmonar ventilado.



**Figura 4** Grupo 2: infiltração densa de neutrófilos, alargamento do parênquima, áreas pulmonares não ventiladas (✱) e áreas atelectásicas (A).



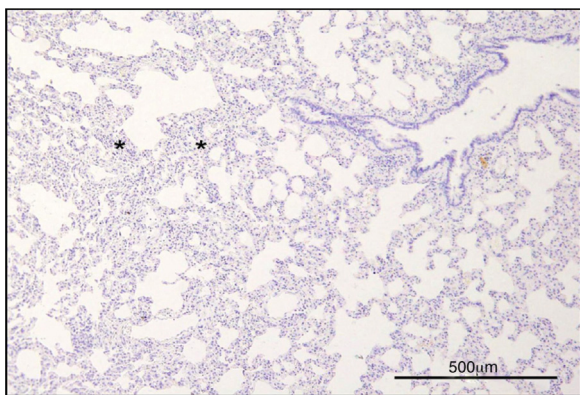
**Figura 3** Grupo 2: a estrutura alveolar perdeu o seu padrão (↑), alterações enfisematosas (A), infiltração de células inflamatórias no parênquima (Pi).

de neutrófilos no interstício, o espessamento de septos interalveolares, a atelectasia, a congestão, a hemorragia e o enfisema foram menores do que no Grupo 2. Tecido pulmonar normal foi observado nas áreas contíguas, a despeito de leve alargamento do parênquima e infiltração de neutrófilos. Algumas regiões apresentaram tecido pulmonar normal juntamente com hemorragia parenquimatosa intensa, áreas enfisematosas e infiltrações peribrônquicas (fig. 5). No Grupo 4, as amostras apresentaram leve infiltração de neutrófilos intersticial, espessamento de septos interalveolares, atelectasia, congestão e hemorragia em grau muito inferior do que as amostras do Grupo 2. Algumas regiões apresentaram tecido pulmonar completamente normal (fig. 6).

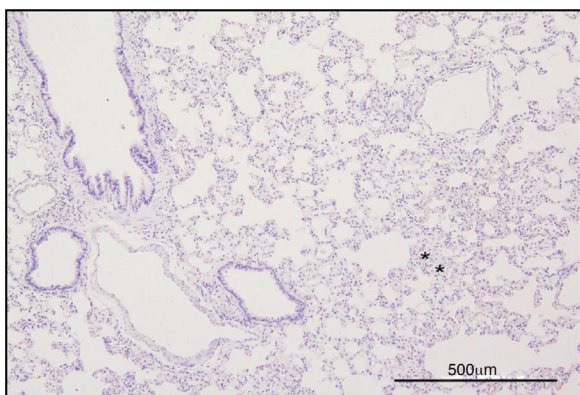
## Discussão

O principal resultado do estudo foi que dexmedetomidina diminui as pontuações das lesões histológicas relacionadas a IR em ratos submetidos à isquemia e reperusão,





**Figura 5** Grupo 3: leve alargamento do parênquima e infiltração de neutrófilos (\*), juntamente com estrutura tecidual pulmonar normal adjacente.



**Figura 6** Grupo 4: leve infiltração inflamatória e espessamento dos septos interalveolares (\*), juntamente com tecido pulmonar normal.

induzida pela aplicação de torniquete em extremidade. Embora não tenha havido diferenças entre os grupos em relação aos níveis plasmáticos dos mediadores inflamatórios TNF- $\alpha$  e IL-6, uma diferença significativa foi observada nas alterações histológicas dos tecidos. A classificação histológica do Grupo 2 foi elevada, indicou efeitos da lesão de IR no tecido pulmonar. Os grupos 3 e 4 apresentaram pontuações menores de lesão, indicaram efeito protetor de dexmedetomidina contra a LIR.

Embora alguns autores ofereçam múltiplos métodos de ligação em vez da aplicação de torniquete devido à preocupação com a obstrução venosa e linfática e lesão muscular após a compressão mecânica prolongada,<sup>17</sup> o método de aplicação de torniquete não é invasivo e parece ser mais prático na aplicação clínica.<sup>7,18</sup>

Diferentes tempos de isquemia e reperfusão foram usados para a indução de IR na literatura. Nós levamos em consideração a resistência do tecido contra a isquemia. Por exemplo, alterações morfológicas importantes no tecido muscular surgem após 2 h de isquemia e, por isso, estudos que avaliaram tecidos musculares em LIR usaram tempos mais longos de isquemia.<sup>19,20</sup> Uma correlação importante entre o tempo de isquemia e a lesão isquêmica foi observada.<sup>21</sup> Considerando os relatos de lesão histológica irreversível<sup>20</sup> e de infiltração difusa de neutrófilos<sup>18</sup>

no tecido muscular após 3 h de isquemia em estudos que avaliaram a LIR em tecido muscular, optamos por um tempo de isquemia de 3 h em estudo.

Observou-se que o tempo de reperfusão também é um fator importante na formação dos efeitos locais e distantes da IR.<sup>2,7,19</sup> Yasin et al.<sup>7</sup> usaram tempos diferentes de reperfusão após 3 h de isquemia e descobriram correlação positiva entre o tempo de reperfusão e as disfunções orgânicas distantes. Também descobriram alterações histológicas após 3 h de reperfusão que não eram aparentes nas primeiras 2 h. Portanto, optamos por um tempo de reperfusão de 3 h. Alterações histológicas proeminentes, como infiltração difusa de neutrófilos, distorção da sequência alveolar e edema no tecido pulmonar do grupo IR, sustentaram a nossa opção. Esses achados estão em conformidade com os de estudos que usaram os mesmos tempos.<sup>7,18</sup>

TNF- $\alpha$  mostrou ter um papel importante na patogênese da síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SRIS) e falência de múltiplos órgãos (FMO).<sup>5,22,23</sup> Mecanismos semelhantes foram sugeridos nos efeitos locais e distantes da LIR e estudos mostraram que TNF- $\alpha$  desempenha um papel na patogênese da lesão orgânica.<sup>3,7</sup> Similarmente, IL-6 também mostrou desempenhar um papel na reação inflamatória complexa associada ao trauma, choque e infecção.<sup>24</sup> Correlação positiva foi demonstrada entre as concentrações plasmáticas de IL-6 e a magnitude da lesão em tecidos moles.<sup>24</sup> Estudos que avaliaram modelos de IR em extremidades posteriores mostraram um aumento de IL-6 em correlação com TNF- $\alpha$ .<sup>5,6</sup> Yasin et al.<sup>7</sup> sugeriram que a resposta inflamatória relacionada à IR pode ser observada nos níveis séricos de TNF- $\alpha$  e IL-6 e que há correlação positiva entre esse aumento e lesões de órgãos distantes. Os autores avaliaram os níveis sanguíneos de TNF- $\alpha$  e IL-6 na primeira, segunda e terceira hora de reperfusão após 3 h de isquemia. Descobriu-se que TNF- $\alpha$  aumentou de forma significativa no fim da primeira hora e voltou aos valores de controle na segunda hora, enquanto os valores de IL-6 aumentaram progressivamente após a primeira hora de reperfusão com pico no fim da terceira hora. Portanto, avaliamos os níveis sanguíneos de TNF- $\alpha$  e IL-6, tanto no fim da primeira quanto da terceira hora.

Vários estudos clínicos e experimentais foram conduzidos com dexmedetomidina devido às suas propriedades analgésicas, ansiolíticas e sedativas.<sup>25,26</sup> Além disso, demonstrou-se que dexmedetomidina tem propriedades anti-inflamatórias em estudos que avaliaram seus efeitos em modelos de inflamação isquêmica e tóxica.<sup>11</sup> Taniguchi et al.<sup>11</sup> demonstraram que dexmedetomidina atenua a lesão pulmonar e diminui as taxas de mortalidade ao diminuir os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 e a infiltração de neutrófilos nas paredes alveolares em modelo experimental de choque séptico e endotoxêmico. Shen et al.<sup>27</sup> avaliaram os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 em lesão pulmonar em modelo experimental de LIR intestinal e descobriram diminuição da produção dessas citocinas no tecido pulmonar após a administração de dexmedetomidina.

Dexmedetomidina foi administrada por via intraperitoneal antes<sup>28</sup> ou durante<sup>12-14</sup> a IR em modelos de IR em ratos. Embora os efeitos protetores de dexmedetomidina tenham sido demonstrados, independentemente de seu tempo de administração, não há estudos na literatura que

comparem os tempos de aplicação. Além disso, alguns estudos que avaliaram os efeitos de dexmedetomidina administrada intraperitoneal mostraram que os tempos de IR não foram mais longos do que os tempos de eliminação de dexmedetomidina.<sup>13,28</sup> Como o principal responsável na formação de lesão pulmonar é o processo de reperfusão e os níveis de TNF- $\alpha$  começam a subir perto do fim da isquemia – com níveis de pico na primeira hora de reperfusão –,<sup>7</sup> consideramos relevante administrar dexmedetomidina uma hora antes da reperfusão.

Não encontramos intervalos certos da dose de dexmedetomidina para seus efeitos anti-inflamatórios na literatura. A dose de dexmedetomidina, administrada por via intraperitoneal, foi estabelecida em 100  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ , a dose mais elevada administrada de forma segura na literatura atual,<sup>16,28</sup> e a segunda dose foi estabelecida em 50  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ , para avaliar seus possíveis efeitos a depender da dose.

A despeito de tempos semelhantes de IR em estudos de LIR pulmonar após aplicação de torniquete em membros de ratos, resultados diferentes em relação aos níveis de TNF- $\alpha$  foram observados.<sup>5,18,29</sup> Seekamp et al.<sup>5</sup> relataram que os níveis de TNF- $\alpha$  não foram detectados no sangue durante todo o tempo de quatro horas de isquemia, mas começaram a se elevar na primeira hora de reperfusão com declínio após a segunda hora. Além disso, os níveis de IL-6 começaram a se elevar no trigésimo minuto, com pico no fim da quarta hora. Yassin et al.<sup>7</sup> relataram que os níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 atingem seus picos na primeira e terceira hora de reperfusão, respectivamente; os níveis de TNF- $\alpha$  caíram abaixo dos níveis detectáveis após a segunda hora de reperfusão e IL-6 atingiu níveis plasmáticos detectáveis a partir da primeira hora de reperfusão.

Duru et al.,<sup>18</sup> Harkin et al.<sup>30</sup> e Gaines et al.<sup>31</sup> usaram modelos e tempos semelhantes de IR e, embora tenham observado alterações histopatológicas devido à LIR, não conseguiram observar alterações nos níveis de TNF- $\alpha$ . De forma semelhante, Welbourn et al.<sup>29</sup> não observaram alterações nos níveis de TNF- $\alpha$  após a reperfusão e concluíram que TNF- $\alpha$  desempenha um papel na patogênese da LIR porque as alterações histopatológicas diminuíram com a aplicação de anti-TNF. Também não observamos diferenças nos níveis de TNF- $\alpha$  e IL-6 nos grupos que receberam dexmedetomidina, em comparação com o grupo Sham, apesar das diferenças histopatológicas significativas.

Essa condição pode ser atribuída ao número insuficiente de animais. Duru et al.<sup>18</sup> relataram que a razão pela qual não conseguiram demonstrar alterações no nível de citocinas foi porque eles podem não ter atingido os níveis de pico de TNF- $\alpha$ , pois obtiveram as amostras de sangue no fim da segunda hora de reperfusão. Gaines et al.<sup>31</sup> atribuíram essa condição à insuficiência de amostras de sangue. Welbourn et al.<sup>29</sup> propuseram que TNF- $\alpha$  pode permanecer no tecido após a produção de macrófagos pulmonares e, portanto, nem sempre poderia ser detectado no sangue – TNF- $\alpha$  pode mediar a lesão tecidual pulmonar e ativar o endotélio localmente.

A LIR induzida com modelo de aplicação de torniquete foi histopatologicamente demonstrada neste estudo. As alterações no Grupo IR foram significativas em comparação com o Grupo Sham e ambos os grupos de dexmedetomidina e isso demonstrou que o modelo foi conduzido de forma adequada. As diferenças significativas nos resultados dos

grupos de dexmedetomidina, em comparação com o Grupo IR, foram interpretadas como dexmedetomidina diminuiu a lesão pulmonar.

Embora as pontuações histopatológicas entre os grupos com dexmedetomidina (50 e 100  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ) não tenham sido significativamente diferentes, algumas áreas de tecido pulmonar normal ao exame microscópico no Grupo D-100 sugeriram que o medicamento pode ter agido de forma dependente da dose. Estudos com tamanho amostral maior e diferentes doses, tempos e vias de administração podem ser conduzidos para avaliar esse efeito.

Em conclusão, em nosso estudo de modelo experimental de IR induzido por torniquete em membro posterior de ratos, dexmedetomidina foi eficaz na prevenção de lesão pulmonar induzida por IR. As diferenças histopatológicas nos níveis de IL-6 entre os dois grupos com diferentes doses de dexmedetomidina, embora não seja estatisticamente significativa, sugere a feitura de estudos com amostras maiores para avaliar os efeitos de doses diferentes.

### Declaração de implicação

Este estudo experimental demonstra a capacidade da dexmedetomidina de reduzir a lesão relacionada à isquemia-reperfusão experimental em ratos. Estudos clínicos controlados podem ser feitos em humanos para observar o significado clínico desse efeito.

### Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

### Referências

1. Cerra FB, Lajos TZ, Montes M, et al. Hemorrhagic infarction: a reperfusion injury following prolonged myocardial ischemic anoxia. *Surgery*. 1975;78:95–104.
2. Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, et al. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg*. 1991;78:651–5.
3. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg*. 1994;81:637–47.
4. Vilcek J. The cytokines: an overview. In: Thomson AW, editor. *The Cytokine Handbook*, vol. 1, 4<sup>th</sup> ed. London: Elsevier Science Academic Press; 2003. p. 3–18.
5. Seekamp A, Mulligan MS, Till GO, et al. Requirements for tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 in limb ischemia/reperfusion injury and associated lung injury. *Am J Pathol*. 1993;143:453–63.
6. Seekamp A, Till GO, Mulligan MS, et al. Role of selectins in local and remote tissue injury following ischemia and reperfusion. *Am J Pathol*. 1994;144:592–8.
7. Yassin MM, Barros D'Sa AA, Parks G, et al. Lower limb ischemia-reperfusion injury triggers a systemic inflammatory response and multiple organ dysfunction. *World J Surg*. 2002;26:115–21.
8. Maes M, Lin A, Kenis G, et al. The effects of noradrenaline and alpha-2 adrenoceptor agents on the production of monocytic products. *Psychiatry Res*. 2000;96:245–53.
9. Venn RM, Bryant A, Hall GM, et al. Preliminary UK experience of dexmedetomidine a novel agent for postoperative sedation in the intensive care unit. *Anaesthesia*. 1999;54:1136–42.
10. Bhana N, Goa KL, McClellan KJ. Dexmedetomidine. *Drugs*. 2000;59:263–70.

11. Taniguchi T, Kidani Y, Kanakura H, et al. Effects of dexmedetomidine on mortality rate and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. *Crit Care Med*. 2004;32:1322–6.
12. Jolkkonen J, Puurunen K, Koistinaho J, et al. Neuroprotection by the alpha2-adrenoceptor agonist, dexmedetomidine, in rat focal cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol*. 1999;372:31–6.
13. Eser O, Fidan H, Sahin O, et al. The influence of dexmedetomidine on ischemic rat hippocampus. *Brain Res*. 2008;1218:250–6.
14. Yagmurdur H, Ozcan N, Dokumaci F, et al. Dexmedetomidine reduces the ischemia–reperfusion injury markers during upper extremity surgery with tourniquet. *J Hand Surg Am*. 2008;33:941–7.
15. Yang CL, Tsai PS, Huang CJ. Effects of dexmedetomidine on regulating pulmonary inflammation in a rat model of ventilator-induced lung injury. *Acta Anaesthesiol Taiwan*. 2008;46:151–9.
16. Kocoglu H, Ozturk H, Ozturk H, et al. Effect of dexmedetomidine on ischemia-reperfusion injury in rat kidney: a histopathologic study. *Ren Fail*. 2009;31:70–4.
17. Tassiopoulos AP, Carlin RE, Gao Y, et al. Role of nitric oxide and tumor necrosis factor on lung injury caused by ischemia/reperfusion of the lower extremities. *J Vasc Surg*. 1997;26:647–56.
18. Duru S, Koca U, Öztekin S, et al. Antithrombin III pretreatment reduces neutrophil recruitment into the lung and skeletal muscle tissues in the rat model of bilateral lower limb and reperfusion: a pilot study. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2005;49:1142–8.
19. Khalil AA, Aziz FA, Hall JC. Reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg*. 2006;117:1024–33.
20. Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc Surg*. 2002;10:620–30.
21. Petrasek PF, Homer-Vanniasinkam S, Walker PM. Determinants of ischemic injury to skeletal muscle. *J Vasc Surg*. 1994;19:623–31.
22. Seal JB, Gewertz BL. Vascular dysfunction in ischemia-reperfusion injury. *Ann Vasc Surg*. 2005;19:572–84.
23. Yao YM, Sheng ZY, Yu Y, et al. The potential etiologic role of tumor necrosis factor in mediating multiple organ dysfunction in rats following intestinal ischemia-reperfusion injury. *Resuscitation*. 1995;29:157–68.
24. Roumen RM, Hendriks T, van der Ven-Jonge KJ, et al. Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma. Relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. *Ann Surg*. 1993;218:769–76.
25. Koroglu A, Demirbilek S, Teksan H, et al. Sedative, haemodynamic and respiratory effects of dexmedetomidine in children undergoing magnetic resonance imaging examination: preliminary results. *Br J Anaesth*. 2005;94:821–4.
26. Arain SR, Ruehlow RM, Uhrich TD, et al. The efficacy of dexmedetomidine versus morphine for postoperative analgesia after major inpatient surgery. *Anesth Analg*. 2004;98:153–8.
27. Shen J, Fu G, Jiang L, et al. Effect of dexmedetomidine pretreatment on lung injury following intestinal ischemia–reperfusion. *Exp Ther Med*. 2013;6:1359–64.
28. Engelhard K, Werner C, Eberspacher E, et al. The effect of the alpha 2-agonist dexmedetomidine and the N-methyl-D-aspartate antagonist S(+)-ketamine on the expression of apoptosis-regulating proteins after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Anesth Analg*. 2003;96:524–31.
29. Welbourn R, Goldman G, O’Riordain M, et al. Role for tumor necrosis factor as mediator of lung injury following lower torso ischemia. *J Appl Physiol*. 1991;70:2645–9.
30. Harkin DW, Barros D’Sa AA, McCallion K, et al. Ischemic preconditioning before lower limb ischemia-reperfusion protects against acute lung injury. *J Vasc Surg*. 2002;35:1264–73.
31. Gaines GC, Welborn MB 3rd, Moldawer LL, et al. Attenuation of skeletal muscle ischemia/reperfusion injury by inhibition of tumor necrosis factor. *J Vasc Surg*. 1999;29:370–6.