



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA

MESTRADO 2009/2012

AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA NA SEPSE EXPERIMENTAL EM RATOS TRATADOS COM PENTOXIFILINA

FRANCIELLI FATIMA BORGES

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em
Clínica Cirúrgica, da Pontifícia Universidade Católica do
Paraná, com requisito para a obtenção ao título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luiz Rocha

Coordenador: Prof. Dr. Luiz Carlos Von Bahten

**CURITIBA
2012**

FRANCIELLI FATIMA BORGES

**AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA NA SEPSE EXPERIMENTAL
EM RATOS TRATADOS COM PENTOXIFILINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em
Clínica Cirúrgica, da Pontifícia Universidade Católica do
Paraná, com requisito para a obtenção ao título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luiz Rocha

Coordenador: Prof. Dr. Luiz Carlos Von Bahten

**CURITIBA
2012**

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central

B732a
2012 Borges, Francieli Fatima
Avaliação hemodinâmica na sepse experimental em ratos tratados com pentoxifilina. / Francieli Fatima Borges ; orientador, Sérgio Luiz Rocha ; coordenador, Luiz Carlos Von Bahten. – 2012.
43 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná,
Curitiba, 2012
Bibliografia: f. 27-35

1. Cirurgia - Técnica. 2. Septicemia. 3. Pentoxifilina. 4. Ligadura (Cirurgia).
5. Rato. I. Rocha, Sérgio Luiz. II. Bahten, Luiz Carlos Von.
III. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação
em Clínica Cirúrgica. IV. Título.

CDD 20. ed. – 617.910028



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Cirurgia

ATA DA SESSÃO DE EXAME DE DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA AO NÍVEL DE MESTRADO DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

ATA DE DISSERTAÇÃO Nº 114

Aos dezessete dias do mês de dezembro de 2012, realizou-se a sessão de defesa de dissertação “**Avaliação hemodinâmica na sepse experimental em ratos tratados com pentoxifilina**” Área de Concentração: Aplicação dos Recursos Tecnológicos em Cirurgia, apresentada por **Francielli Fátima Borges** sob orientação do **Prof. Dr. Sergio Luiz Rocha**.

Requisito para obtenção do título de mestre.

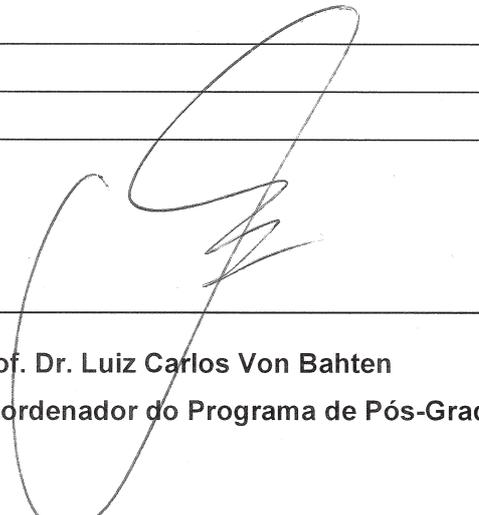
A Banca Examinadora foi composta pelos seguintes professores:

MEMBROS DA BANCA	ASSINATURA
Prof. Dr. Carlos Alberto Engelhorn	
Prof. Dr. Fernando Meyer	
Prof. Dr. João Carlos Simões	

De acordo com as normas regimentais a Banca Examinadora deliberou sobre os conceitos a serem distribuídos e que foram os seguintes:

Prof. Dr. Carlos Alberto Engelhorn Avaliação: aprovado
Prof. Dr. Fernando Meyer Avaliação: aprovado
Prof. Dr. João Carlos Simões Avaliação: aprovado
Parecer Final: aprovado

Observações da Banca Examinadora:



Prof. Dr. Luiz Carlos Von Bahten
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia

À minha família, todo o meu amor.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Sérgio Luiz Rocha, Professor Titular do Departamento de Anatomia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, meu reconhecimento pelas orientações recebidas desde a formação acadêmica, pelo profissionalismo e pela amizade, meu agradecimento, respeito e admiração.

Ao Professor Dr. Luiz Carlos Von Bahten, Coordenador do Curso de Pós Graduação em Cirurgia do Setor de Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, meu reconhecimento.

Ao Professor Dr. Fernando Hintz Greca, Professor Titular da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, por disponibilizar materiais para a realização desta pesquisa, meu reconhecimento.

À Professora Márcia Olandoski, pela realização do trabalho estatístico e disponibilidade, meu agradecimento.

Aos acadêmicos de medicina, Caroline Schmidt da Silva e Henrique Malaquias Possebom, pelo apoio e auxílio em todas as fases deste estudo.

Aos colegas do Curso de Pós Graduação em Cirurgia do Setor de Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pelos conselhos e companheirismo.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ANEXOS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 OBJETIVO.....	5
2 REVISÃO DE LITERATURA	6
3 MÉTODO	13
3.1 GRUPOS DE ESTUDO.....	13
3.2 TÉCNICA OPERATÓRIA.....	14
3.3 ADMINISTRAÇÃO DA PENTOXIFILINA.....	15
3.4 AFERIÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA.....	15
3.5 AFERIÇÃO DO FLUXO HEPÁTICO E RENAL.....	16
3.6 EUTANÁSIA.....	17
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	17
4 RESULTADOS	18
4.1 COMPARAÇÃO DOS GRUPOS DEFINIDOS PELO TRATAMENTO, DENTRO DE CADA MOMENTO DE AVALIAÇÃO.....	18
4.2 COMPARAÇÃO DOS MOMENTOS DE AVALIAÇÃO, DENTRO DE CADA GRUPO DEFINIDO PELO TRATAMENTO.....	19

5 DISCUSSÃO.....	23
6 CONCLUSÃO.....	26
REFERÊNCIAS.....	27
ANEXOS.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Momento de avaliação da sepse: 6 horas.....	18
Tabela 2 - Momento de avaliação da sepse: 18 horas.....	19
Tabela 3 - Tratamento: sem pentoxifilina	20
Tabela 4 - Tratamento: com pentoxifilina.....	20
Tabela 5 - Coleta de dados: grupo 06 horas sem pentoxifilina.....	36
Tabela 6 - Coleta de dados: grupo 18 horas sem pentoxifilina.....	37
Tabela 7 - Coleta de dados: grupo 06 horas com pentoxifilina.....	38
Tabela 8 - Coleta de dados: grupo 18 horas com pentoxifilina.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Comparação do fluxo hepático nos grupos não tratados e tratados com pentoxifilina.....	21
Figura 2 - Comparação do fluxo renal nos grupos não tratados e tratados com pentoxifilina.....	22
Figura 3 - Ligadura e punção do ceco.....	40
Figura 4 - Aferição da PAM.....	41
Figura 5 - Aferição do fluxo hepático.....	42
Figura 6 - Aferição do fluxo renal.....	43

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 - Tabelas de coleta de dados.....	36
Anexo 2 - Registro fotográfico de ligadura e punção cecal.....	40
Anexo 3 - Registro fotográfico do procedimento para aferição da PAM.....	41
Anexo 4 - Registro fotográfico do probe posicionado sobre o fígado.....	42
Anexo 5 - Registro fotográfico do probe posicionado sobre o rim.....	43

RESUMO

Introdução: a pentoxifilina possui propriedades imunológicas e inflamatórias e, pode ter papel imunomodulador capaz de modificar a resposta inflamatória na sepse. **Objetivo:** avaliar a resposta hemodinâmica ao tratamento com pentoxifilina na sepse experimental em ratos. **Método:** utilizaram-se 40 ratos machos, Wistar, alocados em 4 grupos, cada um com 10 animais. Os grupos I e II foram submetidos a ligadura e punção do ceco e submetidos a avaliação hemodinâmica, 6 horas e 18 horas após a cirurgia, respectivamente. Os grupos III e IV, foram submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico e em seguida receberam pentoxifilina intra-venosa (50mg/Kg) e, após 6 e 18 horas respectivamente, realizou-se a avaliação hemodinâmica. Foram realizadas as aferições da pressão arterial média (PAM), fluxo sanguíneo hepático e renal. Na análise estatística utilizou-se os testes t de Student e Kolmogorov- Smirnov. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. **Resultados:** mostraram que nos grupos de 6 horas a PAM foi significativamente maior no grupo tratado com pentoxifilina comparada ao que não recebeu o tratamento ($p = 0,001$). Não houve significância estatística na PAM, fluxo sanguíneo hepático e renal nos grupos de 18 horas de sepse tratados e não-tratados. Nos grupos não tratados, a PAM foi significativamente menor ($p = 0,034$), nos animais com 18 horas de evolução de sepse. Nos grupos tratados com pentoxifilina, a PAM foi significativamente menor ($p = 0,013$), nos animais com 18 horas de sepse. **Conclusão:** o tratamento com pentoxifilina aumentou a pressão arterial média na sepse precoce. Entretanto, não exerceu o mesmo efeito na sepse tardia.

Descritores: Sepse. Pentoxifilina. Ligadura e punção do ceco. Ratos.

ABSTRACT

Introduction: pentoxifylline possesses immunological and inflammatory properties and it may play immunomodulatory roles – able to modify the inflammatory response in sepsis. Objective: to evaluate the hemodynamic response to treatment with pentoxifylline in experimental sepsis in rats. Method: 40 Wistar male rats have been used. They were divided into four groups, with 10 specimens each. Groups I and II were subjected to cecal ligation and puncture and underwent hemodynamic evaluation at 6 and 18 hours after surgery, respectively. Groups III and IV underwent the same surgical procedure and then received intravenous pentoxifylline (50 mg/Kg). After 6 and 18 hours respectively, a hemodynamic evaluation was held. MAP (Mean Arterial Pressure), and liver and kidney blood flow rates were measured. Student's *t*-test and Kolmogorov–Smirnov tests have been used in the statistical analysis. P values <0.05 were considered statistically relevant. Results: outcome has shown that, in the 6-hour groups, MAP was significantly higher in the group treated with pentoxifylline in comparison to the one receiving no treatment ($p = 0.001$). There was no statistical relevance in MAP, and in liver and kidney blood flow rates in both 18-hour groups of treated and non-treated sepsis. In untreated groups, MAP was significantly lower ($p = 0.034$) in specimens within 18 hours of sepsis onset. In the groups treated with pentoxifylline, MAP was significantly lower ($p = 0.013$) in specimens within 18 hours of sepsis onset. Conclusion: the treatment with pentoxifylline has increased MAP in sepsis with an early onset. Nevertheless it did not exert the same effect in late sepsis.

Descriptors: Sepsis. Pentoxifylline. Cecal ligation and puncture. Rats.

1 INTRODUÇÃO

A inflamação não se refere apenas aos efeitos localizados, tais como edema, hiperemia e infiltração leucocitária, mas também a fenômenos sistêmicos como, por exemplo, febre e aumento da síntese de proteínas da fase aguda. A resposta inflamatória está estreitamente inter-relacionada com o processo de cicatrização e reparação. Na verdade, a cicatrização é impossível na ausência de inflamação. De acordo com isso, a inflamação está envolvida em praticamente todos os aspectos da cirurgia, porque a cicatrização adequada de feridas traumáticas, incisões cirúrgicas e vários tipos de anastomoses é inteiramente dependente da expressão de um processo inflamatório rigidamente orquestrado e bem-controlado^{1,2}.

A inflamação é, fundamentalmente, uma resposta de proteção que evoluiu para permitir que as formas de vida superiores se livrem de agentes nocivos, eliminem células necróticas e restos celulares e corrijam os danos orgânicos e teciduais. No entanto, os mecanismos utilizados para eliminar os microrganismos invasores e destruir células desvitalizadas, como parte da resposta inflamatória, também podem ser nocivos para os tecidos normais. Dessa forma, a inflamação é um grande mecanismo patogênico por trás de numerosas síndromes e doenças, como a doença inflamatória intestinal e a sepse, com fundamental importância na prática cirúrgica¹.

O início, a manutenção e o fim de uma resposta inflamatória são processos extremamente complexos que envolvem numerosos tipos diferentes de células, bem como centenas de diferentes mediadores humorais^{1,2}.

O choque séptico é a manifestação clínica de uma resposta inflamatória sistêmica fora de controle. A sepse é a causa mais comum de mortalidade entre pacientes que necessitam de cuidados de terapia intensiva. Acredita-se que a incidência de sepse e choque séptico esteja aumentando, provavelmente como resultado do progresso em muitos campos da medicina que difundiram a utilização de procedimentos invasivos complexos e de medicamentos imunossupressores potentes. Além disso, aumento da população idosa, uso indiscriminado de antibióticos, utilização de métodos diagnósticos invasivos, de monitorização e terapêuticos, influenciam na alta prevalência de complicações e óbito na sepse. A instabilidade hemodinâmica verificada no choque séptico tem como componente a redução da perfusão de tecidos, que conhecidamente agrava a sua morbi-mortalidade. Sabendo-se disso, a escolha precoce e correta da terapia a ser instituída, incluindo o tipo e o tempo de administração de fluídos, é importante para que se aumente a taxa de sobrevivência desses pacientes. Em virtude da importância da sepse como problema de saúde pública, têm-se realizado estudos para melhor traduzir a compreensão da inflamação e dos mediadores inflamatórios, com o intuito de desenvolver agentes terapêuticos úteis¹⁻⁴.

Diversos modelos experimentais de sepse e suas repercussões clínicas têm sido estudados, como a infusão intravascular de endotoxina ou bactéria viva, além da ligadura e punção cecal, com peritonite bacteriana e com diferentes animais. Entretanto, não reproduzem em exatidão a complexidade heterogênea de

pacientes com sepse, e sua aplicabilidade prática pode ser muitas vezes questionada. Apesar das limitações, os modelos animais permanecem essenciais no desenvolvimento de novas terapias para a sepse e o choque séptico, porque fornecem informações fundamentais sobre a farmacocinética, toxicidade e mecanismo de ação das drogas que não podem ser avaliadas por outros métodos⁵⁻⁹.

O reconhecimento de múltiplos fatores implicados na sepse que tem importante papel no desenvolvimento da falência de múltiplos órgãos. A cinética de dois mediadores precoces de resposta a sepse: fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6), como citocinas pró-inflamatórias, e suas modulações com pentoxifilina (PTX) têm sido investigada¹⁰.

Derivado da metilxantina, a PTX inibe a fosfodiesterase e afeta a circulação sanguínea. Melhora o fluxo sanguíneo com aumento da flexibilidade dos eritrócitos e leucócitos. Além disso, inibe a agregação plaquetária. Por fim, modula a atividade imunológica com estímulo à produção de citocinas anti-inflamatórias¹¹.

Mediadores inflamatórios endógenos, incluindo várias citocinas e ativação de neutrófilos polimorfonucleares, são responsáveis pelas manifestações clínicas de uma resposta inflamatória aguda. A PTX modula a atividade anti-inflamatória e diminui a mortalidade na endotoxemia aguda. Estudo com endotoxemia por lipopolissacáride *Escherichia coli* e uso de PTX (25mg/kg) mostrou diminuição nos níveis de IL-10 e aumento de TNF- α ¹². Baseado no conhecimento da patofisiologia do choque (isquemia) e ressuscitação (reperfusão), a PTX pode interromper a cascata inflamatória e conseqüentemente diminuir o dano tecidual¹³. Múltiplos estudos usando PTX são sinal da eficácia da droga no tratamento de

diversas doenças. Na endotoxemia crônica, com infusão contínua de lipolissacáride e PTX (1mg/kg/h) observou-se redução da injúria pulmonar aguda¹⁶. Logo, a pentoxifilina pode ter um importante papel imunomodulador capaz de modificar a resposta inflamatória sistêmica na sepse¹²⁻¹⁷.

1.1 OBJETIVO

Estudar a resposta hemodinâmica, através da medida da pressão arterial média e fluxo sanguíneo hepático e renal, ao tratamento com pentoxifilina, na sepse experimental em ratos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Um passo fundamental é o uso de modelos animais para encontrar os critérios de sepse humana. Diversos modelos são descritos: infusão endovenosa de endotoxinas, infusão endovenosa de bactérias vivas, ligadura e punção do ceco (LPC), inoculação intraperitoneal de bactérias fecais, inoculação intraperitoneal de *Escherichia coli*, entre outros⁵⁻⁸.

A LPC induz ao quadro séptico em curto espaço de tempo, inclusive com relação direta entre o tempo de vida e o número de perfurações realizadas no intestino²⁰. O modelo reproduz a sepse com flora bacteriana diversificada, como ocorre em humanos que desenvolvem quadros complicados de apendicite ou diverticulite aguda. Este, talvez, seja o método que representaria a situação clínica mais próxima a peritonite em seres humanos⁶.

A LPC causa peritonite bacteriana com subsequente inflamação sistêmica e disfunção de órgãos. Observou-se, em estudo experimental em ratos, redução significativa da pressão arterial e acidose metabólica severa. Realizou-se cultura de líquido peritoneal com crescimento bacteriano de bactérias gram positivas e negativas. Logo, mimetizam o modelo clínico de sepse e opção de modelo cirúrgico de sepse severa¹⁸.

A LPC é amplamente difundida como modelo experimental de sepse. A avaliação da influência do tamanho da lesão cecal na mortalidade, bacteremia, endotoxemia e níveis de TNF- α , observou que a gravidade da sepse pode ser facilmente modulada por meio da variação no tamanho da punção¹⁹. Além disso, a

mortalidade de cada modelo pode ser ajustada individualmente conforme a necessidade particular do experimento^{19,20}.

Dados de estudo de modelo experimental de sepse com LPC demonstraram que o tamanho de ceco ligado é determinante na pesquisa. Estes achados sugerem que os pesquisadores devem controlar rigorosamente a distância do ceco ligado e o número de punções, para obtenção de dados paramétricos, com mortalidade e graus de inflamação similares quando utilizar-se deste modelo em ratos²⁰.

As células inflamatórias representam importante papel na lesão de órgãos-alvo em sepse decorrente de peritonite. A depleção das células de Kupffer e a neutralização da interleucina-10 (IL-10) aumentam a expressão de citocinas e o número de células inflamatórias no pulmão, exacerbando a lesão pulmonar na sepse em modelo de peritonite com LPC em ratos²¹.

Diversos estudos têm sido realizados com o uso de PTX no tratamento do choque hemorrágico, como nova opção terapêutica de ressuscitação volêmica, inclusive com propriedades imunomoduladoras significantes²²⁻³¹. Inclusive quando associada a solução salina hipertônica mostrou diminuição na síntese de mediadores pró-inflamatórios e sugere-se como nova estratégia de fluido²². Trabalhos mais recentes indicaram menor lesão pulmonar na ressuscitação com solução salina hipertônica em modelos de choque hemorrágico, com hipóteses variadas para este efeito, incluída a menor ativação da resposta inflamatória, principalmente quando foi associada a PTX^{23,29-31}. Estes dados também foram observados quando a PTX é adicionada a solução de Ringer lactato²⁴. A associação de solução salina hipertônica a PTX atenuou o dano intestinal e

hepático após choque hemorrágico observado através da aferição da síntese de mediadores pró-inflamatórios^{25,27}. A combinação de solução salina hipertônica e PTX pode ser alternativa ao Ringer Lactato na ressuscitação no choque hemorrágico²⁶. Estudos experimentais mostraram que a PTX, associada a solução salina hiperoncótica, produz efeitos hemodinâmicos comparáveis a um volume quatro vezes maior de solução cristalóide e provoca menor lesão tecidual pulmonar. A modulação na ativação de neutrófilos e a menor lesão por isquemia-reperfusão são os motivos sugeridos para esta menor lesão pulmonar²⁹⁻³¹. Entretanto, em estudo com porcos, a PTX não exerceu papel clínico relevante, na disfunção orgânica e sobrevida, durante a ressuscitação de modelo de choque hemorrágico e sepse abdominal²⁸.

A PTX tem metabolismo predominantemente hepático, sendo inicialmente utilizada em pacientes com claudicação intermitente e doença vascular periférica com bom perfil de segurança clínica³². O uso do medicamento para este fim se justificava pela ação de relaxamento da musculatura vascular³³ e alterações da deformidade eritrocitária mostrada no início dos trabalhos com o fármaco³⁴. Entretanto, após sua utilização com este intuito, foi observado também que o medicamento possuía propriedades anti-inflamatórias e imunológicas importantes, com os primeiros estudos nesta linha demonstrando seus efeitos sobre a redução da migração de neutrófilos e hiper-reatividade leucocitária^{35,36}. Estes estudos também demonstraram que seu principal efeito anti-inflamatório se dava sobre a resposta do tipo Th1, sendo o fármaco considerado um agente supressor da produção do TNF- α ³⁷, uma das principais citocinas deste tipo de resposta imunológica. Além deste efeito sobre o TNF- α , posteriormente também foi

demonstrado sua ação sobre uma ampla gama de citocinas, sempre promovendo a redução (ao menos *in vitro*) de mediadores pró-inflamatórios e aumentando a ação de citocinas anti-inflamatórias, com aumento da IL-10, redução da IL-6 e inibição da expressão e atividade da PCR^{38,39}. O mecanismo pelo qual a PTX exerce este efeito imunológico ainda não foi totalmente elucidado, mas, sabe-se que tem atuação sobre a transcrição proteica de citocinas pró-inflamatórias, como sugerido por trabalhos que analisaram a expressão do RNA mensageiro do TNF- α em ratos⁴⁰. Além deste, o efeito anti-citocina da PTX também é exercido em parte pelo aumento do monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) intracelular, que provoca uma inibição na apoptose celular⁴¹. Clinicamente, a exploração da ação imunomoduladora da PTX se deu apenas nos últimos quinze anos. O primeiro trabalho a utilizar o medicamento com este fim foi na redução do processo imunológico de pacientes com esclerose múltipla, no qual os autores demonstraram que o fármaco modulou a resposta em direção à resposta tipo Th2 com redução do TNF- α e da IL-12 e, aumento da IL-10 e da IL-4⁴².

Em modelo experimental de sepse induzida por LPC em ratos, a PTX aparece como fator modulador na produção sistêmica de citocinas e pode ter ação fundamental no tratamento da sepse¹⁰. Após 6 horas do procedimento, houve aumento de IL-6 em todos os animais, com declínio após 18 horas. Os níveis de TNF- α e IL-6 foram significativamente maiores no grupo submetido a LPC comparado aos animais tratados com PTX. Entretanto, a pressão arterial não sofreu influência da ação da PTX. Conclui-se que a PTX mostrou ser fator atenuador na produção de citocinas pró-inflamatórias sistêmicas neste modelo de sepse, e sugeriu como opção terapêutica de manejo clínico¹⁰.

A administração da PTX em baixas doses reduziu a produção de citocinas no intestino e no fígado de ratos em modelo de sepse com peritonite aguda. E, esta redução na produção de citocinas (IL-6) pode estar associada ao aumento da sobrevivência destes animais⁴³.

A administração de PTX anterior a inoculação de *Escherichia coli* intraperitoneal, com o objetivo de observar seu efeito protetor, reduziu significativamente as alterações funcionais na inflamação pulmonar na sepse induzida em ratos^{44,45}.

A infusão de PTX reduziu a lesão pulmonar aguda na endotoxemia crônica causada pela exposição crônica de lipopolissacáride, representada pela modulação da síntese de citocinas pró-inflamatórias (IL-6)¹⁶. Esta regulação foi útil na prevenção da deterioração da função hemodinâmica e cardiovascular durante a progressão da sepse polimicrobiana, em estudo experimental realizado em ratos, com LPC e administração de PTX intravenosa⁴⁶. Estes efeitos podem ser devidos à inibição da liberação de TNF- α e da indução da síntese de óxido nítrico em modelo de endotoxemia (lipopolissacáride *E. coli*) em ratos, com proteção da falência circulatória e aumento da sobrevivência⁴⁷.

A isquemia da mucosa intestinal está presente na sepse e na falência de múltiplos órgãos, causada pela vasoconstrição e hipoperfusão da microcirculação intestinal. A PTX preveniu a vasoconstrição e preservou o fluxo sanguíneo microvascular intestinal, avaliado por videomicroscopia, na sepse hiperdinâmica, em ratos com bacteremia causada por *Escherichia coli*⁴⁸. Entretanto, outro estudo, com LPC, vai de encontro ao anterior. Os autores referem que a PTX não previne a lesão microvascular em ratos sépticos normotensos. Ocorre aumento da

permeabilidade vascular dos órgãos intra-abdominais, e, a PTX aparece como fator atenuador das manifestações sistêmicas na sepse. Porém, não evita o desenvolvimento do edema tecidual⁴⁹.

Além disso, diversos efeitos da PTX são estudados, entre eles, como a influência na supressão da coagulação intravascular disseminada na endotoxemia e na resposta vasomotora do fluxo sanguíneo renal na bacteremia^{50,51}.

Em experimento com sepse polimicrobiana, com LPC em ratos, a PTX mantém a função hepatocelular e performance cardíaca na sepse precoce (fase hiperdinâmica da sepse)⁵².

Há evidências que a PTX previne a transição da resposta hiperdinâmica, fase precoce, para hipodinâmica, fase mais tardia da sepse, por meio de manutenção da estabilidade hemodinâmica, inclusive com diminuição da mortalidade, em estudo experimental com LPC⁵³.

Além disso, a PTX reduziu a translocação bacteriana após obstrução intestinal, por ligadura proximal a 1 cm da válvula íleo-cecal, observada em culturas bacterianas de tecido hepático, em estudo experimental em ratos⁵⁴.

O uso de PTX para tratamento de sepse e enterocolite necrotizante em neonatos mostrou que, associado a antibióticos, diminuiu a mortalidade, sem efeitos colaterais⁵⁵⁻⁵⁷. A PTX inibe a fosfodiesterase, aumentando as concentrações de AMPc intracelular, resultando em redução no acúmulo de citocinas, especialmente TNF- α . Estudo europeu multicêntrico, duplo-cego, randomizado, com 100 recém-nascidos, demonstrou redução da mortalidade de prematuros com sepse que receberam pentoxifilina, 5mg/kg/h por 6 horas, em 6 dias consecutivos⁵⁸.

Em estudo duplo-cego randomizado placebo-controlado, 27 pacientes com sepse receberam pentoxifilina (1mg/Kg contínuo, no máximo 1800mg/d). Para 24 pacientes foi administrado solução salina. A administração contínua de PTF influenciou benéficamente a disfunção cardiopulmonar, sem efeitos adversos. Entretanto, ainda são necessários estudos para avaliação de seu uso na repercussão sistêmica de pacientes com sepse grave⁵⁹. Além disso, estudos experimentais podem determinar a eficácia da PTX como droga adjuvante na ressuscitação do choque hemorrágico e séptico.

3 MÉTODO

Foram utilizadas as dependências do laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental (TOCE) da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) para realização deste estudo experimental, com registro do projeto no Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) n° 539, aprovado em reunião em 27/05/2010. O procedimento demandou a utilização de 40 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), machos, com idade entre 100 e 130 dias e peso entre 238 a 330g, provenientes do Biotério da PUCPR, sendo mantidos no Laboratório da Disciplina de TOCE em caixas numeradas e padronizadas para a espécie, com número máximo de cinco ratos por caixa, sob temperatura e luminosidade controlados, recebendo água potável e ração padrão comercial em regime livre.

3.1 GRUPOS DE ESTUDO

A amostra foi dividida em 4 grupos, cada um com 10 ratos, locados aleatoriamente. Foram excluídos os animais que morreram ou com defeito técnico ao preparo do modelo.

Grupo I (n= 10): cada um dos animais foi submetido a ligadura e punção do ceco (LPC). Após 6 horas do procedimento cirúrgico, foi realizada a avaliação

hemodinâmica, através da aferição da pressão arterial média (PAM), fluxo sanguíneo hepático e renal. Após as aferições, os animais foram sacrificados.

Grupo II (n= 10): os ratos foram submetidos ao mesmo procedimento, e, após 18 horas, realizou-se a avaliação hemodinâmica. Em seguida, os animais foram submetidos a eutanásia.

Grupo III (n= 10): nestes animais, após serem submetidos a ligadura e punção cecal, foi administrado pentoxifilina (50mg/Kg) intravenosa (IV). Após 6 horas do procedimento cirúrgico, foi realizada a mesma avaliação hemodinâmica. Após as aferições, os animais foram sacrificados.

Grupo IV (n= 10): os ratos foram submetidos ao mesmo procedimento, e, posteriormente tratados com pentoxifilina. Após 18 horas, realizou-se a avaliação hemodinâmica. Em seguida, os animais foram sacrificados.

O Grupo I foi denominado: 6 horas sem pentoxifilina, e o Grupo II, 18 horas sem pentoxifilina. Os Grupos III e IV, foram denominados, 6 e 18 horas com pentoxifilina, respectivamente.

3.2 TÉCNICA OPERATÓRIA

Precedendo ao procedimento cirúrgico, todos os animais tiveram seu peso aferido em balança *Precision Standard Ohaus*. A seguir foram numerados e identificados. Para indução e manutenção anestésicas utilizou-se ketamina (90mg/kg) e xilasina (10mg/kg) intra-muscular. Após a indução anestésica, os animais foram posicionados em decúbito dorsal, e fixados às pranchas cirúrgicas. Foi feita tricotomia abdominal, antisepsia da região operatória com álcool iodado

e colocação de campo cirúrgico fenestrado. Realizou-se laparotomia mediana de aproximadamente 3 cm. Procedeu-se a ligadura parcial do ceco, com fio de algodão 3-0, imediatamente abaixo da prega triangular íleo-cecal, com o objetivo de aumentar a pressão dentro deste segmento do intestino, sem provocar isquemia e a permitir o trânsito livre do conteúdo do intestino delgado para o intestino grosso. Em seguida, perfurou-se o ceco, em 3 pontos aleatórios equidistantes, com agulha de punção venosa 40x12. Reduziu-se o conteúdo abdominal para dentro da cavidade peritoneal. Realizou-se a síntese da parede abdominal com sutura em chuleio contínuo com fio monofilamentar 3-0, em 2 planos: peritônio-músculo-aponeurótico e pele.

3.3 ADMINISTRAÇÃO DA PENTOXIFILINA

Para a administração de solução realizou-se a punção da veia dorsal do pênis com seringa e agulha de insulina. Após o procedimento cirúrgico, os grupos 6 horas e 18 horas com pentoxifilina receberam pentoxifilina 50 mg/Kg IV. Após a recuperação anestésica, todos os animais foram devolvidos às suas gaiolas, com acesso à água e ração padrão comercial *ad libitum*.

3.4 AFERIÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA

Após 6 e 18 horas do procedimento cirúrgico e administração da pentoxifilina, conforme a divisão dos grupos, procedeu-se a aferição da PAM.

Para indução e manutenção anestésicas utilizou-se ketamina (90mg/kg) e xilasina (10mg/kg) intra-muscular. Após a indução anestésica, os animais foram posicionados em decúbito dorsal, e fixados às pranchas cirúrgicas. Realizou-se tricotomia da face ventral da pata esquerda traseira, antissepsia da região operatória com álcool iodado e colocação de campo cirúrgico fenestrado. Realizou-se inguinitomia longitudinal esquerda, de cerca de 2 cm, na região superior do membro. Procedeu-se a dissecação e reparo dos vasos femorais, com fio de algodão 3-0. A artéria femoral foi cateterizada com abocath[®] nº 24, conectado a um transdutor do polígrafo da Bese. Após a aferição da PAM, retirou-se o cateter e realizou-se a ligadura proximal e distal da artéria femoral.

3.5 AFERIÇÃO DO FLUXO HEPÁTICO E RENAL

A avaliação do fluxo sanguíneo hepático e renal realizou-se através da aferição com o aparelho Laser Flow Blood Perfusion Monitor (Vasamedics).

Procedeu-se a abertura dos pontos da laparotomia anteriormente realizada. O probe do aparelho foi posicionado sobre parênquima hepático, para aferição do fluxo sanguíneo. Após foi posicionado sobre o rim esquerdo, para obtenção do fluxo sanguíneo renal.

3.6 EUTANÁSIA

Após a avaliação hemodinâmica, os animais foram submetidos à eutanásia por exsanguinação, através de punção cardíaca.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos das variáveis observadas no estudo foram descritos por médias, medianas, valores mínimos, valores máximos e desvios padrões. Para a comparação dos grupos definidos pelo tratamento (com ou sem pentoxifilina) e pelo momento de avaliação (6 ou 18 horas) em relação ao peso, foi considerado o teste t de Student para amostras independentes. Essas comparações em relação às variáveis PAM, fluxo hepático e fluxo renal foram feitas usando-se um modelo de análise de covariância (ANCOVA) considerando-se o peso como co-variável. A condição de normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. Os dados foram analisados com o programa computacional Statistica v.8.0.

4 RESULTADOS

4.1 Comparação dos grupos definidos pelo tratamento, dentro de cada momento de avaliação

Para as variáveis PAM, fluxo hepático e fluxo renal, testou-se a hipótese nula de que a média é igual nos dois grupos definidos pelo tratamento, versus a hipótese alternativa de médias diferentes, controlando-se o peso (co-variável)

Nas tabelas abaixo são apresentados os resultados obtidos.

Tabela 1 - Momento de avaliação da sepse: 6 horas

Variável	Tratamento	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p
PAM	Sem PTX	10	66,1	69,5	28,0	83,0	15,4	
	Com PTX	10	70,3	70,5	59,0	86,0	8,2	0,001**
Fluxo Hepático	Sem PTX	10	53,7	52,8	31,1	78,0	16,2	
	Com PTX	10	48,6	44,8	29,5	88,0	18,1	0,074**
Fluxo Renal	Sem PTX	10	36,5	36,7	20,0	66,0	14,0	
	Com PTX	10	42,6	45,5	16,0	75,0	16,7	0,666**

*Teste t de Student para amostras independentes, $p < 0,05$

**Análise de covariância incluindo peso como co-variável, $p < 0,05$

Tabela 2 - Momento de avaliação da sepse: 18 horas

Variável	Tratamento	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p
PAM	Sem PTX	10	53,1	56,5	33,0	69,0	10,1	0,343**
	Com PTX	10	58,4	58,5	39,0	82,0	12,8	
Fluxo Hepático	Sem PTX	10	37,2	29,9	16,3	84,0	23,5	0,554**
	Com PTX	10	41,9	30,5	20,0	105,0	30,3	
Fluxo Renal	Sem PTX	10	27,7	27,6	9,0	44,0	14,1	0,119**
	Com PTX	10	39,8	42,3	12,4	56,0	13,9	

*Teste t de Student para amostras independentes, $p < 0,05$

**Análise de covariância incluindo peso como co-variável, $p < 0,05$

4.2 Comparação dos momentos de avaliação, dentro de cada grupo definido pelo tratamento.

Para as variáveis PAM, fluxo hepático e fluxo renal, testou-se a hipótese nula de que a média é igual nos dois grupos definidos pelos momentos de avaliação, versus a hipótese alternativa de médias diferentes, controlando-se o peso (co-variável)

Nas tabelas seguintes são apresentados os resultados obtidos.

Tabela 3 - Tratamento: sem pentoxifilina

Variável	Momento	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p
PAM	6h	10	66,1	69,5	28,0	83,0	15,4	0,034**
	18h	10	53,1	56,5	33,0	69,0	10,1	
Fluxo Hepático	6h	10	53,7	52,8	31,1	78,0	16,2	0,071**
	18h	10	37,2	29,9	16,3	84,0	23,5	
Fluxo Renal	6h	10	36,5	36,7	20,0	66,0	14,0	0,088**
	18h	10	27,7	27,6	9,0	44,0	14,1	

*Teste t de Student para amostras independentes, $p < 0,05$

**Análise de covariância incluindo peso como co-variável, $p < 0,05$

Tabela 4 - Tratamento: com pentoxifilina

Variável	Momento	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p
PAM	6h	10	70,3	70,5	59,0	86,0	8,2	0,013**
	18h	10	58,4	58,5	39,0	82,0	12,8	
Fluxo Hepático	6h	10	48,6	44,8	29,5	88,0	18,1	0,848**
	18h	10	41,9	30,5	20,0	105,0	30,3	
Fluxo Renal	6h	10	42,6	45,5	16,0	75,0	16,7	0,966**
	18h	10	39,8	42,3	12,4	56,0	13,9	

*Teste t de Student para amostras independentes, $p < 0,05$

**Análise de covariância incluindo peso como co-variável, $p < 0,05$

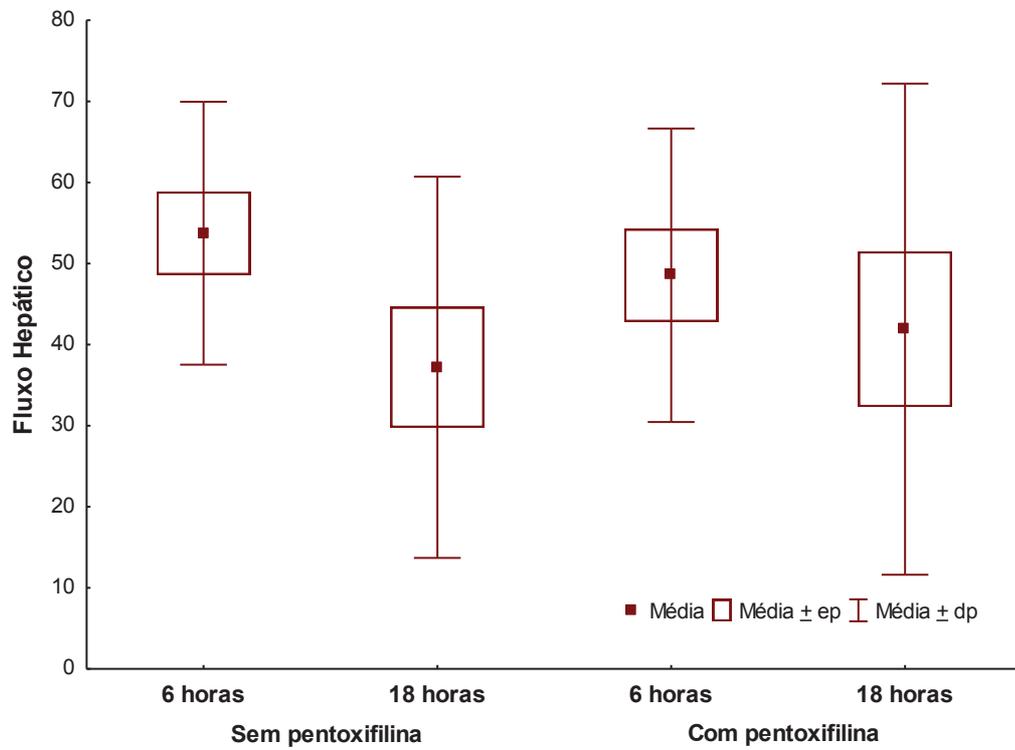


Figura 1 – Comparação do fluxo hepático nos grupos não tratados e tratados com pentoxifilina

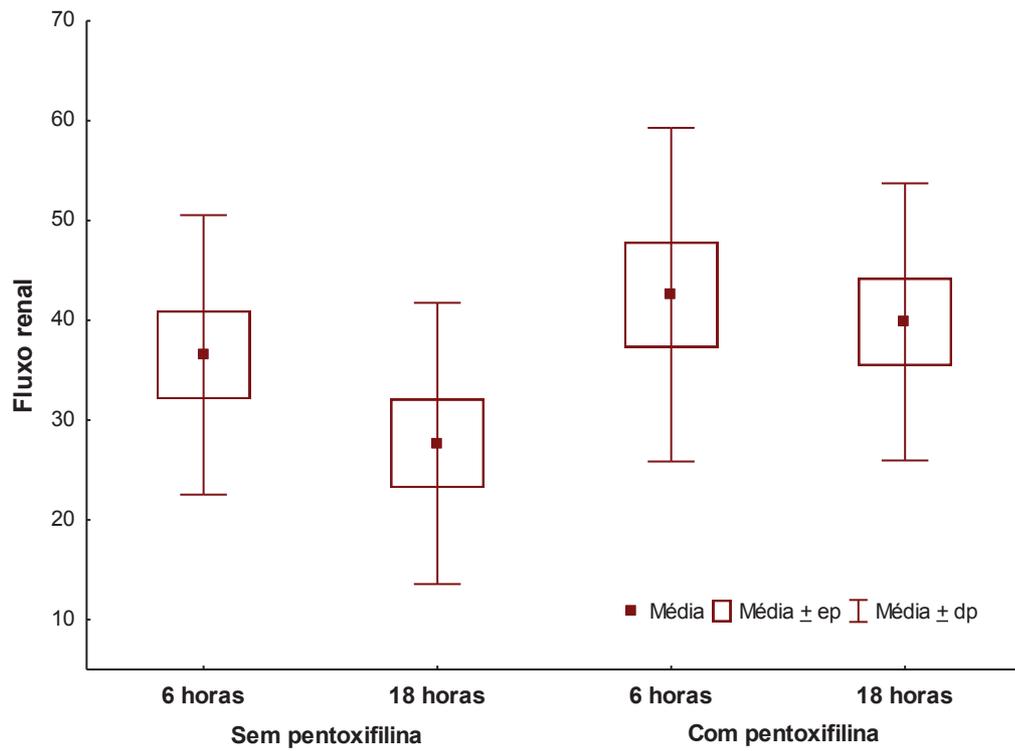


Figura 2 – Comparação do fluxo renal nos grupos não tratados e tratados com pentoxifilina

5 DISCUSSÃO

A sepse persiste como principal causa de morbidade e mortalidade em pacientes operados e nas vítimas de trauma. Por vezes, o tratamento é extremamente complexo, pois envolve a disfunção de múltiplos órgãos. Existem inúmeros fatores que influenciam na alta prevalência de complicações e óbito na sepse, entre eles: o aumento de pacientes em uso de medicamentos imunossupressores, aumento da faixa etária, antibióticos utilizados de maneira errônea, propagação de métodos invasivos diagnósticos e terapêuticos¹⁻⁴.

A interpretação errada de dados pré-clínicos e de estudos experimentais, que muitas vezes não mimetizam a sepse humana, podem levar à falha no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas, por não apresentarem aplicabilidade prática eficaz⁵⁻⁹.

Diversos modelos experimentais de sepse são descritos na literatura⁵⁻⁸. A LPC induz ao quadro séptico com flora bacteriana múltipla, semelhante ao que ocorre em humanos com abdome agudo inflamatório, como na apendicite e diverticulite aguda^{6,18}.

No presente estudo, nos animais não tratados, a PAM mostrou-se significativamente menor, no grupo de 18 horas quando comparado ao grupo de 6 horas, coincidente com a literatura, quando relata a evolução da fase hiperdinâmica precoce para fase hipodinâmica tardia na sepse, com diminuição dos parâmetros hemodinâmicos, e conseqüentemente da perfusão tecidual.

Observou-se tendência, embora não significativa estatisticamente, a diminuição do fluxo sanguíneo hepático e renal no decorrer das fases e progressão da sepse^{6,18}.

Os usos de diversos fármacos para tratamento da sepse são estudados e relatados⁹. A PTX, por apresentar propriedades imunomoduladoras significantes já descritas, tem sido considerada com opção terapêutica, tanto no choque hemorrágico, quanto no séptico^{10-17,22-31, 35-36, 43-59}.

No momento de avaliação de 6 horas, ou seja, na sepse inicial o grupo tratado com PTX, apresentou PAM significativamente maior, quando comparado ao grupo não tratado. Além disso, observou-se tendência a melhora do fluxo vascular hepático e renal, embora sem significância estatística. Esses dados, vão ao encontro de experimentos nos quais verificou-se a preservação da circulação na fase hiperdinâmica da sepse tratada com PTX^{46,48}. Este fármaco, mostrou em experimento com sepse polimicrobiana, inclusive semelhante à esta dissertação, com LPC em ratos, a manutenção da performance cardíaca na sepse precoce (fase hiperdinâmica da sepse)⁵².

Esta influência na avaliação hemodinâmica da fase hiperdinâmica da sepse não se manteve na fase hipodinâmica, quando comparou-se a PAM, fluxo hepático e renal nos grupos de 18 horas tratado e não tratado com PTX. Verificou-se tendência a melhora dos parâmetros no grupo de sepse tardia tratada com PTX, mas sem evidência de significância estatística. Assim a PTX não manteve o mesmo fator atenuante da resposta inflamatória observado nas primeiras horas do quadro. A explicação da mudança de resposta ao tratamento, na fase tardia da sepse, já foi inclusive verificada em outros estudos, nos quais observaram-se diminuição na modulação de marcadores inflamatórios^{10,12-17, 43, 47}. Entretanto, é

importante ressaltar que a droga e seus efeitos subseqüentes foram avaliados sem a interferência de qualquer outro adjuvante. Não houve tratamento suplementar para impedir a progressão da sepse.

Nos grupos tratados com pentoxifilina, a PAM foi significativamente menor, nos animais com 18 horas de sepse, quando comparados aos com sepse precoce, dado semelhante ao observado nos animais não tratados. Houve declínio no fluxo sanguíneo hepático e renal, na evolução da sepse precoce à tardia. Embora existam evidências que a PTX previna a transição da resposta hiperdinâmica, fase precoce, para hipodinâmica, fase mais tardia da sepse^{46,47,53}, não observou-se comprovação estatística no presente estudo.

São necessários estudos, talvez até mesmo com associação de propostas terapêuticas: utilização de drogas associadas, comparação entre fármacos e tratamentos diferentes (cirurgia e farmacoterapia), entre outros, para maiores conclusões.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que o tratamento com pentoxifilina aumentou a pressão arterial média na sepse precoce. Entretanto, não exerceu o mesmo efeito na sepse tardia .

REFERÊNCIAS

1. Dinarello CA. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Chest* . 1997; 112(6 Suppl): 3215-3295.
2. Cohen JJ. Apoptosis : mechanisms of life and death in the immune system. *J Allergy Clin Immunol*. 1999; 103(4): 548-54.
3. Lever A, Mackenzie I. Sepsis: definition, epidemiology, and diagnosis. *BMJ*. 2007; 335: 879-83.
4. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. The enigma of sepsis. *J Clin Invest*. 2003; 112: 460-7.
5. Poli-de-Figueiredo LF, Garrido AG, Nakagawa N, Sannomiya, P. Experimental models of sepsis and their clinical relevance. *Shock*. 2008; 30(1): 53-59.
6. Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock – a review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res*. 1980; 29(2): 189-201.
7. Freise H. Animals models of sepsis. *J Invest Surg*. 2001; 14: 195-212.
8. Fink MP, Heard SO. Laboratory models of sepsis and septic shock. *J Surg Res*. 1990; 49: 186-196.

9. Piper RD, Cook DJ, Bone RC. Introducing Critical Appraisal to studies of animal models investigating novel therapies in sepsis. *Crit Care Med*. 1996; 24(12): 2059-70.
10. Refsum SE, Halliday MI, Campbell G, McCaigue M, Rowlands BJ, Boston VE. Modulation of TNF alpha and IL-6 in a peritonitis model using pentoxifylline. *J Pediatr Surg*. 1996; 31(7): 928-30.
11. Hoie E, McGuire TR, Leuschen PM, Zach TL. Pentoxifylline inhibits tumor necrosis factor-alpha induced synthesis of complement component C3 in human endothelial cells. *Biol Pharm Bull*. 2004; 27(10): 1670-3.
12. Coimbra R, Melbostad H, Loomis W, Tobar M, Hoyt DB. Phosphodiesterase Inhibition Decreases Nuclear Factor-KB Activation and Shifts the Cytokine Response Toward Anti-inflammatory Activity in Acute Endotoxemia. *J Trauma*. 2005; 59(3): 575-82.
13. Coimbra R, Melbostad H, Hoyt DB. Effects of Phosphodiesterase Inhibition on the Inflammatory Response after Shock: Role of Pentoxifylline. *J Trauma*. 2004; 56(2): 442-9.
14. Coimbra R, Melbostad H, Loomis W, Porcides RD, Wolf P, Tobar M *et al*. LPS-Induced Acute Lung Injury is Attenuated by Phosphodiesterase Inhibition: Effects on Proinflammatory Mediators, Metalloproteinases, NF-KB, and ICAM-1 Expression. *J Trauma*. 2006; 60(1): 115-25.

15. Deree J, Melbostad H, Loomis WH, Putnam JG, Coimbra R. The effects of a novel resuscitation strategy combining pentoxifylline and hypertonic saline on neutrophil MAPK signaling. *Surgery*. 2007; 142(2): 276-83.
16. Michetti C, Coimbra R, Hoyt DB, Loomis W, Junger W, Wolf P. Pentoxifylline reduces acute lung injury in chronic endotoxemia. *Journal of Surgical Research*. 2003; 115: 92-9.
17. Mándi Y, Farkas G, Ocsosvzky I, Nagy Z. Inhibition of tumor necrosis factor production and ICAM-1 expression by pentoxifylline: beneficial effects in sepsis syndrome. *Res Exp Med*. 1995; 195(5): 297-307
18. Scheiermann P, Hoegl S, Revermann M, Ahluwalia D, Zander J, Boost KA *et al*. Cecal ligation and incision: an acute onset model of severe sepsis in rats. *J Surg Res*. 2009; 151(1): 132-7.
19. Otero-Antón E, González-Quintela A, López-Soto A, López-Ben S, Llovo J, Pérez LF. Cecal ligation and puncture as a model of sepsis in the rat: influence of the puncture size on mortality, bacteremia, endotoxemia and tumor necrosis factor alpha levels. *Eur Surg Res*. 2001; 33(2): 77-9.
20. Singleton KD, Wischmeyer PE. Distance of cecum ligated influences mortality, tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 expression following cecal ligation and puncture in the rat. *Eur Surg Res*, 2003; 35(6): 486-91.
21. Kono H, Fuji H, Tsuchiya M, Hirai Y, Ishii K, Hosomura N *et al*. Inhibition of the Kupffer cell and neutralization of IL-10 increase the expression of chemokines in the lung in a rat peritonitis model. *J Surg Res*. 2008; 150(2): 169-82.

22. Coimbra R, Loomis W, Melbostad H, Tobar M, Porcides RD, Lall R *et al.* Role of Hypertonic Saline and Pentoxifylline on Neutrophil Activation and Tumor Necrosis Factor- α Synthesis: A Novel Resuscitation Strategy. *J Trauma.* 2005; 59(2): 257-65.
23. Yada-Langui MM, Anjos-Valotta EA, Sannomiya P, Rocha e Silva M, Coimbra R. Resuscitation Affects Microcirculatory Polymorphonuclear Leukocyte Behavior After Hemorrhagic Shock: Role of Hypertonic Saline and Pentoxifylline. *Exp Biol Med.* 2004; 229: 684-93
24. Deree J, Martins J, De Campos T, Putnam JG, Loomis WH, Wolf P *et al.* Pentoxifylline Attenuates Lung Injury and Modulates Transcription Factor Activity in Hemorrhagic Shock. *J Surg Res.* 2007; 143(1): 99-108.
25. Deree J, De Campos T, Shenvi E, Loomis WH, Hoyt DB, Coimbra R. Hypertonic Saline and Pentoxifylline Attenuates Gut Injury After Hemorrhagic Shock: The Kinder, Gentler Resuscitation. *J Trauma.* 2007; 62(4): 818-28.
26. Coimbra R, Porcides R, Loomis W, Melbostad H, Lall R, Deree J *et al.* HSPTX Protects Against Hemorrhagic Shock Resuscitation-Induced Tissue Injury: An Attractive Alternative to Ringer's Lactate. *J Trauma.* 2006; 60(1): 41-51.
27. Deree J, Loomis WH, Wolf P, Coimbra R. Hepatic Transcription Factor Activation and Proinflammatory Mediator Production is Attenuated by Hypertonic Saline and Pentoxifylline Resuscitation After Hemorrhagic Shock. *J Trauma.* 2008; 64(5): 1230-9.

28. Parker S, Brown D, Kenward CE, Watkins PE. Pentoxifylline fails to improve organ dysfunction and survival when used in the resuscitation of a porcine model of haemorrhage and abdominal sepsis. *Resuscitation*. 2000; 44: 61-9.
29. Yada-Langui MM, Coimbra R, Lancellotti C, Mímica I, Garcia C, Correia N et al. Hypertonic saline and pentoxifylline prevent lung injury and bacterial translocation after hemorrhagic shock. *Shock*. 2000; 14: 594-8.
30. Powers KA, Zurawska J, Szaszi K, Khadaroo RG, Kapus A, Rotstein OD. Hypertonic resuscitation of hemorrhagic shock prevents alveolar macrophage activation by preventing systemic oxidative stress due to gut ischemia/reperfusion. *Surgery*. 2005; 137: 66-74.
31. Cruz RJ, Jr., Yada-Langui MM, de Figueiredo LF, Sinosaki S, Rocha e Silva M. The synergistic effects of pentoxifylline on systemic and regional perfusion after hemorrhage and hypertonic resuscitation. *Anesth Analg*. 2006; 102: 1518-24.
32. Frampton JE, Brogden RN. Pentoxifylline (oxpentifylline). A review of its therapeutic efficacy in the management of peripheral vascular and cerebrovascular disorders. *Drugs Aging*. 1995; 7(6): 480-503.
33. Kamphuis J, Smits P, Thien T. Vascular effects of pentoxifylline in humans. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1994; 24(4): 648-54.
34. Angelkort B, Maurin N, Boateng K. Influence of pentoxifylline on erythrocyte deformability in peripheral occlusive arterial disease. *Curr Med Res Opin*. 1979; 6(4): 255-8.

35. Mandell GL. ARDS, neutrophils, and pentoxifylline. *Am Rev Respir Dis.* 1988; 138(5): 1103-5.
36. De Prost D, Ollivier V, Hakim J. Pentoxifylline inhibition of procoagulant activity generated by activated mononuclear phagocytes. *Mol Pharmacol.* 1990; 38(4):562-6.
37. Samlaska CP, Winfield, EA. Pentoxifylline. *J Am Acad Dermatol.* 1994; 30(4):603-21.
38. D'hellencourt, CL, Diaw L, Cornillet P, Guenounou M. Differential regulation of TNF alpha, IL-1 beta, IL-6, IL-8, TNF beta, and IL-10 by pentoxifylline. *Int J Immunopharmacol.* 1996; 18(12): 739-48.
39. Ramani M, Khechai F, Ollivier V, Ternisien C, Bridey F, Hakim J *et al.* Interleukin-10 and pentoxifylline inhibit C-reactive protein-induced tissue factor gene expression in peripheral human blood monocytes. *FEBS Lett.* 1994; 356(1): 86-8.
40. Kremsner PG, Grundmann H, Neifer S, Sliwa K, Sahlmuller G, Hegenscheid B *et al.* Pentoxifylline prevents murine cerebral malaria. *J Infect Dis.* 1991; 164(3): 605-8.
41. Suresh R, Vig M, Bhatia S, Goodspeed EP, John B, Kandpal U *et al.* Pentoxifylline functions as an adjuvant in vivo to enhance T cell immune responses by inhibiting activation-induced death. *J Immunol.* 2002; 169(8): 4262-72.
42. Rieckmann P, Weber F, Gunther A, Martin S, Bitsch A, Broocks A *et al.* Pentoxifylline, a phosphodiesterase inhibitor, induces immune deviation in patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 1996; 64(2): 193-200.

43. Nelson JL, Alexander JW, Mao JX, Vohs T, Ogle CK. Effect of pentoxifylline on survival and intestinal cytokine messenger RNA transcription in a rat model of ongoing peritoneal sepsis. *Crit Care Med.* 1999; 27(1): 113-9.
44. Oliveira-Junior IS, Brunialti MKC, Koh VBC, Salomão R. Effect of pentoxifylline on lung inflammation and gas exchange in a sepsis-induced acute lung injury model. *Braz J Med Biol Res.* 2006; 39(11): 1455-63.
45. Oliveira-Junior IS, Oliveira IS, Oliveira WR, Cavassani SS, Bruniatti MK, Salomão R. Effects of pentoxifylline on inflammation and lung dysfunction in ventilated septic animals. *J Trauma.* 2010; 68(4): 822-6.
46. Koo DJ, Yoo P, Cioffi WG, Bland KI, Chaudry IH, Wang P. Mechanism of the beneficial effects of pentoxifylline during sepsis: maintenance of adrenomedullin responsiveness and downregulation of proinflammatory cytokines. *Journal of Surgical Research.* 2000; 91: 70-6.
47. Wu CC, Liao MH, Chen SJ, Yen Mh. Pentoxifylline improves circulatory failure and survival in murine models of endotoxaemia. *Eur J Pharmacol.* 1999; 373(1): 41-9.
48. Steeb GD, Wilson MA, Garrison RN. Pentoxifylline preserves small-intestine microvascular blood flow during bacteremia. *Surgery.* 1992; 112(4): 756-63.
49. Flammand FJ, Sibbald WJ, Girotti MJ, Martin CM. Pentoxifylline does not prevent microvascular injury in normotensive, septic rats. *Crit Care Med.* 1995; 23(1): 119-24.

50. Col R, Keskin E, Atalay B. Effect of pentoxifylline on endotoxin-induced haemostatic disturbances in rabbits. *Acta Vet Hung*. 2005; 53(3): 325-35.
51. Krysztopik RJ, Bentley FR, Wilson MA, Spain DA, Garrison RN. Vasomotor response to pentoxifylline mediates improved renal blood flow to bacteremia. *J Surg Res*. 1996; 63(1): 17-22.
52. Wang P, Ba ZF, Chaudry IH. Pentoxifylline maintains hepatocellular function and improves cardiac performance during early sepsis. *J Trauma*. 1997; 42(3): 429-35.
53. Yang S, Zhou M, Koo DJ, Chaudry IH, Wang P. Pentoxifylline prevents the transition from the hyperdynamic to hypodynamic response during sepsis. *Am J Physiol*. 1999; 277(3): 1036-44.
54. Kocdor MA, Kocdor H, Gulay Z, Gokce O. The effects of pentoxifylline on bacterial translocation after intestinal obstruction. *Shock*. 2002; 18(2): 148-51.
55. Khalid HN, Mohan P. Pentoxifylline for treatment of sepsis and necrotizing enterocolitis in neonates. *Cochrane*. 2012.
56. Adel M, Awad HA, Abdel- Naim AB, Al-Azizi MM. Effects of pentoxifylline on coagulation profile and disseminated intravascular coagulation incidence in Egyptian septic neonates. *J Clin Pharm Ther*. 2010; 35(3): 257-65.
57. Harris E, Schulzke SM, Patole SK. Pentoxifylline in preterm neonates: a systematic review. *Paediatr Drugs*. 2010; 12(5): 301-11.

58. Lauterbach R, Pawlik D, Kowalczyk D, Ksycinski W, Helwich E, Zembala M *et al*. Effect of the immunomodulating agent, pentoxifylline, in the treatment of sepsis in prematurely delivered infants: a placebo controlled, double-blind trial. *Crit Care Med*. 1999; 27: 807-14.

59. Staubach KH, Schröder J, Stüber F, Gehrke K, Traumann E, Zabel P. Effect of pentoxifylline in severe sepsis: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arch Surg*. 1998; 133(1): 94-100.

ANEXOS

ANEXO 1 - Tabelas de coleta de dados

Tabela 5 - Coleta de dados: grupo 06 horas sem pentoxifilina

Ratos	Peso	PAM	Fluxo hepático	Fluxo renal
I	298	83	69	66
II	296	68	40,3	33
III	287	59	57	45
IV	299	28	78	20
V	257	71	48,5	24,7
VI	295	58	73	43
VII	238	77	59	20,6
VIII	268	68	34,5	43
IX	240	74	31,1	29,7
X	281	75	47	40,3

Tabela 6 - Coleta de dados: grupo 18 horas sem pentoxifilina

Ratos	Peso	PAM	Fluxo hepático	Fluxo renal
I	306	33	75	42,3
II	316	57	29,9	38,8
III	318	45	29,8	21,2
IV	298	60	23	9
V	300	44	34	11
VI	282	56	40	21
VII	290	69	16,3	44
VIII	289	58	21	13
IX	275	52	84	42,3
X	290	57	19	34

Tabela 7 - Coleta de dados: grupo 06 horas com pentoxifilina

Ratos	Peso	PAM	Fluxo hepático	Fluxo renal
I	330	60	29,5	28,7
II	322	78	37,5	47
III	329	72	52	49
IV	291	86	30	38
V	323	73	37,5	25
VI	324	74	88	75
VII	329	69	55	49
VIII	323	64	62	44
IX	316	68	57	54
X	324	59	37	16

Tabela 8 - Coleta de dados: grupo 18 horas com pentoxifilina

Ratos	Peso	PAM	Fluxo hepático	Fluxo renal
I	298	49	31	29
II	312	62	21	46
III	314	55	24	40
IV	311	49	21	50
V	300	68	90	56
VI	297	62	20	38
VII	308	39	37	26,5
VIII	309	82	105	56
IX	301	48	30	12,4
X	307	70	40	44,5

ANEXO 2 - Registro fotográfico de ligadura e punção do ceco

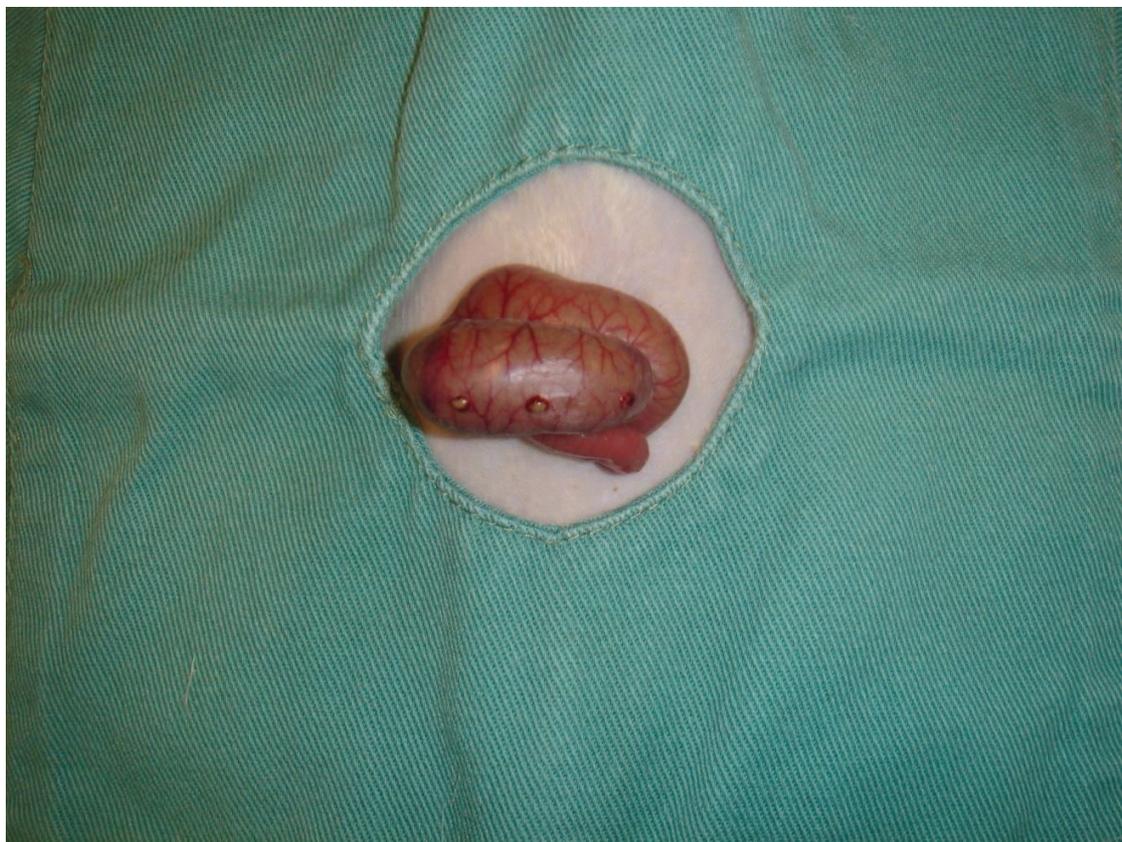


Figura 3 – Ligadura e punção do ceco

ANEXO 3 – Registro fotográfico do procedimento para aferição da PAM



Figura 4 – Aferição da PAM

ANEXO 4 – Registro fotográfico do probe posicionado sobre o fígado

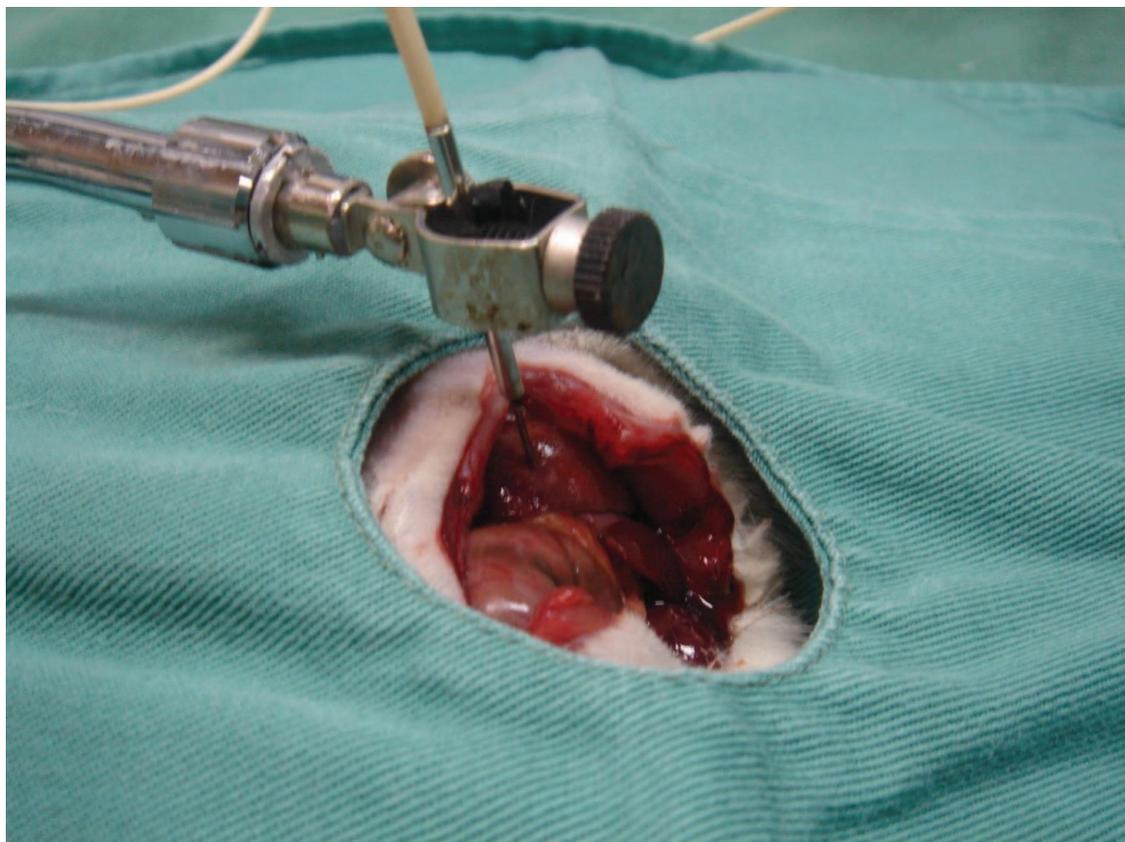


Figura 5 – Aferição do fluxo hepático

ANEXO 5 – Registro fotográfico do probe posicionado sobre o rim



Figura 6 – Aferição do fluxo renal