



REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

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



ARTIGO CIENTÍFICO

Pré-condicionamento com dexmedetomidina protege contra lesão pulmonar em ratos com choque hemorrágico



Lei Zhang^{a,b}, Wei Wang^{a,b}, Qian-Qian Qiao^{a,b}, Xue-Shan Bu^{a,b}, Ling-Hua Tang^{a,b}, Yi-Fan Jia^{a,b}, Zhong-Yuan Xia^{a,b,*} e Qing-Tao Meng^{ID a,b,*}

^a Wuhan University, Renmin Hospital, Department of Anesthesiology, Wuhan, China

^b Wuhan University, Renmin Hospital, Laboratory of Anesthesiology and Critical Care Medicine, Wuhan, China

Recebido em 3 de fevereiro de 2018; aceito em 4 de setembro de 2018

Disponível na Internet em 14 de janeiro de 2019

PALAVRAS-CHAVE

Dexmedetomidina;
Choque hemorrágico;
Pré-
condicionamento;
Lesão pulmonar;
Rato

Resumo

Justificativa e objetivos: Dexmedetomidina demonstrou efeitos protetores contra a lesão pulmonar *in vitro*. Neste estudo, investigamos se o pré-condicionamento com dexmedetomidina protege contra a lesão pulmonar em ratos com choque hemorrágico.

Métodos: Ratos machos, *Sprague-Dawley*, foram aleatoriamente divididos em quatro grupos ($n=8$): grupo controle, grupo com choque hemorrágico, grupo com $5\mu\text{g.kg}^{-1}$ de dexmedetomidina (DEX1) e grupo com $10\mu\text{g.kg}^{-1}$ de dexmedetomidina (DEX2). Solução salina ou dexmedetomidina foi administrada durante 20 minutos. Trinta minutos após a injeção, a hemorragia foi iniciada nos grupos choque hemorrágico, DEX1 e DEX2. Quatro horas após a ressuscitação, a proteína e o conteúdo celular no lavado broncoalveolar e a histopatologia pulmonar foram medidos. Malondialdeído, superóxido dismutase, Bcl-2, Bax e caspase-3 também foram testados no tecido pulmonar.

Resultados: Na comparação com o grupo choque hemorrágico, o pré-tratamento com $5\mu\text{g.kg}^{-1}$ de dexmedetomidina reduziu a apoptose ($2,25 \pm 0,24$ vs. $4,12 \pm 0,42\%$, $p < 0,05$), escore histológico ($1,06 \pm 0,12$ vs. $1,68 \pm 0,15$, $p < 0,05$) e proteína ($1,92 \pm 0,38$ vs. $3,95 \pm 0,42\text{ mg.mL}^{-1}$, $p < 0,05$) e leucócitos ($0,42 \pm 0,11$ vs. $0,92 \pm 0,13 \times 10^9/\text{L}$, $p < 0,05$) no lavado broncoalveolar; o que está correlacionado com o aumento da atividade da superóxido dismutase ($8,35 \pm 0,68$ vs. $4,73 \pm 0,44\text{ U.mg}^{-1}$ de proteína, $p < 0,05$) e diminuição do malondialdeído ($2,18 \pm 0,19$ vs. $3,28 \pm 0,27\text{ nmoL.mg}^{-1}$ de proteína, $p < 0,05$). O pré-condicionamento com dexmedetomidina também aumentou o nível de Bcl-2 ($0,55 \pm 0,04$ vs. $0,34 \pm 0,05$, $p < 0,05$) e diminuiu o nível de Bax ($0,46 \pm 0,03$ vs. $0,68 \pm 0,04$, $p < 0,05$), caspase-3 ($0,49 \pm 0,03$ vs. $0,69 \pm 0,04$, $p < 0,05$). No entanto, não houve diferença entre os grupos DEX1 e DEX2 para essas proteínas ($p > 0,05$).

Conclusão: O pré-condicionamento com dexmedetomidina tem um efeito protetor contra a lesão pulmonar causada por choque hemorrágico em ratos. Os potenciais mecanismos envolvidos

* Autores para correspondência.

E-mails: 674612814@qq.com (Z.Y. Xia), mengqt2019@hotmail.com (Q.T. Meng).

KEYWORDS

Dexmedetomidine;
Hemorrhagic shock;
Preconditioning;
Lung injury;
Rat

são a inibição da morte celular e a melhora da antioxição. Porém, não mostrou um efeito dose-dependente.

© 2018 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/>).

Dexmedetomidine preconditioning protects against lung injury in hemorrhagic shock rats**Abstract**

Background and objectives: Dexmedetomidine has demonstrated protective effects against lung injury in vitro. Here, we investigated whether dexmedetomidine preconditioning protected against lung injury in hemorrhagic shock rats.

Methods: Male Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups ($n=8$): control group, hemorrhagic shock group, $5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ dexmedetomidine (DEX1) group, and $10 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ dexmedetomidine (DEX2) group. Saline or dexmedetomidine were administered over 20 min. 30 min after injection, hemorrhage was initiated in the hemorrhagic shock, DEX1 and DEX2 group. Four hours after resuscitation, protein and cellular content in bronchoalveolar lavage fluid, and the lung histopathology were measured. The malondialdehyde, superoxide dismutase, Bcl-2, Bax and caspase-3 were also tested in the lung tissue.

Results: Compare with hemorrhagic shock group, $5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ dexmedetomidine pretreatment reduced the apoptosis (2.25 ± 0.24 vs. $4.12 \pm 0.42\%$, $p < 0.05$), histological score (1.06 ± 0.12 vs. 1.68 ± 0.15 , $p < 0.05$) and protein (1.92 ± 0.38 vs. $3.95 \pm 0.42 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $p < 0.05$) and WBC (0.42 ± 0.11 vs. $0.92 \pm 0.13 \times 10^9/\text{L}$, $p < 0.05$) in bronchoalveolar lavage fluid. Which is correlated with increased superoxide dismutase activity (8.35 ± 0.68 vs. $4.73 \pm 0.44 \text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}$ protein, $p < 0.05$) and decreased malondialdehyde (2.18 ± 0.19 vs. $3.28 \pm 0.27 \text{ nmoL}\cdot\text{mg}^{-1}$ protein, $p < 0.05$). Dexmedetomidine preconditioning also increased the Bcl-2 level (0.55 ± 0.04 vs. 0.34 ± 0.05 , $p < 0.05$) and decreased the level of Bax (0.46 ± 0.03 vs. 0.68 ± 0.04 , $p < 0.05$), caspase-3 (0.49 ± 0.03 vs. 0.69 ± 0.04 , $p < 0.05$). However, we did not observe any difference between the DEX1 and DEX2 groups for these ($p > 0.05$).

Conclusion: Dexmedetomidine preconditioning has a protective effect against lung injury caused by hemorrhagic shock in rats. The potential mechanisms involved are the inhibition of cell death and improvement of antioxidation. But did not show a dose-dependent effect.

© 2018 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

O choque hemorrágico é um fenômeno clínico comum e a fisiopatologia principal é que tecidos e órgãos vitais não podem receber sangue e oxigênio suficientes para manter a atividade metabólica básica, o que geralmente agrava danos após a reperfusão.¹ Apesar das melhorias no tratamento, o choque hemorrágico e suas complicações ainda mantêm uma alta taxa de mortalidade.^{2,3} Estudos recentes descobriram que o pulmão é um dos órgãos-alvo importantes no choque hemorrágico.³ Complicações como a lesão pulmonar aguda (LPA) e sua forma mais grave, a síndrome da angústia respiratória aguda (SARA), geralmente apresentam uma taxa maior de mortalidade.³ Embora a fisiopatologia da LPA/SARA tenha sido intensamente estudada durante o choque hemorrágico, métodos efetivos de prevenção e tratamento não foram descobertos, de modo que as taxas de morbidade e mortalidade permanecem altas.⁴

O pré-condicionamento isquêmico foi descrito como uma forma de proteção eficaz contra lesão de tecidos e órgãos vitais através de um estímulo prévio no choque hemorrágico.⁵ Devido à previsibilidade de choque

hemorrágico no perioperatório, o pré-condicionamento isquêmico é uma estratégia razoável para melhorar o desfecho dos pacientes. Até o momento, o mecanismo do pré-condicionamento isquêmico tem sido extensivamente estudado e descobriu-se que seu efeito protetor pode ser imitado por muitos fármacos, como a dexmedetomidina (DEX), com mais segurança.^{6,7}

A DEX é frequentemente usada na prática clínica como um sedativo e os pesquisadores descobriram recentemente que a DEX pode simular o efeito do pré-tratamento e mostrou um efeito protetor na célula epitelial alveolar humana *in vitro*.⁷ Há evidências de que a DEX pode ter um efeito protetor na lesão pulmonar *in vitro*. Neste estudo usamos um modelo de choque hemorrágico para investigar se o pré-tratamento com DEX produz proteção contra lesão pulmonar. Ao mesmo tempo, também observamos o efeito do pré-tratamento com DEX na morte celular e na função antioxidante e exploramos o mecanismo protetor da DEX.

Material e métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Bioética da Universidade de Wuhan e os procedimentos foram feitos de acordo

com as diretrizes habituais para o tratamento de animais. Ratos *Sprague-Dawley* (SD) machos foram fornecidos pelo Centro de Animais Experimentais da Universidade de Wuhan, os quais foram submetidos a jejum por 12 horas antes do experimento.

Protocolo experimental e modelo de choque hemorrágico

Ratos SD foram anestesiados com pentobarbital sódico a 2% (50 mg.kg⁻¹) e posicionados em decúbito dorsal. Em seguida, a intubação traqueal foi feita e mantida a respiração espontânea. A artéria femoral direita foi dissecada por técnica asséptica e canulada com tubo de polietileno (PE-24G) que continha solução salina heparinizada (10 U.mL⁻¹) para extração do sangue. Ao mesmo tempo, um canal venoso da cauda foi estabelecido para injeção de drogas e reanimação. No fim do procedimento cirúrgico, os ratos foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos diferentes ($n=8$): controle; choque hemorrágico (CH); dexmedetomidina 5 µg.kg⁻¹ (DEX1) (Jiangsu Hengrui Medicine Co; Ltd, Jiangsu, China) e dexmedetomidina 10 µg.kg⁻¹ (DEX2) – em ratos 5 µg.kg⁻¹ é equivalente a 1 µg.kg⁻¹ em humanos.⁸ Os grupos controle e CH foram perfundidos com 0,5 mL de salina através da veia caudal por 20 minutos (min); enquanto os grupos DEX1 e DEX2 receberam 0,5 mL das diluições que continham as doses correspondentes de DEX. Usamos 0,5 mL de solução salina heparinizada (10 U.mL⁻¹) para garantir que a solução salina ou o fármaco fossem injetados no sangue. Após 30 min, o choque hemorrágico foi induzido em todos os grupos, exceto controle, extraíram-se uniformemente 32 mL.kg⁻¹ de sangue (modelo volumétrico de choque, aproximadamente 45% do volume total de sangue) através de cateter arterial femoral por 10 min.⁹ Após manter esse estado isquêmico por 60 min, os ratos foram reanimados mediante transfusão do sangue extraído e Ringer com lactato (32 mL.kg⁻¹) a uma taxa constante por 30 min. Quatro horas após a reanimação, o pulmão esquerdo dos ratos foi submetido a lavado broncoalveolar e o pulmão direito foi extraído para a testagem.

Atividade de superóxido dismutase (SOD) e formação de malondialdeído (MDA)

Os conteúdos de SOD e MDA foram determinados pelo leitor de microplacas, de acordo com as instruções dos kits de ensaio (Jiancheng Biologic Project Co., Nanjing, China), em tecido pulmonar. O teor de proteína foi medido pelo kit de ensaio para proteína BCA (BestBio Co., Xangai, China), de acordo com o protocolo do fabricante.

Western blotting (imunodeteção de proteínas)

Os tecidos pulmonares foram homogeneizados e a concentração proteica do sobrenadante foi medida com o método BCA. Os sobrenadantes que continham 50 µg de proteína foram separados por SDS-PAGE e transferidos para membranas de PVDF. As membranas foram incubadas com anticorpos primários para caspase-3, Bcl-2, Bax (Santa Cruz Biotecnologia, Santa Cruz, CA, EUA) e β-actina (Abcam, Cambridge, MA, EUA), a 4 °C durante a noite e, em seguida, com anticorpo secundário Alexa Fluor (diluição de 1:10.000; Thermo Fisher Scientific, Inc.) por uma hora

em temperatura ambiente. Os sinais foram detectados com um *scanner* de fluorescência Odyssey e quantificados com o *software* Odyssey v.3.0.29.

Lavado broncoalveolar (LBA)

Quatro horas após a reanimação, o LBA do pulmão esquerdo foi feito por injeção de 5 mL de solução salina tamponada com fosfato no brônquio principal esquerdo, seguido de aspiração suave. O procedimento foi feito duas vezes e o líquido recuperado foi processado para a contagem de proteínas e leucócitos, como descrito anteriormente.⁹

Observação histológica

O tecido pulmonar foi corado com hematoxilina e eosina (HE) em procedimento padrão. Um patologista que desconhecia o procedimento experimental classificou as secções coradas com HE (0 = normal, 3 = gravíssima).⁹ A extensão da apoptose pulmonar também foi determinada com o método Tunel (Terminal dUTP Nick-Labeling), conforme indicado pelas instruções do kit (Roche, Alemanha).

Análise estatística

Os dados foram expressos em média ± erro-padrão da média (EPM). Anova e Student-Newman-Keuls (SNK) foram usados para análise estatística para comparar os dados mensurados entre todos os grupos. Diferenças significativas foram estabelecidas em $p < 0,05$.

Resultados

Peso dos ratos

Ratos *Sprague-Dawley* que pesavam 300 ± 20 g foram usados neste estudo e não houve diferença significativa entre os quatro grupos ($p > 0,05$).

SOD e MDA

Em comparação com o grupo controle, a isquemia-reperfusão reduziu de forma significativa a atividade de SOD no tecido pulmonar ($11,52 \pm 0,65$ U.mg⁻¹ vs. $4,73 \pm 0,44$ U.mg⁻¹ de proteína, $p < 0,05$) (fig. 1A) e aumentou a concentração de MDA ($1,36 \pm 0,16$ nmol.mg⁻¹ vs. $3,28 \pm 0,27$ nmol.mg⁻¹ de proteína, $p < 0,05$) (fig. 1B). O pré-tratamento com DEX1 (dose média) aumentou significativamente a atividade de SOD ($8,35 \pm 0,68$ U.mg⁻¹ de proteína, $p < 0,05$ vs. Grupo CH) e diminuiu a concentração de MDA ($2,18 \pm 0,19$ nmol.mg⁻¹ de proteína, $p < 0,05$ vs. Grupo CH) no tecido pulmonar. O pré-tratamento com DEX2 (dose alta) também aumentou a atividade de SOD ($8,58 \pm 0,55$ U.mg⁻¹ de proteína, $p < 0,05$ vs. Grupo CH) e diminuiu a concentração de MDA ($2,22 \pm 0,26$ nmol.mg⁻¹ de proteína, $p < 0,05$ vs. Grupo CH). No entanto, em comparação com DEX1, DEX2 não apresentou vantagem óbvia no pré-tratamento ($p > 0,05$).

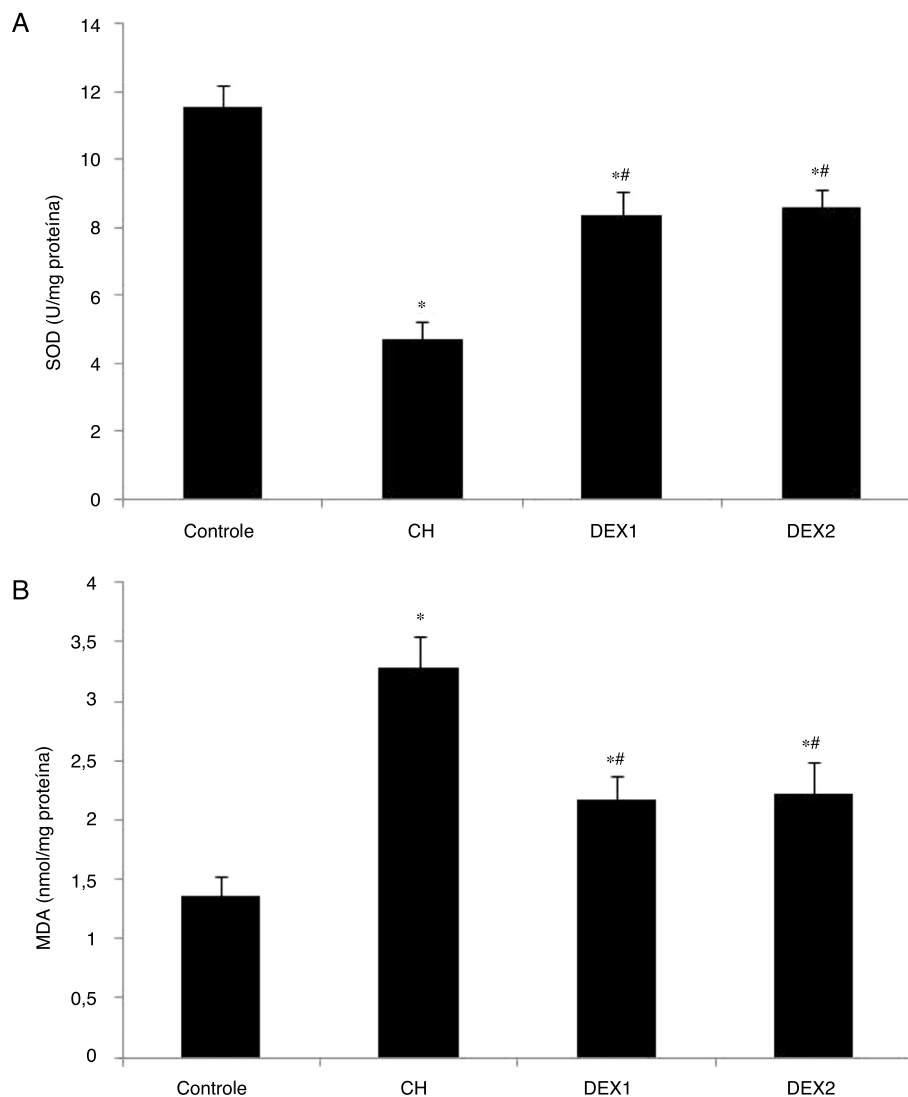


Figura 1 (A) Atividade de SOD no tecido pulmonar. (B) Níveis de MDA no tecido pulmonar. SOD: superóxido dismutase; MAD: malondialdeído; Controle: sem hemorrhagia; CH: choque hemorrágico; DEX1: $5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ de dexmedetomidina; DEX2: $10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ de dexmedetomidina. Valores expressos em média $\pm$ EPM, $n=8$ para cada grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo controle e ** $p < 0,05$ vs. Grupo CH.

Efeito de DEX sobre a expressão de Bcl-2, Bax e caspase-3

Em comparação com o grupo controle, o nível de Bcl-2 no Grupo CH diminuiu ($0,72 \pm 0,03$ vs. $0,34 \pm 0,05$, $p < 0,05$) e a expressão de Bax foi suprarregulada ($0,25 \pm 0,04$ vs. $0,68 \pm 0,04$, $p < 0,05$) (fig. 2A e B). O pré-tratamento com DEX1 atenuou de modo significativo esse efeito ($0,55 \pm 0,04$ e $0,46 \pm 0,03$, $p < 0,05$ vs. Grupo CH). Em comparação com o grupo controle, a isquemia-reperfusão também aumentou a expressão de caspase-3 no tecido pulmonar ($0,29 \pm 0,04$ vs. $0,69 \pm 0,04$, $p < 0,05$) (fig. 2C e D). O pré-tratamento DEX1 atenuou esse efeito de modo significativo ($0,49 \pm 0,03$ vs. $p < 0,05$ vs. Grupo CH). No entanto, não detectamos qualquer diferença entre os grupos DEX1 e DEX2 ($p > 0,05$).

Conteúdo de proteínas e leucócitos no LBA

Quase nenhum nível de proteína foi detectado no LBA do grupo controle ($0,42 \pm 0,06 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) (fig. 3A), enquanto a

isquemia-reperfusão resultou em um aumento significativo ($3,95 \pm 0,42 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $p < 0,05$ vs. grupo controle). Tal efeito foi significativamente atenuado pelo pré-condicionamento com DEX1 ($1,92 \pm 0,38 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $p < 0,05$ vs. Grupo CH). O pré-tratamento com DEX2 também reduziu significativamente os níveis de proteína no LBA ($2,05 \pm 0,46 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $p < 0,05$ vs. Grupo CH). No entanto, em comparação com DEX1, o pré-tratamento com DEX2 não apresentou vantagem óbvia ($p > 0,05$).

Quase nenhum leucócito foi detectado no LBA do grupo controle ($0,10 \pm 0,02 \times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$), enquanto a isquemia-reperfusão resultou em um aumento significativo na contagem de leucócitos ($0,92 \pm 0,13 \times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$, $p < 0,05$ vs. grupo controle). Tal efeito foi significativamente atenuado pelo pré-condicionamento com DEX1 ($0,42 \pm 0,11 \times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$, $p < 0,05$ vs. Grupo CH). O pré-tratamento com DEX2 também reduziu de modo significativo o conteúdo de leucócitos no LBA ($0,39 \pm 0,12 \times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$, $p < 0,05$ vs. Grupo CH). No entanto, em comparação com DEX1, o pré-tratamento com DEX2 não apresentou vantagem óbvia ($p > 0,05$).

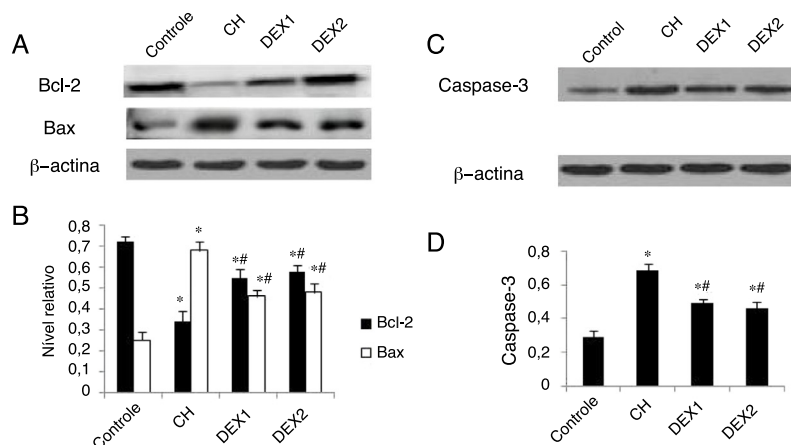


Figura 2 (A) Figura representativa de Bcl-2 e Bax. (B) O nível de Bcl-2 e Bax. (C) Figura representativa da caspase-3. (D) O nível da caspase-3. Controle: sem hemorragia; CH: choque hemorrágico; DEX1: $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de dexmedetomidina; DEX2: $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de dexmedetomidina. Valores expressos em média $\pm$ EPM, $n = 8$ para cada grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo controle e # $p < 0,05$ vs. Grupo CH.

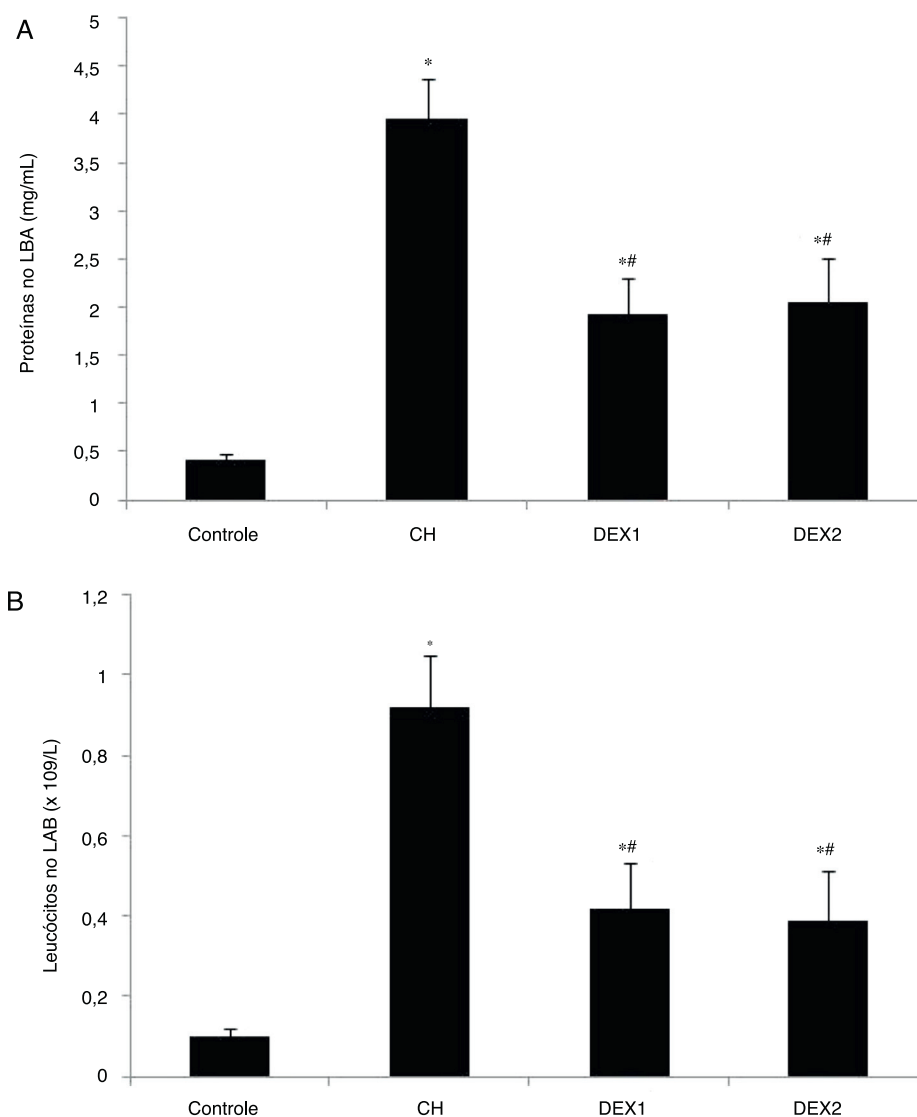


Figura 3 (A) Proteínas no LBA. (B) Leucócitos no LAB. LBA: lavado broncoalveolar; Controle: sem hemorragia; CH: choque hemorrágico; DEX1: $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de dexmedetomidina; DEX2: $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de dexmedetomidina. Valores expressos em média $\pm$ EPM, $n = 8$ para cada grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo controle e # $p < 0,05$ vs. Grupo CH.

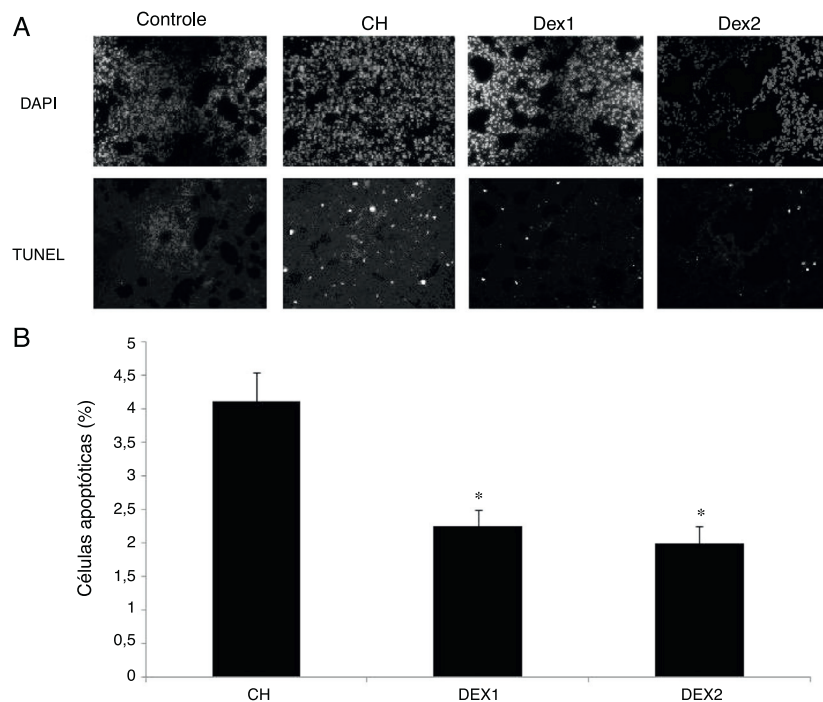


Figura 4 (A) Secções representativas do tecido pulmonar, TUNEL. (B) Apoptose celular do tecido pulmonar. Controle: sem hemorragia; CH: choque hemorrágico; DEX1: $5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ de dexmedetomidina; DEX2: $10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ de dexmedetomidina. Valores expressos em média $\pm$ EPM, $n = 8$ para cada grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo controle. Ampliação original – 400 $\times$.

Alterações histológicas

TUNEL

A isquemia-reperfusão aumentou significativamente a porcentagem de células apoptóticas no tecido pulmonar ($4,12 \pm 0,42\%$) (fig. 4A e 4B). O pré-tratamento com DEX1 inibiu as células apoptóticas no tecido pulmonar após choque hemorrágico ($2,25 \pm 0,24\%$, $p < 0,05$ vs. Grupo CH). O pré-tratamento com DEX2 também reduziu as células apoptóticas do pulmão ($1,98 \pm 0,26\%$, $p < 0,05$ vs. Grupo CH). No entanto, em comparação com DEX1, o pré-tratamento com DEX2 não apresentou vantagem óbvia ($p > 0,05$).

HE

O escore foi significativamente maior ($1,68 \pm 0,15$) (fig. 5A e 5B) no Grupo CH. O pré-tratamento com DEX1 teve efeito protetor no tecido pulmonar após choque hemorrágico ($1,06 \pm 0,12$, $p < 0,05$ vs. Grupo CH) e o pré-tratamento com DEX2 também reduziu de modo significativo o escore ($1,12 \pm 0,13$, $p < 0,05$ vs. Grupo CH). No entanto, em comparação com DEX1, o pré-tratamento com DEX2 não apresentou vantagem óbvia ($p > 0,05$).

Discussão

Neste experimento, descobrimos que o pré-tratamento com DEX reduziu significativamente a lesão pulmonar nos ratos com choque hemorrágico. As principais conclusões são as seguintes:

- 1) O pré-tratamento com DEX pode reduzir o conteúdo de MDA e aumentar a atividade de SOD no tecido pulmonar.
- 2) O pré-tratamento com DEX pode aumentar a razão de Bcl-2/Bax e diminuir o nível de caspase-3.
- 3) O pré-tratamento com DEX pode efetivamente reduzir as alterações histológicas no tecido pulmonar.
- 4) O aumento da dose do pré-tratamento com DEX não aumentou o efeito protetor.

Há relato de que o estresse oxidativo desempenha um papel importante na lesão de isquemia-reperfusão.¹⁰ Semelhantemente a estudos anteriores, descobrimos que o estresse oxidativo aumentou com o aumento de MDA e redução dos níveis de SOD em ratos com choque hemorrágico. O MDA é um produto de degradação dos radicais livres de oxigênio e da peroxidação lipídica. Portanto, um aumento de MDA implica dano da estrutura normal da membrana e dano oxidativo.¹¹ No entanto, a SOD é considerada uma importante enzima antioxidante intracelular com múltiplas funções biológicas que estimulam as células a eliminar os radicais livres de oxigênio.¹² Estudos anteriores também relataram que a DEX previne a peroxidação, aumenta a SOD e diminui o MDA.⁷ Nossos resultados também mostram que o pré-condicionamento com DEX resulta em aumento da atividade de SOD e redução do conteúdo de MDA no tecido pulmonar durante isquemia-reperfusão. Esses achados sugerem que o pré-tratamento com DEX pode prevenir o dano oxidativo do tecido pulmonar durante a isquemia e reperfusão.

Há algumas evidências de que o estresse oxidativo está envolvido na apoptose causada por isquemia e reperfusão.^{13,14} Neste experimento, também descobrimos que o nível do conteúdo de MDA e a atividade da SOD

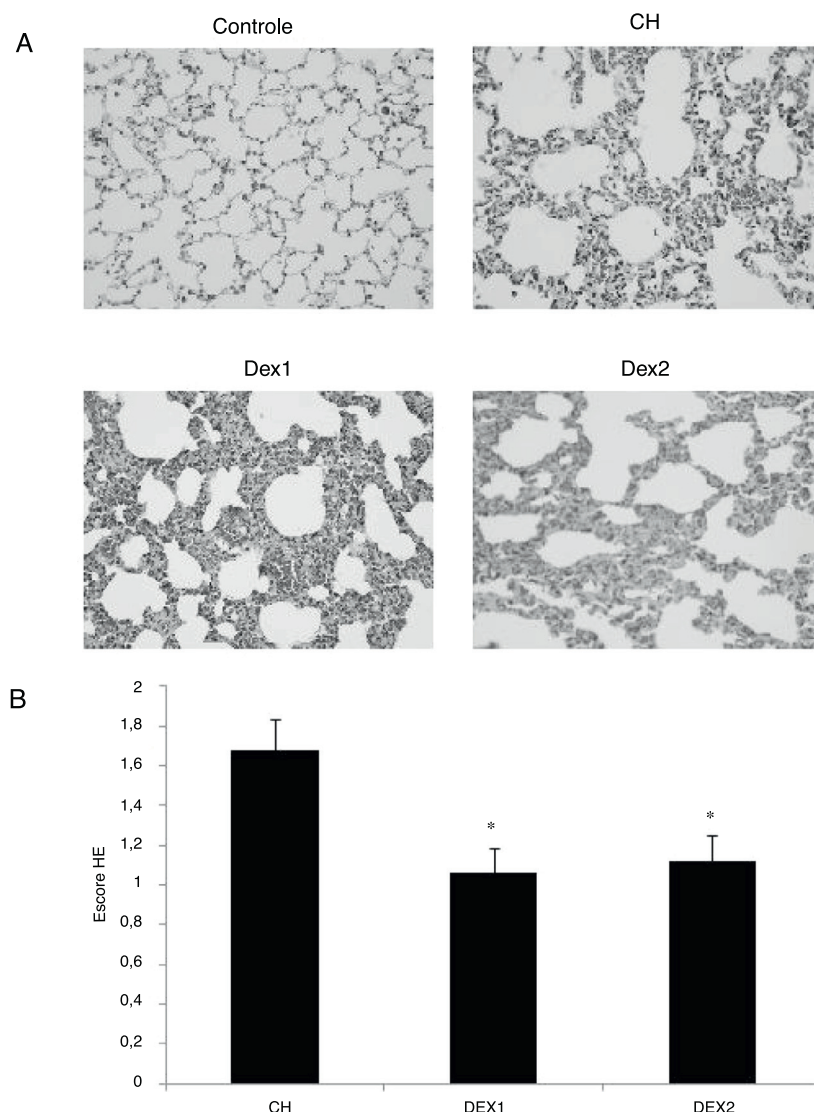


Figura 5 (A) Secções histológicas representativas do tecido pulmonar. (B) O grau do tecido pulmonar. Controle: sem hemorragia; CH: choque hemorrágico; DEX1: $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de dexmedetomidina; DEX2: $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de dexmedetomidina. Valores expressos em média $\pm$ EPM, $n = 8$ para cada grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo controle. Ampliação original – 400 $\times$.

estavam intimamente relacionados à razão de Bcl-2/Bax no tecido pulmonar. Tanto Bcl-2 quanto Bax pertencem à família de proteínas Bcl-2 e foram identificados como um dos principais fatores no início da apoptose. No entanto, a proteína Bcl-2 pode ser considerada como um importante componente celular não apenas porque previne a apoptose celular, mas também porque afeta uma variedade de eventos celulares. Em estudos recentes, constatou-se que Bcl-2 previne a lesão de isquemia-reperfusão em alguns órgãos, inclusive o tecido pulmonar.^{15,16} Em contraste, a proteína Bax apresenta um efeito pró-apoptótico; a superexpressão de Bax pode formar canais ou poros apoptóticos e promover a liberação mitocondrial do citocromo c e outros fatores.¹⁷ Portanto, a razão das proteínas Bcl-2/Bax pode ser a chave para a sobrevivência celular após a lesão.¹⁷ No presente estudo, nossos resultados mostram que DEX aumenta a expressão de Bcl-2, diminui a expressão de Bax e resulta em um aumento da razão Bcl-2/Bax.

A ativação da caspase-3 é um ponto-chave na cascata apoptótica e pode ser regulada pela razão de Bcl-2/Bax.¹⁸ Estudos anteriores mostraram que o estresse oxidativo excessivo pode levar à ativação da caspase-3 e que o processo pode ser inibido pela Bcl-2.^{19,20} A caspase-3 ativada está envolvida na condensação da cromatina, na fragmentação do DNA e na destruição do citoesqueleto de alvos celulares a jusante, expressa assim alterações morfológicas significativas na apoptose.^{20,21} Confirmou-se que a isquemia-reperfusão é uma das formas de induzir a ativação da caspase-3.¹⁴ Neste estudo, nossos dados também mostram um aumento significativo da caspase-3 no tecido pulmonar durante a isquemia-reperfusão, consistente com estudos anteriores. Além disso, observamos que a ativação da caspase-3 foi inibida pelo pré-tratamento com DEX.

Acredita-se que a morte celular seja um dos mecanismos pelos quais a isquemia-reperfusão pode levar à disfunção ou falência de órgãos;¹ e a apoptose é o

processo básico de morte celular que envolve regulação decrescente de Bcl-2/Bax e ativação da caspase-3 ao ativar diferentes vias de sinalização.^{22,23} Eventualmente, as células são danificadas e formam corpos apoptóticos.²⁴ Demonstrou-se que a isquemia-reperfusão inicia essa cascata apoptótica nas células.²⁵ Quando a morte celular é inibida, a função do órgão melhora de modo significativo durante a isquemia-reperfusão.^{6,25} Alguns estudos relataram que o pré-condicionamento com DEX atenua a morte celular e melhora a função de órgãos durante a lesão de isquemia-reperfusão.⁶ Neste experimento, consistente com a atenuação da apoptose, também descobrimos que o pré-condicionamento com DEX reduziu o conteúdo celular e proteico no LBA e diminuiu o escore patológico em tecido pulmonar, indicou-se que o pré-tratamento com DEX melhora significativamente a lesão pulmonar causada por isquemia-reperfusão.

Porém, este estudo tem algumas limitações óbvias que precisam ser abordadas. Primeiro, as doses de DEX que avaliamos são muito altas para a prática clínica. Em comparação com a prática clínica, uma dose maior é geralmente usada em laboratório, pode estar relacionada a diferentes espécies; por exemplo, alguns estudos relataram que uma dose de $5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ de DEX em ratos é equivalente a $1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ em humanos.⁸ Segundo, não detectamos a diferença entre as duas doses de DEX. Isso pode estar relacionado ao fato de que os receptores tenham sido totalmente ocupados a partir de $5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ de DEX. Terceiro, as limitações também incluem um momento de amostragem, um tempo curto de observação e a falta de correlação com as mensurações clínicas da lesão pulmonar. Portanto, a pesquisa relevante precisa ser mais explorada no modelo.

Sumário

Nossos dados mostram que o pré-tratamento com DEX pode efetivamente proteger contra a lesão pulmonar em ratos com choque hemorrágico. O efeito protetor foi relacionado à redução do estresse oxidativo e morte celular. Os resultados experimentais sugerem que a DEX pode ser eficaz no tratamento da lesão pulmonar induzida por isquemia-reperfusão.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

- Eser O, Kalkan E, Cosar M, et al. The effect of aprotinin on brain ischemic-reperfusion injury after hemorrhagic shock in rats: an experimental study. *J Trauma*. 2007;63:373–8.
- Curry N, Hopewell S, Doree C, et al. The acute management of trauma hemorrhage: a systematic review of randomized controlled trials. *Crit Care*. 2011;15:R92.
- Xiang M, Fan J, Fan J. Association of Toll-like receptor signaling and reactive oxygen species: a potential therapeutic target for posttrauma acute lung injury. *Mediators Inflamm*. 2010;2010.
- Matthay MA, Zemans RL. The acute respiratory distress syndrome: pathogenesis and treatment. *Annu Rev Pathol*. 2011;6:147–63.
- Hu X, Yang Z, Yang M, et al. Remote ischemic preconditioning mitigates myocardial and neurological dysfunction via K(ATP) channel activation in a rat model of hemorrhagic shock. *Shock*. 2014;42:228–33.
- Wang H, Chen H, Wang L, et al. Acute hyperglycemia prevents dexmedetomidine-induced preconditioning against renal ischemia-reperfusion injury. *Acta Cir Bras*. 2014;29:812–8.
- Zhang L, Zhou XJ, Zhan LY, et al. Dexmedetomidine preconditioning protects against lipopolysaccharides-induced injury in the human alveolar epithelial cells. *Rev Bras Anesthesiol*. 2017;67:600–6.
- Su ZY, Ye Q, Liu XB, et al. Dexmedetomidine mitigates isoflurane-induced neurodegeneration in fetal rats during the second trimester of pregnancy. *Neural Regen Res*. 2017;12:1329–37.
- Zhang L, Luo N, Liu J, et al. Emulsified isoflurane preconditioning protects against liver and lung injury in rat model of hemorrhagic shock. *J Surg Res*. 2011;171:783–90.
- Oliva J. Proteasome and organs ischemia-reperfusion injury. *Int J Mol Sci*. 2017;19.
- Lenaz G. Role of mitochondria in oxidative stress and ageing. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1366:53–67.
- Benov L, Batinic-Haberle I. A manganese porphyrin suppresses oxidative stress and extends the life span of streptozotocin-diabetic rats. *Free Radic Res*. 2005;39:81–8.
- Pisarenko O, Timotin A, Sidorova M, et al. Cardioprotective properties of N-terminal galanin fragment (2–15) in experimental ischemia/reperfusion injury. *Oncotarget*. 2017;8:101659–71.
- Wicha P, Tocharus J, Janyou A, et al. Hexahydrocurcumin protects against cerebral ischemia/reperfusion injury, attenuates inflammation, and improves antioxidant defenses in a rat stroke model. *PLOS ONE*. 2017;12:e0189211.
- Yousefi H, Ahmadiasl N, Alihemmati A, et al. Effect of renal ischemia-reperfusion on lung injury and inflammatory responses in male rat. *Ira J Basic Med Sci*. 2014;17:802–7.
- Zhang C, Guo Z, Liu H, et al. Influence of levosimendan post-conditioning on apoptosis of rat lung cells in a model of ischemia-reperfusion injury. *PLOS ONE*. 2015;10:e0114963.
- Khan I, Bahuguna A, Kumar P, et al. In vitro and in vivo antitumor potential of carvacrol nanoemulsion against human lung adenocarcinoma A549 cells via mitochondrial mediated apoptosis. *Sci Rep*. 2018;8:144.
- Haunstetter A, Izumo S. Apoptosis: basic mechanisms and implications for cardiovascular disease. *Circ Res*. 1998;82:1111–29.
- Tian Y, Du YY, Shang H, et al. Calenduloside e analogues protecting H9c2 cardiomyocytes against H₂O₂-induced apoptosis: design, synthesis and biological evaluation. *Front Pharmacol*. 2017;8:862.
- Wolter KG, Hsu YT, Smith CL, et al. Movement of Bax from the cytosol to mitochondria during apoptosis. *J Cell Biol*. 1997;139:1281–92.
- Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature*. 2000;407:770–6.
- Veena VK, Popavath RN, Kennedy K, et al. In vitro antiproliferative, pro-apoptotic, antimetastatic and anti-inflammatory potential of 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG) by *Pseudomonas aeruginosa* strain FP10. *Apoptosis*. 2015;20:1281–95.
- Lee US, Ban JO, Yeon ET, et al. Growth inhibitory effect of (E)-2,4-bis(p-hydroxyphenyl)-2-butenal diacetate through induction of apoptotic cell death by increasing dr3 expression in human lung cancer cells. *Biomol Ther*. 2012;20:538–43.
- van Heerde WL, Robert-Offerman S, Dumont E, et al. Markers of apoptosis in cardiovascular tissues: focus on Annexin V. *Cardiovasc Res*. 2000;45:549–59.
- Bagcik E, Ozkardesler S, Boztas N, et al. Effects of dexmedetomidine in conjunction with remote ischemic preconditioning on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Rev Bras Anesthesiol*. 2014;64:382–90.